



10^{èmes}

ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE PALAIS DES CONGRÈS TOURS, 21 > 24 JANVIER 2020

www.assises-genetique.org



RECUEIL DES COMMUNICATIONS



Informations générales & inscriptions : kim.marsilj@mcocongres.com

Informations sponsoring & partenariat : julia.schroeder@mcocongres.com

Aquarelle du Centre Vinci © Bernard Cazorla - www.lesaquarellesalrozac.com

Photos vignettes de Tours : Gare de Tours © Sébastien André / Tours sur Loire © Anaïs Dutour Tours Val de Loire Tourisme / Tour Charlemagne et Basilique Saint Martin © Sébastien André
et Shutterstock © Wjarek & © Leonid Andronov



CO01 : Enrichissement de mutations pathogènes du diabète monogénique parmi les patients diabétiques de type 2 commun : vers une médecine personnalisée des diabètes**Auteurs :**

philippe froguel (1), michel marre (2), amelie Bonnefond (1), mathisle Boissel (1)

1. , CHU de Lille, Lille, France

2. , CHU de Lille, Paris, France

Mots clefs : monogénique, diabète de type 2, médecine personnalisée

Résumé :

Les études d'association pangénomique ont identifié 250 loci indépendants associés au risque de diabète de type 2 (DT2) qui touche 4 millions de personnes en France. Malgré ce succès, la translation de ces découvertes vers des avancées en médecine de précision a été modeste. A contrario, l'investigation génétique des formes monogéniques de diabète a révélé plusieurs régulateurs clés de la sécrétion d'insuline, conduisant à des cas d'école en médecine génomique de précision. En effet, les patients diabétiques avec une mutation pathogène dans *HNFI1A* sont traités de manière optimale avec des sulfamides hypoglycémisants oraux et les patients porteurs de mutation pathogène dans *GCK* ne requièrent aucun traitement médicamenteux malgré leur hyperglycémie chronique. La place de ces formes de diabète monogénique dans le DT2 commun est inconnue. Nous avons mesuré la prévalence de mutations pathogènes parmi 33 gènes impliqués dans le diabète monogénique chez des patients avec une forme commune de DT2, comparée à une population contrôle normoglycémique. Via un séquençage de nouvelle génération (NGS), les gènes ont été séquencés dans une étude cas-témoins incluant 6 348 individus. Comme le séquençage NGS ciblé de l'ADN ne conduit pas à une couverture parfaite de tous les gènes, nous avons appliqué des contrôles qualité stricts avant les analyses. La pathogénicité des variants a été mesurée via les critères ACMG. Parmi les 6 348 individus, nous avons identifiés 168 mutations pathogènes ou probablement pathogènes, incluant 35% de mutations tronquantes. En utilisant la méthode MiST ajustée à l'âge, au sexe, à l'indice de masse corporelle et à l'ethnie, nous avons identifié une association significative entre les variants pathogènes ou probablement pathogènes et une augmentation du risque de DT2 ($p < 0.001$; avec 5.6% porteurs parmi les cas vs 2.7% porteurs parmi les contrôles). Nous avons trouvé que cette association significative est surtout expliquée par les mutations identifiées dans *GCK* ($p < 0.001$) et *HNFI1A* ($p < 0.001$) ; c'est-à-dire les gènes les plus fréquemment mutés dans le diabète monogénique. Parmi les patients avec un DT2, nous avons trouvé que les porteurs de mutation pathogène étaient légèrement plus minces avec un diabète diagnostiqué un peu plus précocement, mais les médicaments anti-diabétiques et l'histoire familiale n'étaient pas différentes entre les porteurs et les non-porteurs. En conclusion, nous avons trouvé une prévalence élevée de mutations pathogènes parmi les gènes du diabète monogénique chez les patients avec un DT2 commun, qui pourtant ne présentaient pas les caractéristiques cliniques d'un diabète monogénique (comme le MODY) et donc qui ne pouvaient pas être identifiés cliniquement avant le criblage génique. Ces résultats ouvrent des perspectives nouvelles vers une médecine personnalisée du diabète commun, plus économe en coûts de santé grâce au criblage génétique peu onéreux (50€) des patients diabétiques nouvellement diagnostiqués.

CO02 : Découverte d'anomalies constitutionnelles lors d'analyse génomique tumorale : Retour d'expérience**Auteurs :**

Benjamin Verret (1), Patrick Benusiglio (2), Veronica Goldbarb (1), Christophe Massard (3), Benjamin Besse (1), Yohann Lorient (1), Claudio Nicotra (3), Maud Ngo-Camus (3), Marina Di Maria (1), Sophie Villebasse (1), Delphine Wehrer (1), Brigitte Bressac de Paillerets (4), Alice Fievet (5), Odile Cabaret (4), Marine Guillaud-Bataille (4), Ludovic Lacroix (4), Etienne Rouleau (4), Olivier Caron (1)

1. Département de médecine oncologique, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Oncogénétique, APHP/Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. DITEP, Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Département de Biologie et pathologie médicales, Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Département de Biologie et pathologie médicales, Curie, Paris, France

Mots clefs : Médecine personnalisée, Analyse somatique, Mutation Germinale, Oncogénétique

Résumé :

Le but de la médecine de précision est l'identification dans le génome tumoral de potentielles cibles de traitement. Au cours de cette analyse, des variants pathogènes dans des gènes connus pour leur implication dans des prédispositions au cancer (VP) peuvent être identifiés. Certains de ces VP sont présents constitutionnellement. Dans les 4 dernières années, des VP de gènes de prédisposition ont été identifiés dans les tumeurs de 19 pts inclus dans des programmes de médecine de précision de notre institution (MOSCATO, MATCHR) (âge médian 52ans [21-72ans] ; 5 cancers pulmonaires, 3 cancers de la prostate, 4 cancers du sein, un cancer de la vessie, un cancer du côlon, un corticosurrénalome, un cancer ORL, un cancer de l'ovaire, un phéochromocytome, une double localisation pancréas/poumon). Les VP concernaient BRCA2 (n=10), BRCA1 (n=5), PALB2 (n=1), MSH2 (n=1), TP53 (n=1), VHL (n=1). Suite à la réunion pluridisciplinaire (RCP) moléculaire, ces pts ont été invités à consulter en oncogénétique, malgré l'absence d'histoire familiale évocatrice de prédisposition pour 17 pts d'entre eux. Douze pts ont été reçus en consultation et ont réalisé un test ciblé. Huit n'ont jamais donné suite, bien que 3 d'entre eux aient été adressés vers un centre d'oncogénétique plus proche de leur lieu de résidence. Parmi les 12 pts testés, 9 étaient porteurs constitutionnels du VP, 3 étaient non porteurs (VHL, BRCA1, BRCA2). Des tests ciblés chez des apparentés ont été réalisés secondairement dans 4 familles et la prise en charge usuelle a été appliquée pour les porteurs.

Ces résultats montrent que l'acceptation d'un test constitutionnel après analyse tumorale est grande, la non-réalisation de la consultation de génétique dans notre série étant souvent en lien avec une altération de l'état général. Les VP tumoraux sont le plus fréquemment constitutionnels (9/12), même si le cancer ne fait pas partie du spectre habituel de la prédisposition. La prise en charge des apparentés porteurs est par ailleurs questionnable. Elle est peut-être excessive dans la mesure où les risques réels sont mal connus et possiblement plus faibles qu'en situation évocatrice de prédisposition.

Cette expérience révèle l'importance d'anticiper l'identification de ces VP lors des analyses tumorales. Dans nos protocoles de recherche en médecine personnalisée, tous les pts consentent initialement à une éventuelle exploration constitutionnelle. Dans tous les autres contextes, il est nécessaire d'avoir des dispositifs d'oncogénétique garantissant un minimum d'information préalable et une prise en charge organisée en aval du test tumoral, intégrant une RCP moléculaire et une consultation de génétique. Il est également indispensable d'améliorer l'évaluation des risques de cancer dans ces situations d'histoire familiale peu évocatrice. La multiplication des portraits moléculaires tumoraux sans cet accompagnement soulèverait une question éthique et de responsabilité vis-à-vis des patients et de leur famille.

CO03 : Point sur les épimutations constitutionnelles responsables de syndrome de Lynch**Auteurs :**

Julie LECLERC (1, 2), Cathy FLAMENT (1), Tonio LOVECCHIO (1), Lucie DELATTRE (1), Emilie AIT YAHYA (3), Catherine VERMAUT (1), Stéphanie BAERT-DESURMONT (4, 5), Nelly BURNICHON (6, 7), Myriam BRONNER (8), Odile CABARET (9), Sylviane OLSCHWANG (10), Sophie LEJEUNE (11), Afane BRAHIMI (11), Stéphane CATTAN (11), Nelly PASZ (11), Rosine GUIMBAUD (12), Gilles MORIN (13), Jacques MAUILLON (4), Philippe JONVEAUX (8, 14), Paul GESTA (15), Chrystelle COLAS (16), Jeanne NETTER (17), Jessica MORETTA (18), Philippe DENIZEAU (19), Pierre LAURENT-PUIG (20), Thierry FREBOURG (4, 21), Marie-Pierre BUISINE (1, 2)

1. Oncologie et Génétique Moléculaires, Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, CHU Lille, Lille, France
2. Inserm UMR-S 1172, JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, Université de Lille, Lille, France
3. Equipe Bioinformatique, Plateau commun de Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, CHU Lille, Lille, France
4. Département de Génétique, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Université, Rouen, France
6. Laboratoire de Génétique, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
7. PARCC, INSERM, Equipe Labellisée par la Ligue contre le Cancer, Université Paris, Paris, France
8. Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France
9. Département de Biologie et de Pathologie, Gustave Roussy, Villejuif, France
10. Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France
11. Clinique de Génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU Lille, Lille, France
12. Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, IUCT-Oncopôle, Toulouse, France
13. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
14. INSERM U954, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France
15. Service d'Oncogénétique, CH de Niort, Niort, France
16. Département de Génétique, Université de Recherche Paris Sciences et Lettres, Institut Curie, Paris, France
17. Consultation d'Oncogénétique, Service de Chirurgie Digestive, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
18. Oncogénétique, Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
19. Service de Génétique Médicale, Unité Oncogénétique, CHU de Rennes, Rennes, France
20. Département de Biologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
21. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Normandie Université, Rouen, France

Mots clefs : syndrome de Lynch, épimutation constitutionnelle, épigénétique

Résumé :

Les épimutations représentent un mécanisme alternatif aux mutations génétiques dans l'étiologie de certaines maladies génétiques. C'est le cas dans le syndrome de Lynch, syndrome de prédisposition héréditaire au cancer (principalement du côlon et de l'endomètre) lié à une altération génétique constitutionnelle d'un des gènes codant les protéines impliquées dans la réparation des mésappariements de l'ADN (système Mismatch Repair). Pour quelques patients, l'altération constitutionnelle responsable de la prédisposition aux cancers est épigénétique et correspond à une hyperméthylation du promoteur des gènes *MLH1* ou *MSH2*.

De manière générale, les épimutations, rares et de description plus récente que les altérations génétiques, restent mal connues et mal caractérisées d'un point de vue fonctionnel. Les épimutations peuvent être primaires, correspondant à des événements épigénétiques purs labiles dans les lignées germinales, ou secondaires, associées à une altération génétique en *cis* transmise à la descendance sur un mode Mendélien. Les épimutations du gène *MSH2* sont secondaires. Le mécanisme moléculaire responsable de l'hyperméthylation du promoteur a été bien caractérisé et correspond à une délétion de taille variable de la région 3' du gène *EPCAM*, situé en amont du gène *MSH2*. Les épimutations du gène *MLH1* peuvent être primaires ou secondaires. Bien qu'identifiées dès 2002, ces épimutations restent mal caractérisées et semblent beaucoup plus complexes, notamment en raison de la diversité des mécanismes moléculaires impliqués. Seule une soixantaine de patients porteurs d'une épimutation de *MLH1* a priori primaire et quelques rares familles avec épimutation secondaire ont été décrits dans la littérature à ce jour.

La recherche d'hyperméthylation constitutionnelle du promoteur du gène *MLH1* est réalisée dans notre laboratoire dans le cadre du diagnostic de syndrome de Lynch depuis 2009. L'implication des généticiens, moléculaires et cliniciens, du Groupe Génétique et Cancer (GGC) a permis un recrutement national de patients. Plus d'une trentaine de cas index porteurs d'une épimutation constitutionnelle ont ainsi pu être identifiés à ce jour. Un diagnostic présymptomatique a pu être proposé aux apparentés, et une transmission de l'épimutation sur au moins 2 générations a été mise en évidence dans quelques familles. Les explorations complémentaires, constitutionnelles et tumorales, réalisées chez ces patients permettent d'éclaircir les mécanismes moléculaires conduisant à l'inactivation du gène *MLH1*. De nouveaux variants génétiques, ségrégeant avec l'hyperméthylation dans les familles, ont notamment pu être identifiés, montrant la grande diversité des variants génétiques responsables d'épimutations secondaires. La première description de l'insertion d'une séquence *Alu* dans la séquence codante du gène *MLH1* a ainsi été faite.

Une revue de la littérature, ainsi que les différents travaux du laboratoire concernant les épimutations du gène *MLH1*, seront présentés.

Pièce jointe : Assises2020_epimutationMLH1_JLeclerc_v2.docx

CO04 : Toutes les variations non-sens ne conduisent pas à une perte totale de fonction : le paradigme de l'exon 12 de BRCA2**Auteurs :**

Laëtitia Meulemans (1), Romy Mesman (2), Sandrine M. Caputo (3, 4), Sophie Krieger (1, 5), Marine Guillaud-Bataille (6), Virginie Caux-Moncoutier (3, 4), Mélanie Léone (7), Nadia Boutry-Kryza (7), Joanna Sokolowska (8), Françoise Révillion (9), Capucine Delnatte (10), Hélène Tubeuf (1, 11), Omar Soukarieh (1), Françoise Bonnet-Dorion (12), Virginie Guibert (10), Sarab Lizard (8), Paul Vilquin (13), Maud Privat (14, 15), Aurélie Drouet (1), Charlotte Grout (1), Fabienne Calléja (2), Lisa Golmard (16, 4), Harry Vrieling (2), Dominique Stoppa-Lyonnet (16, 17), Claude Houdayer (1, 18), Thierry Frebourg (1, 18), Maaïke Vreeswijk (2), Alexandra Martins (1), Pascaline Gaildrat (1)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Université, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, Rouen, France
2. Department of Human Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-Bas
3. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
4. , Université de recherche Paris Sciences Lettres, Paris, France
5. Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François Baclesse et Normandie Univ, UNICAEN, Caen, France
6. Département de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
7. , Hospices Civiles de Lyon, Bron, France
8. Département de Génétique, CHU Nancy, Nancy, France
9. Unité d'Oncologie Moléculaire Humaine, Centre Oscar Lambret, Lille, France
10. Département de Génétique, CHU Nantes, Nantes, France
11. , Interactive Biosoftware, Rouen, France
12. Inserm U916, Département de Pathologie, Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, Institut Bergonié, Bordeaux, France
13. Département de Biopathologie Cellulaire et Tissulaire des Tumeurs, CHU Montpellier, Montpellier, France
14. Inserm U1240, Université Clermont Auvergne, Clermont Ferrand, France
15. Département d'Oncogénétique , Centre Jean Perrin, Clermont Ferrand, France
16. Département de Génétique, Institut Curie, Paris, France
17. Inserm U830, Université Paris Descartes, Paris, France
18. Département de Génétique, CHU Rouen, Rouen, France

Mots clefs : Forme héréditaire du cancer du sein et de l'ovaire, BRCA2, variations non-sens, modification de l'épissage en phase, interprétation des variations hypomorphes

Résumé :

Les variations non-sens ainsi que celles localisées au niveau des sites canoniques d'épissage ($IVS\pm 1,2$) sont généralement considérées, sans ambiguïté, comme des variations perte de fonction et, en conséquence, sont classées pathogènes. Toutefois, certaines d'entre elles sont susceptibles d'induire le saut en phase d'un exon non-essentiel, conduisant potentiellement au moins en partie à une protéine fonctionnelle. Afin de tester cette hypothèse dans le contexte d'un gène de prédisposition au cancer, nous avons utilisé comme modèle d'étude l'exon 12 de *BRCA2*. En effet, il a été précédemment montré que le saut en phase de cet exon n'entraîne pas la perte complète de fonction de la protéine. Dans un premier temps, nous avons sélectionné à partir des bases de données mutationnelles toutes les variations supposées pathogènes localisées dans ou autour l'exon 12 (e.g. variations non-sens, *frameshift* ou $IVS\pm 1/2$). L'impact sur l'épissage des 15 variations ainsi sélectionnées a ensuite été évalué dans un test basé sur l'utilisation de minigènes et à partir de lignées lymphoblastoïdes de patients, lorsque ce matériel était disponible. De plus, certaines de ces variations ont fait l'objet d'une analyse dans un essai fonctionnel basé sur l'utilisation de cellules souches embryonnaires de souris. Ces différentes approches complémentaires ont permis de montrer qu'une fraction importante de ces variations, y compris des variations non-sens, (i) induisent un saut en phase de l'exon 12 du fait de la modification des sites d'épissage ou d'éléments de régulation, et, en conséquence, (ii) sont responsables de la production d'une protéine avec une délétion interne mais fonctionnelle, au moins en partie. L'ensemble de ces données montre, pour la première fois dans un gène de prédisposition au cancer, que certaines variations non-sens présumées nulles contournent la perte totale de fonction du fait de leur impact sur l'épissage. Des analyses complémentaires des données cliniques et familiales des patients seront nécessaires afin d'estimer le risque de développer un cancer associé à ce type de variations hypomorphes. Ces travaux soulignent l'importance d'être prudent dans l'interprétation des variations supposées nulles localisées dans des exons en phase ne codant pour aucun domaine fonctionnel essentiel.

Pièce jointe : Abstract Assises de Génétique L. Meulemans - 2020.doc

CO05 : Le déficit en frataxine induit une surcharge en fer due à un défaut de palmitoylation du récepteur à la transferrine qui est rétabli par l'artésunate.

Auteurs :

Floriane PETIT (1), Anthony Drecourt (1), Michael Dussiot (2), Coralie Zangarelli (1), Olivier Hermine (2), Arnold Munnich (3), Agnès Rötig (1)

1. Institut IMAGINE, Genetics of mitochondrial disorders, UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, 24 Boulevard du Montparnasse, 75015 Paris, France, Paris, France
2. Institut IMAGINE, Laboratory of Excellence GR-Ex, 24 Boulevard du Montparnasse, 75015 Paris, France, Paris, France
3. Department of Genetics, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 Rue de Sèvres, 75015 Paris, France, Paris, France

Mots clefs : Friedreich ataxia, mitochondria, iron, transferrin receptor, palmitoylation, iron-sulfur cluster, artesunate

Résumé :

Friedreich's ataxia (FRDA) is a frequent autosomal recessive disease caused by a GAA repeat expansion in the *FXN* gene encoding frataxin, a mitochondrial protein involved in iron-sulfur clusters (ISC) biogenesis. Frataxin deficiency affects ISC containing proteins, namely respiratory chain complexes I-III as well as aconitases, and causes an iron overload in brain and heart of patients. In these tissues mitochondrial iron-loading results in a progressive ataxia and hypertrophic cardiomyopathy. However, the mechanism of iron accumulation due to frataxin deficiency remains unclear. In this way, we studied the regulation of iron homeostasis in primary fibroblasts from FRDA patients.

We report an abnormal cellular iron homeostasis in FRDA fibroblasts, inducing a massive iron accumulation in the cytosol and to a lesser extent in mitochondria where it's associated with oxidative stress. The cellular iron uptake involves the internalization of transferrin receptor 1 (TfR1) by receptor-mediating endocytosis, which is dependent to palmitoylation status of TfR1. Despite a normal post-transcriptional regulation of TfR1, we found that FRDA fibroblasts failed to limit iron uptake by accumulating TfR1 at plasma membrane. We were able to demonstrate that this abnormal iron uptake results in an impaired Coenzyme A pool available causing a severe defect of TfR1 palmitoylation. Finally, we showed that artesunate, an anti-malaria drug, limits iron overload by restoring TfR1 palmitoylation, which controls the iron uptake. These data highlight the critical role of frataxin in iron overload and suggest that artesunate could be a potential candidate molecule for therapeutic trials of Friedreich ataxia.

CO06 : Les variations bi-alléliques pathogènes du gène MYORG causent un syndrome reconnaissable à l'interface entre calcifications primaires cérébrales et ataxies spino-cérébelleuses**Auteurs :**

Lou Grangeon (1), David Wallon (2), Camille Charbonnier (3), Olivier Quenez (4), Anne-Claire Richard (4), Stéphane Rousseau (4), Clara Budowski (5), Thibaud Lebouvier (6), Anne-Gaëlle Corbille (7), Marie Vidailhet (8), Emmanuel Flamand-Roze (8), Aurélie Meneret (8), Mathieu Anheim (9), Christine Tranchant (9), Pascal Favrole (10), Jean-Christophe Antoine (11), Luc Defebvre (12), Xavier Ayrignac (13), Pierre Labauge (13), Jérémie Pariente (14), Michel Clanet (15), David Maitête (16), Anne Rovelet-Lecrux (17), Anne Boland (18), Jean-François Deleuze (18), Thierry Frebourg (19), Didier Hannequin (20), Dominique Campion (21), Gaël Nicolas (4)

1. Département de Neurologie, 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. 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
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. 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
5. Département de Neurologie, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Département de Neurologie et CNR-MAJ, CHRU de Lille, Lille, France
7. Service de Neurologie, CHU de Nantes, Nantes, France
8. Département de neurologie, Inserm U1127, CNRS UMR 7225, ICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Faculté de médecine de Sorbonne Université, Paris, France
9. Service de Neurologie, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg (FMTS), Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre et Université de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Service de Neurologie, Hôpital d'Aix en Provence, Aix en Provence, France
11. Service de Neurologie, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France
12. Service de Neurologie A et EA4559, CHRU de Lille, Lille, France
13. Service de Neurologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
14. Service de Neurologie et Toulouse NeuroImaging Center, CHU de Toulouse, Inserm et Université de Toulouse, Toulouse, France
15. Service de Neurologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France
16. Service de Neurologie et Inserm U1239, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
17. Inserm U1079 et CNR-MAJ, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
18. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, CNRGH, Evry, France
19. Département de Génétique, 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
20. 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
21. 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 : calcifications, SCA, MYORG

Résumé :

Les calcifications cérébrales primaires (CCP) sont une entité rare d'expression neuropsychiatrique diverse définie par la présence de calcifications microvasculaires cérébrales. Quatre gènes sont associés à des formes autosomiques dominantes (CCP-AD) : *SLC20A2* et *XPR1* codent pour des transporteurs de phosphate, *PDGFB* code pour un facteur de croissance exprimé au niveau de l'unité neurovasculaire et *PDGFRB*, pour son récepteur principal. Nous avons précédemment montré que les signes cliniques principaux de CCP-AD sont des mouvements anormaux, des troubles cognitifs, et des signes psychiatriques, avec une moindre proportion d'autres anomalies motrices (cérébelleuses, pyramidales). Récemment, des variants du gène *MYORG*, qui code pour une glycosidase d'expression astrocytaire, ont été rapportés comme causant une forme autosomique récessive de CCP.

Nous avons criblé *MYORG* par séquençage d'exome chez 29 cas index non apparentés ne présentant pas de variant pathogène de CCP-AD. Nous avons étudié les caractéristiques cliniques et radiologiques des porteurs de variations bi-alléliques pathogènes de *MYORG* après étude de ségrégation et les avons comparées à celles de 102 patients CCP-AD.

Seize patients de 11 familles présentaient une variation bi-allélique rare ou nouvelle, non synonyme, perte de fonction ou prédite délétère. La pénétrance clinique était élevée (15/16 symptomatiques, âge de la seule porteuse asymptomatique : 28 ans, âge médian de début : 52 ans, intervalle : 21-62 ans) avec une atteinte motrice au premier plan. La dysarthrie était le signe initial chez 11/16 patients. Contrastant avec les patients CCP-AD, 80% des symptomatiques présentaient au moins 4 des 5 symptômes suivants au cours de l'évolution, qui étaient tous significativement enrichis chez les patients *MYORG* ($p < 0.002$ chacun) : dysarthrie, syndrome cérébelleux, troubles de l'équilibre, signes pyramidaux, et syndrome akinéto-rigide. Après cotation de chaque scanner par une échelle visuelle validée, le score total de calcifications était le plus élevé chez les patients *MYORG* ($p < 10^{-3}$ contre chaque gène sauf *XPR1*, $p=0.089$, modèle de régression binomiale prenant en compte l'âge au scanner). Fait frappant, 13/16 présentaient des calcifications du tronc cérébral en plus de calcifications étendues d'autres régions (noyaux gris

centraux, cervelet $\pm$ cortex). Parmi eux, 9 présentaient des calcifications pontines, qui n'ont jamais été observées dans les CCP-AD. De plus, tous les patients *MYORG* présentaient une atrophie cérébelleuse après analyse visuelle, confirmée en IRM par morphométrie voxel-à-voxel en comparaison avec un groupe CCP-AD. Dans 3 familles, le père était porteur de petites calcifications pallido-dentelées, suggérant une expression phénotypique marginale chez certains porteurs hétérozygotes.

Nous confirmons que *MYORG* est un nouveau gène causal de CCP et identifions un phénotype clinico-radiologique reconnaissable à l'interface entre les CCP et les ataxies spinocérébelleuses.

CO07 : Casser le mystère du chromoanagenesis : étude de 20 nouveaux cas et des données de la littérature**Auteurs :**

Nicolas CHATRON (1, 2), Giuliana GIANNUZZI (3), Pierre-Antoine ROLLAT-FARNIER (1, 4), Flavie DIGUET (1, 5), Eleonora PORCU (3), Kevin UGUEN (6), Julia LAUER ZILLHARDT (7), Arthur SORLIN (8), Flavie ADER (9), Alexandra AFENJAR (10), Joris ANDRIEUX (11), Sandra CHANTOT-BASTARAUD (12), Patrick CALLIER (13), Eduardo CALPENA (14), Marie-Pierre CORDIER (1), Sylvie JAILLARD (15), Nora CHELLOUG (16), Christèle DUBOURG (17, 18), Laurence FAIVRE (19), Françoise GIRARD (20), Solveig HEIDE (21), Yvan HERENGER (22), Boris KEREN (23), Samantha KNIGHT (24), James LESPINASSE (25), Laurence LOHMANN (26), Nathalie MARLE (27), Reza MAROOFIAN (28), Alice MASUREL (27), Michèle MATHIEU (29), Corinne METAY (30), Alistair Pagnamenta (24), Marie-France PORTNOÏ (12), Fabienne PRIEUR (31), Marlène RIO (32), Jean-Pierre SIFFROI (12), Jenny TAYLOR (24), Stéphanie VALENCE (33), Andrew WILKIE (14), Patrick EDERY (1), Alexandre REYMOND (3), Damien SANLAVILLE (1, 2), Caroline SCHLUTH-BOLARD (1, 2)

1. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Equipe GENDEV, CRNL, INSERM U1028, , CNRS UMR5292, UCBL1, Lyon, France
3. Centre Intégratif de Génomique, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse
4. Cellule bioinformatique, Plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
5. Equipe GENDEV, CRNL, UCBL1, , INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Lyon, France
6. Service de génétique, CHU de Brest, Brest, France
7. Unité de Diagnostic Préimplantatoire, Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Service de génétique, Equipe GAD, CHU Dijon, Dijon, France
9. Département de Génétique médicale, Cardiogénétique et myogénétique moléculaire et cellulaire, APHP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière , Paris, France
10. Département de Génétique médicale, UF de Génétique clinique, , APHP, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
11. Service de génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
12. Département de Génétique médicale, UF de Génétique chromosomique, Hôpital d'enfants Armand Trousseau, APHP, Paris, France
13. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
14. Clinical Genetics Group, MRC Weatherall Institute of Molecular Medicine, University of Oxford, Oxford, Royaume Uni
15. Service de cytogénétique et biologie cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
16. Laboratoire de cytogénétique, Service de génétique médicale, , CHU Tours, Tours, France
17. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
18. IGDR, CNRS UMR 6290, Université de Rennes 1, Rennes, France
19. Centre de génétique, Hôpital d'enfants, CHU de Dijon, Dijon, France
20. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle et prénatale, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
21. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, APHP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
22. Service de génétique médicale, CHU de Tours, Tours, France
23. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France
24. Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, Oxford, Royaume Uni
25. Service de génétique, CH Métropole Savoie, Chambéry, France
26. Département de génétique, Laboratoire CERBA, Saint Ouen l'Aumône, France
27. Service de génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France
28. Institute of Neurology, University College London, London, Royaume Uni
29. Service de génétique clinique et oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
30. Service de cytogénétique, Hôpital Henri Mondor, Creteil, France
31. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU Hôpital Nord, Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
32. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
33. Service de Neurologie Pédiatrique, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Mots clefs : chromoanagenesis, chromothripsis, WGS, remaniement chromosomique, NGS

Résumé :

L'essor des analyses pangénomiques a permis de découvrir des réarrangements complexes résultant d'événements catastrophiques appelés *chromoanagenesis*. Bien que fréquents dans certaines tumeurs, ces remaniements sont encore exceptionnels dans des échantillons constitutionnels. Nous avons regroupé 20 cas de la littérature avec 20 nouveaux cas pour identifier les mécanismes biologiques sous-jacents. Notre analyse confirme le regroupement quasi exclusif des points de cassure sur un seul chromosome dans une majorité de cas. Si nous distinguons 3 types principaux de remaniements proches des définitions existantes de la littérature de chromothripsis, chromoplexie, chromoanasythesis, ces derniers présentent des caractéristiques encore non décrites. Il existe, par exemple, une forte tendance des gains du nombre de copies apparus à être regroupés et insérés ensemble.

Dans un second temps, nous avons étudié la distribution des 1034 points de cassure de ces 40 remaniements, celle des chromoanagenesis tumoraux (n = 13,310 points de cassure) et celle des remaniements simples (n = 468 points de cassure) et l'avons comparé à une répartition aléatoire (hypothèse nulle). Pour les 3 groupes de points de cassure (chromoanagenesis constitutionnels, tumoraux et remaniements simples), nous observons un enrichissement des points de cassure dans les régions se répliquant tardivement au cours du cycle cellulaire. La distribution des points de cassure des remaniements complexes apparaît proche d'une répartition aléatoire (hypothèse nulle) s'agissant des autres critères analysés (Topologically-Associated Domains (TADs), Lamina-Associated Domains (LADs), éléments répétés, marquage en bandes G, compartiment A/B, distance aux origines de réplication, sites de fragilité chromosomique). En revanche, pour les remaniements simples, il existe une déplétion

significative en points de cassure dans les LADs. Ce dernier résultat infirme l'hypothèse d'un continuum entre remaniements simples et complexes.

La probabilité accrue de cassure dans les régions à réplication tardive appuie l'hypothèse d'une condensation prématurée d'un chromosome dans un micronoyau. Cette séquestration explique le regroupement des cassures sur un seul chromosome et est le lieu d'une réplication retardée. La condensation hâtive entraîne le décrochage des fourches de réplication encore actives dans les régions les plus en retard. Si les fourches raccrochent d'autres fragments d'ADN, le chromosome reconstruit portera des cicatrices de ces mécanismes réplicatifs. Si les fourches se décrochent complètement et font apparaître de véritables cassures double brin, les fragments seront raboutés le mieux possible.

Nos résultats suggèrent une origine commune des remaniements complexes.

Pièce jointe : Assises_chromothripsis-v3.docx

CO08 : Apport du génome trio pour le diagnostic de la déficience intellectuelle**Auteurs :**

Benjamin Cogné (1, 2), Thomas Besnard (1), Sébastien Küry (1, 2), Marie-Laure Vuillaume (3, 4), Annick Toutain (3, 4), Dominique Bonneau (5, 6), Estelle Colin (5, 6), Laurent Pasquier (7, 8), Wilfried Carré (9, 8), Christèle Dubourg (9, 8), Sylvie Odent (7, 8), Brigitte Gilbert-Dussardier (10, 11), Sandra Mercier (1, 2), Jean-François Deleuze (12), Richard Redon (2), Bertrand Isidor (1, 2), Stéphane Béziau (1, 2)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. l'Institut du Thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France
3. UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France
4. UMR U930, INSERM, Tours, France
5. Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, France
6. Equipe MitovascLab, Institut MitoVasc, UMR CNRS 6015, INSERM U1083, Université d'Angers, Angers, France
7. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
8. CNRS UMR 6290, Université de Rennes, Rennes, France
9. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU de Rennes, Rennes, France
10. Service de génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
11. EA3808, Université de Poitiers, Poitiers, France
12. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, Evry, France

Mots clefs : déficience intellectuelle, génome, exome, variants structuraux

Résumé :

Le séquençage de l'exome pour le diagnostic de la déficience intellectuelle (DI) se généralise et le plan « France médecine génomique 2025» promet un accès à court terme au séquençage du génome entier. L'apport du génome reste cependant peu étudié par rapport à l'exome dans cette indication. Dans un cadre de recherche, nous avons obtenu un financement par la Fondation Maladies Rares permettant le séquençage du génome en trio de 20 patients présentant une DI modérée à sévère, souvent syndromique. Ils ont été recrutés après une analyse non concluante par exome trio au sein de l'étude HUGODIMS (recrutement du centre de référence CLAD-Ouest). Les SNVs et INDELs ont été analysés avec GATK, les variants structuraux (SVs) avec MANTA, qui utilise les informations portées par les « split-reads » et « paired-reads » pour la détection de tous les types de SV, et les CNVs avec cn.MOPS (intervalles de 500pb).

L'analyse des variants dans la séquence codante a identifié (1) deux patients avec des variants faux-sens *de novo* dans le gène *H3F3A*, un gène en cours de publication, dans un exon non couvert par exome, (2) un variant faux-sens *de novo* dans le gène *TFE3*, récemment publié, et (3) un variant stop pathogène dans un gène en cours de publication hérité d'une mère hétérozygote et asymptomatique. L'analyse des SVs par MANTA a montré : (1) une translocation t(1;6)(p21.1;q21) équilibrée *de novo* avec des points de cassure intergéniques, (2) une inversion *de novo* de 2,1Mb impliquant le gène *FOXP1*, (3) une inversion de 65Mb *de novo* sur le bras long du chromosome 5 avec des points de cassures intergéniques, et (4) une délétion de 1,8kb *de novo* emportant un exon du gène *CXorf56* sur le chromosome X chez une fille. L'analyse complémentaire des CNVs par cn.MOPS a mis en évidence une délétion de 22kb à l'état homozygote dans le gène *RSPRY1*, qui n'a pas été identifiée par MANTA à cause d'un mauvais alignement au niveau des points de cassures. L'étude des variants dans une hypothèse autosomique récessive a mis en évidence deux variants pathogènes dans le gène *HACE1* et trois potentiels nouveaux gènes de DI, dont *INTS11* pour lequel une cohorte de patients est en cours de constitution.

Au total, les résultats préliminaires de cette cohorte encore en cours d'analyse montrent qu'un diagnostic probable peut être établi chez 10/20 patients, comprenant 5 SVs dont 2 visibles par une analyse du caryotype. De nouveaux gènes candidats ont pu être identifiés en récessif, un mode de transmission qui est peut-être sous-estimé par les études en trio. A noter que chez un patient sans candidat, un variant pathogène dans *NIPBL* a été identifié en mosaïque à 11% dans la salive suite à une analyse par panel après réévaluation du phénotype. Bien qu'aucun événement susceptible d'être pathogène dans les régions non-codantes n'ait été identifié pour le moment, le génome en trio présente un rendement supérieur à l'exome grâce à la détection des SVs et une meilleure couverture des régions codantes.

Pièce jointe : abstract-assises2020_BC.doc

CO09 : Le syndrome MADaM, une nouvelle dysplasie acromandibulaire due à l'absence de la protéine MTX2, relie le dysfonctionnement mitochondrial au noyau**Auteurs :**

Sahar Elouej (1), Karim Harhour (1), Coraline Airault (1), Morgane Lema (2), Geneviève Baujat (3), Sheela Nampoothiri (4), Hülya Kayserili (5), Nihal Al Menabawy (6), Laila Selim (6), Robert Rubinsztajn (7), Chayki Charar (8), Catherine Bartoli (1), Agnès Rötig (9), Jérémie Mortreux (1), Peter Bauer (10), Catarina Pereira (10), Nathalie Escande-Beillard (11), Antoine Muchir (12), Lisa Martino (13), Yosef Gruenbaum (8), SongHua Lee (13), Philippe Manivet (13, 14), Guy Lenaers (2), Bruno Reversade (11), Nicolas Lévy (1, 15), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1, 15)

1. INSERM U1251 - Marseille Medical Genetics, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. MitoLab, CNRS UMR 6015, INSERM U1083, Université d'Angers, CHU d'Angers, Angers, France
3. Department of Medical Genetics, INSERM UMR 1163, IMAGINE Institute, Necker Enfants Malades Hospital, Paris, France
4. Department of Pediatric Genetics, Amrita Institute of Medical Sciences & Research Centre, Kerala, Inde
5. Medical Genetics Department, Koç university, School of Medicine (KUSoM) , Istanbul, Turquie
6. Neurology and metabolic division, Cairo university children hospital, Cairo, Égypte
7. Pole of Anesthesiology and Reanimation, Necker Enfants Malades Hospital, Paris, France
8. Department of Genetics, Institute of Life Sciences, Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israël
9. INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
10. CENTOGENE AG, CENTOGENE AG, Rostock, Allemagne
11. A*STAR, Institute of Medical Biology, Singapore, Singapour
12. Inserm UMRS974, Center of Research in Myology, Institut de Myologie, Sorbonne Université, G.H. Pitie-Salpetriere, , Paris, France
13. CeleScreen SAS, CeleScreen SAS, Paris, France
14. APHP, Biobank Lariboisière BB-0033-00064, Hôpital Lariboisière, Paris, France
15. Department of Medical Genetics, La Timone Children's hospital, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

Mots clefs : MTX2, metaxin, mitochondrie, vieillissement, noyau, laminopathie, dysplasie acromandibulaire

Résumé :

Les syndromes « dyplasie acromandibulaire » (MAD) connus sont dus principalement à des mutations récessives des gènes *LMNA*, *ZMPSTE24* ou *BANF1* et font partie du spectre phénotypique des laminopathies progéroides. Ils sont caractérisés par des anomalies majeures de la morphologie et des fonctions nucléaires.

Nous rapportons l'identification de quatre mutations nulles homozygotes différentes du gène *MTX2*, codant pour la METAXINE-2, chez six enfants atteints d'une dysplasie acromandibulaire sévère, appelée MADaM syndrome (Mandibuloacral Dysplasia associated to MTX2).

La METAXINE-2 est une protéine ubiquitaire de la membrane mitochondriale externe (MME) impliquée dans l'import de protéines à topologie complexe dans la MME et dans l'induction de l'apoptose en réponse au TNF-alpha. Ces patients, issus de familles consanguines d'origines géographiques différentes, présentent une atteinte clinique homogène et très proche des laminopathies progéroides comme les MAD ou la Progeria de Hutchinson-Gilford (HGPS), incluant un retard de croissance post-natal, une lipodystrophie, une dysmorphie faciale typique avec micrognathie, des oreilles larges bas implantées, une accumulation de tissu adipeux au niveau des joues, un nez fin et long, des résorptions osseuses distales, des calcifications artérielles, une hypertension extrêmement sévère et une glomérulosclérose.

Les western blots réalisés sur les fibroblastes de deux patients ont montré l'absence totale de la protéine METAXINE-2, accompagnée par l'absence de son partenaire METAXINE-1, également localisé dans la MME.

Les fibroblastes présentaient par ailleurs une fragmentation majeure du réseau mitochondrial, probablement due à une augmentation des processus de fission mitochondriale, une réduction de composants de la chaîne respiratoire similaire à celle observée dans le HGPS et une réduction des capacités de phosphorylation oxydative. De plus, les fibroblastes des patients résistaient à l'induction de l'apoptose par le TNF-alpha ou la staurosporine, conduisant, comme probables voies alternatives visant à « neutraliser » les cellules altérées dans l'organisme, à une augmentation de la sénescence, de la mitophagie et des temps de dédoublement cellulaire. De façon intéressante, des anomalies morphologiques nucléaires majeures ont été observées à la fois dans les fibroblastes des patients déplétés en METAXINE-2 et chez *C. elegans* sous-exprimant l'orthologue *mtx-2* par siRNA. Nous rapportons donc

l'identification du syndrome MADaM, révélant une relation inattendue entre la composition / fonction mitochondriale et la morphologie nucléaire, établissant un lien physiopathologique avec les laminopathies progéroides connues et sous-tendant probablement les caractéristiques cliniques communes observées. Ces travaux sont en cours de peer-review dans *Nature Communications*.

Pièce jointe : abstract Elouej et al.-MTX2 mutations.docx

CO10 : Pathologies ultra-rares diagnostiquées par séquençage haut débit d'exome sur une série de 334 patients dans le domaine des anomalies du développement au CHU de Rennes**Auteurs :**

Paul Rollier (1, 2), Christele Dubourg (2, 3), Wilfrid Carré (2), Véronique David (2, 3), Chloé Quelin (1), Mélanie Fradin (1), Laurent Pasquier (1, 4), Sylvie Odent (1, 3), Nolwenn Jean-Marçais (5)

1. Service de Génétique Médicale, CHU RENNES, RENNES, France
2. Laboratoire de Génétique moléculaire et génomique, CHU RENNES, RENNES, France
3. CNRS UMR 6290 (IGDR), Université de Rennes 1, RENNES, France
4. INSERM 1414, CIC pédiatrique, RENNES, France
5. Centre de référence anomalies du développement-CLAD OUEST, CHU RENNES, RENNES, France

Mots clefs : Anomalies du développement; déficience intellectuelle; pathologies ultra-rares; séquençage haut débit d'exome;

Résumé :

L'avènement des techniques de séquençage haut débit (SHD) a permis d'augmenter rapidement le rendement diagnostique chez les patients porteurs d'anomalies du développement (AD) avec ou sans déficience intellectuelle (DI), de réduire l'errance diagnostique, d'étendre le phénotype de pathologies déjà connues, de rapporter de nombreux nouveaux gènes responsables d'AD avec ou sans DI associée. Parallèlement, le taux diagnostique de pathologies ultra-rares (prévalence: $p < 1/50.000$) a lui aussi augmenté. Parmi ces dernières, la proportion de pathologies de description récente avec peu de recul sur l'évolution et avec de petites cohortes descriptives apparaît importante. Méthodes: nous avons repris 334 résultats de SHD d'exome réalisés dans le cadre diagnostique chez des patients porteurs d'AD avec ou sans DI sans orientation clinique précise entre 2017 et 2018 par le laboratoire de génétique moléculaire et de génomique du CHU de Rennes et nous avons recherché les diagnostics qui relevaient des pathologies ultra-rares ainsi que les sources d'information disponibles pour ces patients. Les échantillons d'ADN ont été analysés selon les étapes suivantes: enrichissement par capture de séquence SureSelect XT Focused Exome (Agilent Technologies), séquençage haut débit sur plateforme HiSeq ou NextSeq (Illumina), analyse bio-informatique et interprétation réalisées avec les outils développés au laboratoire, incluant les logiciels BWA MEM pour l'alignement (hg19), GATK et FreeBayes pour le «variant calling», ANNOVAR et ALAMUT (Interactive Biosoftware) pour l'annotation. Résultats: 84,4 % des analyses ont été réalisées en trio. Sur les 334 analyses d'exome, la mise en évidence d'un variant de classe 4 ou 5 selon la classification ACMG dans 66 gènes différents a permis de rendre un diagnostic certain pour 88 cas (26.35%). Les bases moléculaires de 37 de ces 66 pathologies (56%) ont été décrites après 2010 dont 7 après 2015 (10,6%). Nous avons pu retrouver des données de prévalence disponibles pour 44 de ces diagnostics: 88,6% sont classés comme ultra-rares et pour 36,4% moins de 20 cas sont décrits dans la littérature. Nous avons également recherché l'existence d'informations accessibles aux familles concernant la pathologie (association de patients, ressources web) pour chaque diagnostic. Discussion/ conclusion: L'ensemble de ces données souligne l'importance du taux de pathologies ultra-rares diagnostiquées grâce au SHD dans le domaine des AD et le peu d'informations disponibles pour les patients et leurs familles concernant l'évolution et le parcours de soin. Un accompagnement global et un suivi médical régulier de ces patients apparaît important avec une veille bibliographique et une mise à jour régulière des connaissances afin de limiter la sensation d'isolement ressentie par les familles.

CO11 : Etude phénotypique du syndrome d'Aarskog lié à des mutations de FGD1, à partir d'une série de 106 patients : recommandations pour le diagnostic et la prise en charge
Auteurs :

Médéric JEANNE (1, 2), Nathalie RONCE (3), Geneviève BAUJAT (4), Sylvain BRETON (5), Stéphanie ARPIN (3), Florence PETIT (6), Clémence VANLERBERGHE (6), Anne DIEUX (6), Sylvie MANOUVRIER (7), Catherine VINCENT DELORME (6), Philippe KHAU VAN KIEN (8), Julien VAN GILS (9), Chloé QUELIN (10), Laurent PASQUIER (10), Sylvie ODET (10), Florence DEMURGER (11), Fanny LAFFARGUE (12), Christine FRANCCANNET (12), Dominique MARTIN (13), Alexandra AFENJAR (14), Sandra WHALEN (14), Alain VERLOES (15), Yline CAPRI (15), Andrée DELAHAYE (15), Julie PLAISANCIE (16), Philippe LABRUNE (17), Anne DESTREE (18), Isabelle MAYSTADT (18), Viorica CIORNA-MONFERRATO (19), Bertrand ISIDOR (20), Marie VINCENT (20), Albert DAVID (20), Nolwen JEAN MARCAIS (21), Sophie NAMBOT (21), Elise SCHAEFER (22), Salima EL CHEHADEH (22), James LESPINASSE (23), Patrick COLLIGNON (24), Tiffany BUSA (25), Nicole PHILIP (25), Marjolaine WILLEMS (26), Marc PLANES (27), Oliver VANAKKER (28), Laetitia LAMBERT (29), Bruno LEHEUP (29), Michèle MATHIEU DRAMARD (30), Gilles MORIN (30), Klaus DIETRICH (31), Emmanuelle GINGLINGER (32), Allan BAYAT (33), Meena BALASUBRAMANIAN (34), Benjamin DAURIAT (35), Damien HAYE (36), Jeanne AMIEL (4), Marlène RIO (4), Valérie CORMIER-DAIRE (4), Annick TOUTAIN (1, 37)

1. Service de Génétique, CHU de Tours, TOURS, France
2. Unité mixte de recherche INSERM 1253, Université François Rabelais de Tours, TOURS, France
3. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
4. Service de génétique clinique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Radiologie pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Service de Génétique, Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU de Lille, Lille, France
7. Service de Génétique, Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU de Lille, Lille, France
8. Service de Génétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
9. Service de Génétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
10. Service de Génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
11. Service de Génétique, CH de Vannes, Vannes, France
12. Service de Génétique, CHU de Clermont Ferrand, Clermont Ferrand, France
13. Service de Génétique, CH du Mans, Le Mans, France
14. Unité de Génétique Clinique, CHU Trousseau, Paris, France
15. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
16. Service de génétique médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
17. Service de Pédiatrie, Hôpital Antoine Beclère, Paris, France
18. Service de Génétique, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique
19. Service de Génétique, CHR de Metz-Thionville, Metz, France
20. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
21. Centre de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
22. Service de génétique médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
23. Service de génétique médicale, CH de Chambéry, Chambéry, France
24. Service de génétique médicale, CH de Toulon, Toulon, France
25. Département de Génétique Médicale, CHU de Marseille, Marseille, France
26. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
27. Service de pédiatrie et génétique médicale, CHU de Brest, Brest, France
28. Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgique
29. Service de Génétique, CHU de Nancy, Nancy, France
30. Service de Génétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
31. Département de Génétique et Procréation, CHU de Grenoble, Grenoble, France
32. Service de Génétique, GHR Mulhouse Sud Alsace, Mulhouse, France
33. Department of Pediatrics, University Hospital of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
34. Sheffield clinical genetics service, Sheffield children NHS foundation trust, Sheffield, Royaume Uni
35. Service de cytogénétique et génétique médicale, CHU de Limoges, Limoges, France
36. Service de génétique médicale, CHU de Nice, Nice, France
37. Unité mixte de recherche INSERM 930, Université François Rabelais de Tours, TOURS, France

Mots clefs : Aarskog, dysplasie facio-génitale, FGD1

Résumé :

Le syndrome d'Aarskog (SA), aussi appelé dysplasie facio-génitale, est un syndrome lié à l'X, rapporté pour la première fois par Aarskog en 1970. Il est caractérisé par une dysmorphie faciale reconnaissable, une petite taille modérée, des anomalies des extrémités ainsi que des anomalies génitales, notamment du scrotum. Le SA est causé par des mutations du gène *FGD1*, situé sur en Xq11.21. Ce gène code une protéine échangeuse de guanine (GEF) qui active spécifiquement la Rho-GTPase CDC42. Cette voie intervient notamment dans le développement osseux. Les connaissances du phénotype du SA sont essentiellement basées sur la description de patients dont le diagnostic n'a pas été confirmé par l'analyse du gène *FGD1*. Ainsi, certains aspects du phénotype sont encore peu connus. En particulier, la description du phénotype neurodéveloppemental est extrêmement hétérogène dans la littérature médicale.

Afin de redéfinir le spectre phénotypique du SA et afin de proposer des critères diagnostiques, nous avons analysé les caractéristiques cliniques

d'une grande série de patients avec une mutation identifiée dans *FGD1*. Afin de recueillir ces informations, un questionnaire établi à partir des données de la littérature a été envoyé aux cliniciens référents. Des photos et des radiographies osseuses étaient également demandées. Les éléments morphologiques ont été revus par des dysmorphologistes expérimentés et les radiographies osseuses ont été relues par l'équipe du centre de référence français des maladies osseuses constitutionnelles. Nous présentons les résultats de l'analyse clinique, radiologique et moléculaire de 106 patients garçons. Nos résultats apportent des informations sur l'histoire naturelle du SA et sur la prévalence des signes cliniques. Nous apportons également la description de nouveaux signes cliniques et radiologiques associés au SA.

Enfin, au regard des stratégies actuelles de séquençage à haut débit et l'essor du rétro-phénotypage, nous proposons des critères diagnostiques permettant de justifier l'étude moléculaire de *FGD1* devant une suspicion clinique et permettant également l'interprétation des variants de *FGD1* issus du séquençage haut débit. Nous proposons également des recommandations pour la prise en charge.

CO12 : Rapidomique : Séquençage du génome en 1ère intention chez les nouveau-nés hospitalisés aux soins intensifs.**Auteurs :**

Audrey Méleu (1), Julie Gauthier (1), Fadi Hamdan (1), Guylaine D'Amours (1), Catalina Maftei (1), Jean-François Soucy (1), Jacques L Michaud (1), Anne-Marie Laberge (1)

1. Service de génétique médicale, CHU Sainte Justine, Montréal, Canada

Mots clefs : Séquençage du génome, soins intensifs

Résumé :

Introduction: Les maladies génétiques rares représentent une cause fréquente d'admission aux soins intensifs néonataux (SINN). Établir un diagnostic de maladies rares chez les nouveau-nés peut être difficile en raison de leurs présentations souvent atypiques ou peu spécifiques. Or, des études récentes suggèrent qu'un diagnostic étiologique posé rapidement après l'admission aux SINN affecte significativement la prise en charge. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact du séquençage entier du génome en mode rapide sur le rendement diagnostique et la prise en charge des enfants admis aux SINN.

Méthodes: Un séquençage du génome entier en trio a été réalisé chez les nouveau-nés admis aux SINN du CHU Sainte-Justine (entre les mois de mars et septembre 2019) en raison d'une suspicion de maladies rares. Les génomes ont été séquencés sur un système NovaSeq (Illumina) et leur analyses bio-informatiques ont été réalisées sur la pipeline Dragen. L'impact du résultat sur la prise en charge de l'enfant a été évalué pour toute la période de l'hospitalisation.

Résultats: Dix-huit patients ont été inclus dans l'étude, 2 pour une encéphalopathie épileptique, 5 pour une cardiopathie, 10 pour un syndrome poly-malformatif et 1 pour un syndrome de Cushing congénital. Un résultat préliminaire a été rendu en 1 semaine pour tous les cas où des variations pathogéniques ont été identifiées. La durée médiane entre l'inclusion et le rendu du résultat a été de 19 jours (quartile 1 : 16, quartile 3 : 32). Sept diagnostics ont été posés par le séquençage du génome (38,9%). Parmi ceux-ci, 3 diagnostics étaient inattendus et auraient été manqués par une approche de séquençage de panels de gènes parce que le médecin généticien ne les avaient pas initialement évoqués. Une modification de la prise en charge ou du conseil familial suite au rendu du résultat a été rapportée chez 6 enfants incluant une modification du traitement pharmacologique chez 2 enfants, une orientation vers les soins palliatifs chez 2 patients, un arrêt du suivi en génétique pour 1 enfant (chez qui le séquençage du génome était négatif) et un dépistage des apparentés chez 2 patients.

Conclusion: Le séquençage du génome a permis de poser un diagnostic chez 7/18 patients en moins d'un mois et a impacté leur prise en charge dans le tiers des cas. Le recrutement de patients additionnels est actuellement toujours en cours, avec un objectif de recruter 100 trios.

CS001 : Vingt ans de diagnostic préimplantatoire (DPI) à Strasbourg

Auteurs :

Philippe GOSSET (1), Claire KASTNER (1), Emmanuelle KIEFFER (1), Julia LAUER-ZILLHARDT (1), Nadia BIHEMI (1), Sarah DONAT (1), Nathalie GARDES (1), Karen LEVESQUEAU (1), Jean-Christophe NICOD (1), Laetitia MOSSE (1), Elodie SCHAAF (2), Nicolas BECKER (3), Nathalie RUCH (3), Isabelle GALLAND (1), Pascale MIGNOT (2), Emilie BEAU (2), Marie-Laure KELLER (2), Claire Lise MULLER (2), Olivier PIRRELLO (2), Catherine RONGIERES (2), Catherine CELEBI (3), Isabelle LICHTBLAU (3), Céline MOUTOU (4, 5)

1. UF de diagnostic préimplantatoire des HUS, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
3. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
4. UF de Diagnostic préimplantatoire des HUS, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
5. , Université de Strasbourg, STRASBOURG, France

Mots clefs : DPI, diagnostic préimplantatoire, bilan, Strasbourg

Résumé :

Le diagnostic préimplantatoire a été autorisé par la loi de Bioéthique de 1994. Le centre de DPI de Strasbourg fait partie des cinq centres français autorisés et a débuté son activité dès 1999. Accrédité pour le DPI par PCR et par FISH depuis 2018, il est le seul à prendre en charge les couples en cas de risque viral, hépatites et HIV, et réalise la plupart des DPI pour mutation de novo. Notre expertise permet de prendre en charge la quasi-totalité des pathologies retenues par le centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal local.

Nous présentons ici un bilan de vingt ans d'expérience.

Jusqu'en octobre 2019, 2160 dossiers ont été ouverts à Strasbourg : 1471 pour pathologies monogéniques et 689 pour anomalies du caryotype. 15% des dossiers ont été refusés surtout pour des difficultés de mise en œuvre de la FIV, 18% des couples ont abandonné leur demande. Nous avons développé des tests par PCR pour plus de 120 pathologies monogéniques et mis au point des diagnostics par FISH pour près de 450 couples. Nous recensons 2274 tentatives pour 984 couples, avec une activité annuelle croissante jusqu'en 2016, puis stabilisée autour de 200-230 cycles. Plus de 500 enfants sont nés grâce à notre activité.

Le DPI a bénéficié des évolutions techniques de l'assistance médicale à la procréation. Depuis 2006 la politique de transfert électif d'embryons a permis de limiter le risque de grossesse multiple. Depuis 2012, la vitrification embryonnaire facilite l'organisation du laboratoire et augmente les chances globales de succès puisque le taux moyen de grossesse clinique par transfert est de 31% que les embryons soient frais ou vitrifiés. Le taux de grossesse par transfert reste fortement corrélé à l'âge de la femme au moment de la tentative : 32% avant 38 ans, 25% entre 38 et 40 ans et 10% après 40 ans. La culture embryonnaire prolongée et la biopsie au stade blastocyste permettent désormais de disposer de plus de matériel génétique et de limiter les risques d'erreur de diagnostic.

Les techniques d'analyse à haut débit ont amélioré le diagnostic génétique, ce qui conduit inévitablement à demander un DPI pour certains couples jusqu'alors en errance de diagnostic. Il en résulte une augmentation de demandes pour des pathologies confidentielles nécessitant des mises au point spécifiques et entraînant un allongement des délais de prise en charge. L'amplification préalable du génome entier à partir de plusieurs cellules embryonnaires est alors utile pour simplifier le développement ou pour des DPI complexes.

La communauté internationale migre progressivement vers les techniques d'analyse à haut débit (CGHarray, karyomapping, NGS), difficiles à mettre en œuvre en France du fait du cadre légal, mais qui seraient pourtant incontournables pour assurer une égalité d'accessibilité au DPI dans des délais acceptables, quelle que soit l'indication. Cela nécessiterait au préalable une adaptation de ces techniques ou une modification de la loi, actuellement en cours de révision.

Pièce jointe : Gosset et col_Vingt ans de DPI a Strasbourg.pdf

CS002 : Dépistage prénatal non invasif pour les maladies rares : validation d'un test par capture et séquençage haut débit appliqué à la déficience intellectuelle

Auteurs :

Sacha BODENES (1), Pauline FRANCOIS (1), Lydia IKHLEF (1), Claire MIRY (2), Cecile MAGER (2), Anne Sophie WEINGERTNER (2), Fernando GUERRA (2), Nicolas SANANES (3), Samuel NICAISE (1), Vincent ZILLIOX (1), Jamel CHELLY (4), Amelie PITON (4), Jean MULLER (4), Nicolas MEYER (5), Romain FAVRE (3), Bénédicte GERARD (6)

1. Laboratoire de génétique , Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de gynécologie -CMCO, Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Service de gynécologie -CMCO, Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, Strasbourg, France
5. Groupe Méthodes en Recherche Clinique, Service de Santé Publique & iCUBE UMR 7357 67412 Illkirch Cedex, Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, strasbourg, France

Mots clefs : DPNI; Déficience intellectuelle

Résumé :

L'accès aux données génétiques fœtales via le plasma maternel permet d'envisager une approche non invasive notamment dans les cas où le risque d'atteinte fœtale est faible. Dans 70 % des cas de déficience intellectuelle, les mutations identifiées sont de novo. Le risque de récurrence est donc faible pour les nouvelles grossesses mais très fréquemment les couples demandent un diagnostic prénatal invasif devant le risque de mosaïque parentale. Pour ces familles, nous avons développé une approche universelle permettant la recherche de la mutation familiale identifiée directement sur le plasma de la mère, en réalisant une approche par capture de notre panel des 500 gènes de déficience intellectuelle suivie de séquençage haut débit. La méthode de capture a été adaptée aux faibles quantités d'ADN plasmatique pour obtenir une profondeur moyenne de 500 X et le pipeline bioinformatique a été adapté à la détection de variation en mosaïque faible, la variation recherchée représentant environ 5 % des reads.

Nous avons réalisé une validation de méthode par l'analyse de 18 trios (mère, fœtus, plasma maternel). Les variations, sans lien avec la DI mais spécifiques du fœtus et non présentes chez sa mère, ont été extraites bioinformatiquement ; ces positions ont ensuite été étudiées en terme de profondeur et de nombre reads mutés. Les analyses ont montré que, suite aux adaptations techniques réalisées, la profondeur moyenne obtenue à partir de notre capture de 500 gènes est de 649X. Nous avons également analysé la sensibilité analytique à partir d'un set de 6089 variations fœtales d'origine paternelle, et donc que l'on devait retrouver à faible fraction allélique dans le plasma maternel. La détection a été considérée comme positive à partir d'un read porteur de la variation attendue. Cette sensibilité de détection est de 98,54%. La spécificité analytique a été approchée en tenant compte du bruit de fond de la méthode et est estimée à 99,75 % dans le système analytique utilisé (Nextseq550 et capture Roche).

L'utilisation d'une approche non invasive par capture et analyse en séquençage haut débit est donc tout à fait envisageable dans le cadre de la déficience intellectuelle, pour les familles où une mutation de novo est identifiée. Cette approche permettra de rendre un diagnostic négatif avec une bonne valeur prédictive négative (98,55%), même si celle-ci restera inférieure à un diagnostic prénatal invasif qui permet un diagnostic de certitude. Cette validation de méthode a permis de définir les modalités d'analyse à envisager en routine (vérification préalable de la bonne couverture de la variation sur le cas index avec la capture, analyse en trio père, mère et plasma maternel au moment du prénatal) les contrôles internes à valider pour un rendu diagnostic (quantité d'ADN plasmatique initiale > 15 ng pour éviter l'allèle drop out, fraction fœtale observée > 5 % au moment de l'analyse et couverture observée à la position de la variation pathogène > 300 X).

CS003 : Intégration du séquençage d'exome dans le diagnostic prénatal des anomalies fœtales en routine : pièges, succès et discussion des bonnes pratiques

Auteurs :

Yvan Herenger (1, 2), Tobias Bethge (2), Fabian Chablais (2), Kim Fricker (1), Demian Mayer (2, 3), Walter Blum (2), Franco Bottini (3), Hubert Traber (2), Sharareh Moshir (3), Roland Spiegel (1, 2)

1. Institut de Génétique Médicale, Genetica, Zürich, Suisse
2. Département de Biologie Moléculaire, Genetica, Zürich, Suisse
3. Département de Cytogénétique, Genetica, Zürich, Suisse

Mots clefs : séquençage haut débit, exome, trio, diagnostic prénatal, syndromologie, clarté nucale

Résumé :

Introduction : Les anomalies structurales fœtales concernent 2 à 3% des grossesses et sont associées à une forte mortalité et morbidité périnatale. Leurs étiologies génétiques constituent un enjeu diagnostique tant pour la connaissance du pronostic fœtal que pour le conseil génétique parental. Après exclusion des anomalies cytogénétiques fœtales, l'utilisation du séquençage haut débit d'exome dans le cadre du diagnostic prénatal (DPN) apporte un service médical rendu significatif. Le rendement diagnostique variable des études publiées (6-80%) reflète cependant le manque de consensus sur son usage. Nous évaluons l'efficacité du séquençage d'exome fœtal intégré au DPN de routine et discutons les enjeux diagnostiques et éthiques associés.

Méthode : Les couples ont été recrutés de façon prospective entre novembre 2018 et octobre 2019 (11 mois). Les critères d'inclusion étaient la survenue d'une anomalie fœtale (élévation de la clarté nucale isolée ou associée à d'autres anomalies, existence d'une ou plusieurs malformations) et l'absence de diagnostic cytogénétique (caryotype conventionnel et APCA). Une consultation de génétique pré-test et post-test de rendu de résultat étaient proposées aux couples. L'analyse en trio de l'exome fœtal était conduite de façon indépendante par deux spécialistes en génétique médicale et le résultat était discuté en réunion clinico-biologique avant validation. L'analyse des données secondaires actionnable (liste « ACMG ») et portages hétérozygotes sains (liste « Kingsmore ») était proposée aux couples.

Résultat : L'analyse d'exome fœtal a été proposée dans 95 cas et a été conduite chez 20 « trio », parmi lesquelles 17 ont accepté la consultation pré-test. Les analyses étaient conduites entre 15 et 24 SA. La médiane du délai de rendu du résultat (hors données secondaires) était de 16,9 jours [7 – 33] après la consultation pré-test. 4 couples ont accepté la consultation post-test. 11 variants ont été identifiés dans autant de trio (55%), parmi lesquels 6 dans les gènes *POMT1*, *RAPSN*, *KRAS*, *ACTG2*, *COL2A1*, *COL1A1* et *CPLANE1* ont été considérés pathogènes (classe ACMG 4 ou 5) et 4 ont été classés variants de signification indéterminée bien que possiblement pathogènes (*FAT4*, *PRRX1*, *PHF8*, *MMP13*). 10 couples (50%) ont souhaité l'analyse des données secondaires.

Discussion : Le séquençage d'exome fœtal apporte une aide majeure au DPN de routine lorsqu'il est encadré au sein d'une équipe de génétique médicale. Il contribue via le partage des données secondaires au service médicale globale rendu aux patients. Les principales difficultés d'interprétation étaient liées aux phénotypes fœtaux non spécifiques où l'utilisation des critères de classification de l'ACMG doit être adaptée, ainsi qu'au manque de connaissances sur les phénotypes anténataux précoces des pathologies dont le phénotype post natal est bien décrit. Nous proposons un algorithme décisionnel intégrant le séquençage d'exome en DPN de routine permettant de minimiser ces écueils.

Pièce jointe : YvanHerenger_Assises2020_Abstract_v3.docx

CS004 : Impact de l'identification des gènes impliqués dans l'insuffisance ovarienne primitive sur le conseil génétique et la prise en charge diagnostique et thérapeutique personnalisée des patientes. A propos d'une série de 200 cas.

Auteurs :

Abdelkader Heddar (1), Sylvie Hieronimus (2), Thibaud Armand (3), Charlotte Rougier (2), Dominique Beckers (4), Mélanie Fradin (5, 6), Isabelle Cedrin-Durnerin (7), Elsa Le Boette (8), Dominique Roland (9), Linda Akloul (10), Mathilde Domin-Bernhard (11), Claire Beneteau (12), Hélène Letur (13), Laura Guyon (14), Aurore Brun (15), Axelle Cauliez (16), Sandrine Pérol (17), Anne Gompel (17), Claire Basille (18), Marie Lambert (19), Aurélia Jacquette (20), Marion Gerard (21), Stéphanie Legrand (22), Radka Stoeva (23), Laura Baudet (24), Sylvie Rossignol (25), Anais Fauconnier (26), Nathalie Guichoux (27), Anne Drutel (28), Céline Droumaguet (29), Anne-Marie Guedj (30), Bertrand Isidor (14), Brigitte Gilbert-Dussardier (15), Sandrine Frantz (31), Emmanuelle Ginglinger-Fabre (32), Aude Brac (33), Marie Laure Raffin-Sanson (34), Lionel Van Maldergem (35), Damien Sanlaville (36), Celia Ravel (37), Sylvie Odent (38), Jean-Marc Ayoubi (18), Françoise Paris (39), Samir Hamamah (40), Sophie Jonard-Catteau (41), Micheline Misrahi (1)

1. Unité de Génétique Moléculaire des Maladies Métaboliques et de la Reproduction, Hôpital Bicêtre AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre, France., Le Kremlin Bicetre, France
2. Service d'endocrinologie et médecine de la reproduction, CHU de Nice, Nice, France
3. Service de génétique, CHU de Lyon HCL, Bron, Lyon, France
4. Service d'endocrinologie pédiatrique, CHU UCL Namur, Yvoir, Belgique
5. Service de génétique clinique, CHU de Rennes, France, Rennes, France
6. Service génétique clinique, CH Saint Brieuc, Saint Brieuc, France
7. Service de Médecine de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier AP-HP, Paris, France
8. Service de génétique clinique, CH Saint Brieuc, Saint Brieuc, France
9. Centre de génétique humaine, Centre de génétique humaine, Gosselies, Belgique., Gosselies, Belgique
10. Service génétique clinique, CHU de Rennes, France, Rennes, France
11. Service de gynécologie obstétrique et reproduction humaine, CHU, Rennes., Rennes, France
12. Service de génétique médicale, CHU de Nantes., Nantes, France
13. Centre de Fertilité, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France
14. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
15. Service de génétique médicale, CHU de Poitiers, Poitiers, France
16. Service d'endocrinologie pédiatrique, CHU d'Amiens, Amiens, France
17. Unité de gynécologie endocrinienne, Hôpital Port Royal APHP, Paris, France
18. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Foch, Suresnes, Suresnes, France
19. Service de gynécologie et médecine de la reproduction, CHU de Bordeaux, France, Suresnes, France
20. Service de génétique, Hôpital d'Alençon, Alençon, France
21. Service de génétique clinique, CHU Côte de Nacre, Caen , Caen, France
22. Centre de fertilité La Rochelle, Centre de fertilité La Rochelle, La Rochelle, France
23. Laboratoire de génétique médicale et cytogénétique, CH le Mans, Le Mans, France
24. Laboratoire de génétique médicale et cytogénétique, CH le Mans, Le Mans, France
25. Service de génétique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
26. Service de PMA, CHU Nord Saint Etienne, Saint Priest en Jarez, France
27. Service de pédiatrie, Hôpital Ambroise-Paré AP-HP, Boulogne-Billancourt, France
28. Service d'endocrinologie, CHU de Limoges, Limoges, France
29. Service de médecine interne, CHU Henri Mondor, Créteil, France
30. Service d'endocrinologie et de maladie métabolique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
31. Service de gynécologie et médecine de la reproduction, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
32. Service de génétique, CH de Mulhouse, Mulhouse, France
33. Service d'endocrinologie, CHU de Lyon, Lyon, France
34. Service d'endocrinologie, Hôpital Ambroise-Paré AP-HP, Boulogne-Billancourt, France
35. Centre de génétique humaine, Université de Franche-Comté, Besançon, France
36. Service de génétique, CHU de Lyon HCL, Bron, Lyon, France
37. Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS, CHU de Rennes, France, Rennes, France
38. Service de génétique clinique, CHU de Rennes, France, Rennes, France
39. Unité d'endocrinologie pédiatrique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
40. Département de médecine de la reproduction, CHU de Montpellier, Montpellier, France
41. Service de Gynécologie Endocrinienne, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France

Mots clefs : insuffisance ovarienne primitive, panel NGS, exome, gène de méiose, gène de réparation de l'ADN, tumeur/cancer, conseil génétique, préservation de la fertilité.

Résumé :

Introduction : L'insuffisance ovarienne primitive (IOP) affecte ~1% des femmes avant 40 ans et conduit le plus souvent à une infertilité définitive. La plupart des causes sont inconnues mais des causes génétiques croissantes ont été identifiées grâce au séquençage nouvelle génération (NGS).

Patients et méthodes : 200 patientes avec IOP à caryotype 46, XX sans prémutation de *FMR1* ont été étudiées dont 145 formes sporadiques et 55 familiales. Nous avons développé un panel NGS ciblé comprenant 70 gènes impliqués dans les IOP. 30 patientes ont eu un séquençage d'exome (WES).

Résultats et discussion: Le panel NGS a retrouvé des variants pathogènes ou probablement pathogènes chez 30% des patientes. Dans 1/3 des cas, il s'agit de gènes de méiose ou de réparation de l'ADN. Le WES a permis de décrire pour la première fois le rôle de deux gènes impliqués dans la réparation d'ADN et l'anémie de Fanconi dans deux formes familiales et consanguines d'IOP isolée sans aucun antécédent de cancer. Nous avons retrouvé une mutation tronquante de *MCM8*, gène impliqué dans la recombinaison homologue, dans une forme syndromique d'IOP avec tumeurs cutanées bénignes et instabilité chromosomique. Nous avons aussi répliqué l'implication d'autres gènes de cette famille décrits dans un seul ou de rares cas comme *SPIDR*, *PSMC3IP*, *POF1B*, *MCM9*, ...

Devant des formes d'IOP apparemment isolées, nous avons identifié des mutations de gènes d'IOP syndromiques comme *PMM2* et *GALT*, impliqués dans des maladies métaboliques à révélation néonatale sévère, ou encore *FOXL2*, responsable du syndrome BPES, sans aucune anomalie ophtalmique.

Un bilan complet avec recherche de comorbidités associées a permis un conseil génétique et thérapeutique adaptés dans la famille.

L'étude génétique a pu également donner des informations sur la persistance d'une réserve ovarienne lorsqu'un défaut moléculaire d'un gène impliqué dans la croissance folliculaire a été identifié (*FSHR*, *BMP15*, *GDF9*, *AMH*, *ESR2*, *NOBOX*, *GJA4*...).

Une préservation de la fertilité chez la patiente et les porteuses asymptomatiques de la famille est alors nécessaire pour éviter l'atrésie folliculaire rapide au vu des technologies innovantes de maturation folliculaires *in vitro* en développement.

Conclusion : Notre stratégie NGS optimise le criblage moléculaire de l'IOP avec un rendement de 30% et confirme la grande hétérogénéité génétique de ce syndrome. L'étude génétique est essentielle pour 1) identifier la cause de l'IOP 2) permettre une prise en charge personnalisée et un conseil génétique adapté 3) détecter et traiter les comorbidités associées ou préserver la fertilité résiduelle en fonction du défaut génétique observé.

Le nouveau lien existant entre gènes responsables d'IOP et gènes des tumeurs/cancers rend indispensable le diagnostic génétique de toute IOP sans cause connue et modifie profondément la prise en charge de ces patientes et de leur famille. Un suivi à long terme au sein d'une équipe multidisciplinaire est nécessaire.

Pièce jointe : Heddar_al_Abstract_Assises_Génétiques_2020.docx

CS005 : Les mutations de DNAH17 causent une infertilité isolée par asthénospermie par défaut d'une dynéine axonémale spécifique du flagelle des spermatozoïdes

Auteurs :

Lucie THOMAS (1), Marjorie WHITFIELD (2), Emilie BEQUIGNON (3, 4), Alain SCHMITT (2), Laurence STOUVENEL (2), Guy MONTANTIN (5), Sylvie TISSIER (5), Philippe DUQUESNOY (1), Bruno COPIN (5), Sandra CHANTOT (5), Florence DASTOT (5), Catherine FAUCON (6), Anne Laure BARBOTIN (7), Anne LOYENS (8), Jean-Pierre SIFFROI (5, 1), Jean-François PAPON (9, 10), Estelle ESCUDIER (5, 1), Serge AMSELEM (11, 1), Valérie MITCHELL (12), Aminata TOURE (2), Marie LEGENDRE (5, 1)

1. Sorbonne Université, INSERM U933, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
2. INSERM U1016, CNRS UMR8104, Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Cochin, Paris, France
3. Université Paris-Est, Faculté de Médecine, INSERM U955, CNRS ERL7240, Hôpital Henri Mondor et Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
4. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale, Hôpital Henri Mondor et Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
5. Département de Génétique Médicale (AP-HP) , Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
6. Service d'Anatomopathologie, Laboratoire de microscopie électronique, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Paris, France
7. CHU Lille, Institut de Biologie de la Reproduction-Spermiologie-Cecos, EA4308: Gametogenesis and Gamete Quality, Université de Lille , Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
8. Jean-Pierre Aubert Research Center, Laboratory of Development and Plasticity of the Neuroendocrine Brain, INSERM U1172, Université de Lille, CHU Lille, Lille, France
9. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale (AP-HP), Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
10. Université Paris-Est, Faculté de Médecine, INSERM U955, CNRS ERL7240, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
11. Département de Génétique Médicale (AP-HP), Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
12. CHU Lille, Institut de Biologie de la Reproduction-Spermiologie-Cecos, EA4308: Gametogenesis and Gamete Quality, Université de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France

Mots clefs : DNAH17, axonème, dynéine, dyskinésie ciliaire primitive, cil, infertilité masculine, flagelle du spermatozoïde

Résumé :

Le cil mobile respiratoire et le flagelle du spermatozoïde partagent une structure axonémale conservée au cours de l'évolution. Des défauts dans leur structure et/ou leur fonction sont associés à la dyskinésie ciliaire primitive (DCP), une maladie génétique caractérisée par des infections chroniques du tractus respiratoire, pour laquelle la plupart des hommes sont infertiles en raison d'une asthénospermie.

Parmi les complexes protéiques axonémaux bien décrits, les bras de dynéines externes (BDE), via l'activité ATPasique de leurs chaînes lourdes, jouent un rôle majeur dans le battement ciliaire et flagellaire. Cependant, la contribution des différentes chaînes lourdes (type gamma : DNAH5 et DNAH8, et type beta : DNAH9, DNAH11 et DNAH17) est inconnue dans la composition des BDE issus de ces deux organelles.

L'analyse de cinq hommes avec une infertilité isolée, et présentant une perte des BDE dans le flagelle de leurs spermatozoïdes mais pas dans leurs cils respiratoires, nous a permis d'identifier des mutations bi-alléliques pathogènes de *DNAH17*.

Le phénotype d'infertilité isolée, sans atteinte respiratoire, nous a amené à comparer la composition protéique des BDE dans les axonèmes de cils et de flagelles issus d'individus contrôles. Nous avons montré que DNAH17 et DNAH8, mais pas DNAH5, DNAH9 ou DNAH11, colocalisent avec l'alpha-tubuline le long de l'axonème des spermatozoïdes, tandis que l'image opposée est observée dans les cils respiratoires, expliquant ainsi le phénotype restreint aux spermatozoïdes. Nous avons aussi démontré la perte de fonction associée aux mutations de *DNAH17* chez deux sujets sans lien de parenté, par des études d'immunomarquage sur spermatozoïdes (western blot et immunofluorescence). Ces analyses ont montré l'absence de DNAH17 et DNAH8 dans le flagelle des spermatozoïdes, contrairement à DNAH2 et DNAH11, deux composants des bras internes de dynéines, qui se sont révélés présents.

Pour conclure, cette étude démontre que les mutations de *DNAH17* sont responsables d'infertilité masculine isolée, et précise la composition des BDE dans le spermatozoïde humain et le cil respiratoire.

CS006 : Data Outside of Expected Range : Analyse d'une cause spécifique d'échec d'ADNIc et de ses conséquences obstétricales

Auteurs :

Luc DRUART (1), Laure RAYMOND (2), Francis ROUSSEAU (3), Jean François TALY (3), Sylvie TAPIA (1), Marc Nouchy (3)

1. Cytogénétique, Eurofins Biomnis, Paris, France
2. génétique moléculaire, Eurofins Biomnis, Lyon, France
3. Génétique moléculaire, Eurofins Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : ADNIc, cytogénétique, dépistage prénatal, diagnostic prénatal

Résumé :

L'analyse du caryotype fœtal est recommandée par amniocentèse en cas de double échec du dépistage de la trisomie 21 basé sur l'ADN foetal dans le sang maternel (ADNIc)(1). Avec la technique VeriSeq d'Illumina, une des causes d'échec est nommée « Data Outside of Expected Range »(DO). Elle correspond à un échec de l'analyse de données dû à une représentation anormale d'une partie du génome sur des chromosomes autres que 21, 18 et 13(2). Le logiciel VeriSeq ne précise pas quelle région chromosomique est concernée. Peu d'anomalies sont mises en évidence par le caryotype foetal et l'issue de la grossesse est le plus souvent normale mais l'identification des anomalies chromosomiques pourrait être utile au suivi obstétrical. Nous avons donc développé un logiciel spécifique à partir de plusieurs publications (3,4) pour préciser, a posteriori, qu'elles étaient les régions chromosomiques concernées. Ce logiciel recherche un déséquilibre du nombre de lectures alignées sur une fenêtre glissante de 50kb par rapport à un jeu de données de référence. Nous présentons 4 cas d'échec DO accompagnés d'anomalies fœtales ou de complications obstétricales pour lesquels des déséquilibres ont été ainsi identifiés. Dans deux cas avec RCIU et prématurité, une trisomie 16 confinée au placenta a été trouvée (5,6). Dans les deux autres cas il existait un syndrome malformatif : une anomalie compatible avec une tétrasomie 9p fœtale correspondant au syndrome polymalformatif constaté (7) et une double trisomie pour les chromosomes 3 et 7 ont été mises en évidence. Si la trisomie 3 est une anomalie rare (8), la trisomie 7 est plus fréquemment découverte en cours de grossesse et parfois associée à une autre trisomie (9). Les deux trisomies peuvent expliquer le signe majeur qui était une microcéphalie. **1.** JORF n°0294 du 20 décembre 2018 **2.** Guide du logiciel VeriSeq NIPT Solution – Illumina. <https://support.illumina.com> **3.** C. Zhao *et al.*, « Detection of Fetal Subchromosomal Abnormalities by Sequencing Circulating Cell-Free DNA from Maternal Plasma », *Clin. Chem.*, vol. 61, n° 4, p. 608-616, avr. 2015. **4.** R. Straver, *et al.*, « WISECONDOR: detection of fetal aberrations from shallow sequencing maternal plasma based on a within-sample comparison scheme », *Nucleic Acids Res.*, vol. 42, n° 5, p. e31-e31, mars 2014. **5.** Toutain Jet al (2018) Confined placental mosaicism revisited: Impact on pregnancy characteristics and outcome. *PLoS One*. 2018; 13(4): e0195905. **6.** Grati FR *et al.* Outcomes in pregnancies with a confined placental mosaicism and implications for prenatal screening using cell-free DNA. *Genetics in Medicine* (2019)) **7.** S Dhandha, *et al.* Three Cases of Tetrasomy 9p American Journal of Medical Genetics 2002 113(4):375-80 **8.** H. Kapaya , *et al.* Trisomy 3 confined placental mosaicism: A management dilemma. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2012 – 32(7):696-98 **9.** Y Qi ,*et al.* The significance of trisomy 7 mosaicism in non invasive prenatal screening. *Hum Genomics* 201913(1):18

Pièce jointe : Data Outside of Expected Range.docx

CS07 : Discrimination fonctionnelle, basée sur la tolérance à la méthylation, des variants de signification inconnue des gènes MLH1 et MSH2 : vers une utilisation en clinique pour le diagnostic du syndrome de Lynch**Auteurs :**

Delphine Bouvet (1, 2), Sahra Bodo (3), Annie MUNIER (1, 4), Erell Guillem (5, 1), romane bertrand (1, 2), Paris Elodie (5), Patrick Benusiglio (5, 1), alex duval (1, 6), Florence Coulet (5, 1), Martine MULERIS (3, 2)

1. Inserm UMR938, Centre de Recherche Saint-Antoine, Paris, France
2. , Sorbonne Université, Paris, France
3. Inserm UMR938, Centre de Recherche Saint-Antoine, paris, France
4. Plateforme de Cytométrie en Flux CISA, Sorbonne Université, Paris, France
5. UF d'Oncogénétique, Département de génétique, AP-HP, Paris, France
6. biochimie, biologie moléculaire, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : syndrome de Lynch, variant de signification inconnue

Résumé :

Le syndrome de Lynch (LS) est la première cause de forme familiale de cancer colorectal. Il est consécutif à des mutations germinales hétérozygotes affectant les gènes du système MMR (*MisMatch Repair*), *MLH1* et *MSH2* en priorité. Le diagnostic de LS repose sur la détection par séquençage de variants des gènes MMR dans l'ADN constitutionnel et l'interprétation du caractère pathogène ou bénin de tels variants. Dans 30% des cas environ, le diagnostic de LS ne peut être posé ou exclu formellement (notion de variants de signification inconnue, ou VSI) laissant ainsi les patients dans l'errance thérapeutique. Pour aider au diagnostic, un test fonctionnel simple permettant de discriminer le caractère pathogène ou non de VSI *MLH1* et *MSH2* a été récemment mis au point au laboratoire (Bouvet *et al.*, *Gastroenterology* 2019, 157, 421-431).

Ce test utilise une propriété fonctionnelle connue des cellules MMR-déficientes, à savoir leur tolérance à certaines drogues (*i.e.* agents méthylants, tolérance à la méthylation). Notre stratégie expérimentale a reposé sur la capacité de variants *MLH1* et *MSH2* à compléter la déficience MMR d'une lignée cellulaire en culture. En bref, une restauration de la sensibilité à la méthylation est attendue si le variant transfecté est non pathogène, alors qu'une conservation de la tolérance à la méthylation indique que le variant est délétère. Les tests réalisés avec une large série de VSI à caractériser, et avec des variants contrôles dont le caractère pathogène ou non est connu, seront présentés. Les résultats acquis indiquent la pertinence d'une telle approche méthodologique à visée diagnostique dans le syndrome de Lynch. Ce test devrait être prochainement disponible à l'hôpital de la Pitié Salpêtrière afin d'aider au classement des VSI *MLH1* et *MSH2* discutés au niveau du réseau national.

Pièce jointe : résumé assises 18-10-19.docx

CS08 : Mutations TP53 de faible fréquence allélique : peut-on s'affranchir de la biopsie pour différencier une mosaïque d'une hématopoïèse clonale ?**Auteurs :**

Alice Fiévet (1), Odile Cabaret (1), Marine Guillaud-Bataille (1), Brigitte Bressac de Paillerets (1), Voreak Suybeng (1), Christine Bombled (1), Johnny Bombled (1), Jean-Marc Limacher (2), Hélène Schuster (3), Jean Chiesa (4), Stéphanie Baert-Desurmont (5), Gaëlle Bougeard-Denoyelle (5), Thierry Frebourg (5), Cyril Gella (1), Odile Leopold (1), Sophie Cotteret (1), Ludovic Lacroix (1), Olivier Caron (6), Christophe Marzac (1), Etienne Rouleau (1)

1. Service Génétique des Tumeurs, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Service d'Oncologie-Hématologie, Hôpital Pasteur, Colmar, France
3. Service d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
4. Service de Cytogénétique et Génétique Médicale, Hôpital Caremeau, Nîmes, France
5. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Département de Médecine Oncologique, Gustave Roussy, Villejuif, France

Mots clefs : TP53, mosaïque, CHIP, Hématopoïèse clonale, NGS

Résumé :

Le diagnostic moléculaire des maladies génétiques s'effectue la plupart du temps par l'analyse de l'ADN extrait de sang total. Le séquençage haut-débit d'un panel de gènes prédisposant aux cancers met régulièrement en évidence des variants avec une faible fréquence allélique (FA), en particulier sur le gène *TP53*. Ces variants peuvent correspondre à une mosaïque constitutionnelle (MC), responsable d'un phénotype atténué ou refléter la présence d'une Hématopoïèse Clonale de Potentiel Indéterminé (CHIP), en particulier si le patient est âgé ou a été traité par radio-chimiothérapie. Ces variants peuvent avoir un rôle direct dans l'émergence du clone ou être simplement des variants passagers acquis sur d'autres gènes.

Afin d'établir l'origine des variants *TP53* à faible FA (n=11 ; 10 à 39%), nous avons combiné une stratégie d'analyse de ces variants en NGS dans le tissu tumoral (n=7, Sanger : n=1), le tissu sain adjacent (n=4, Sanger : n=2) et la fraction myéloïde (n=4). Nous avons réalisé un panel de gènes impliqués dans les hémopathies myéloïdes sur l'ADN extrait des cellules sanguines après un tri cellulaire CD3+/CD3-, afin de discerner le génotype de la fraction myéloïde (CD3-) de celui des lymphocytes T (CD3+). Des analyses sont en cours pour 6 patients.

Dans 3 cas, l'analyse tumorale retrouvait le variant recherché, avec une FA augmentée par rapport au sang : nous avons conclu à une MC. L'analyse du tissu sain retrouvait le variant mais sans augmentation de la FA par rapport au sang. Dans 5 cas, l'absence du variant dans la tumeur orientait vers une CHIP. L'étude des fractions CD3+ et CD3- a permis de montrer que la FA des variants des MC était similaire dans les deux fractions, confirmant l'origine embryonnaire précoce de l'apparition du variant. En revanche, dans les CHIP, ces variants étaient présents dans la fraction myéloïde (CD3-), avec une FA similaire au sang total, et quasiment absents des lymphocytes T, confirmant l'apparition tardive du variant, au cours de l'hématopoïèse. L'analyse en panel de la fraction myéloïde permet également l'identification de variants dans d'autres gènes impliqués en hématologie tel que *DNMT3A*, confortant le diagnostic.

Ainsi nous avons démontré la possibilité de différencier une MC d'une CHIP par une stratégie combinant l'analyse moléculaire de la tumeur et des fractions CD3+ et CD3-. Le tri sélectif des fractions présente de nombreux avantages comme l'absence de prélèvement invasif de tissu sain et l'accès à de l'ADN de bonne qualité contrairement aux tissus tumoraux fixés. Les CHIP sont fréquentes et non détectables par une numération formule sanguine, or il s'agit d'un facteur de risque de myélodysplasie, particulièrement en post radio-chimiothérapie. Il est donc important d'établir un protocole de confirmation afin d'adapter le conseil génétique et la surveillance de ces patients. Ces travaux montrent l'importance de combiner les activités constitutionnelles avec des analyses tumorales et hématologiques.

Pièce jointe : Résumé_CHIP_Assises2020_final.docx

CS09 : Challenges, limites et apport du WES en oncogénétique constitutionnelle

Auteurs :

Isabelle Tournier (1), Maud Blanluet (1), Edwige Kasper (1), Françoise Charbonnier (1), Camille Le Clezio (1), Celine Derambure (2), Sophie Coutant (1), Jacqueline Bou (1), Maud Branchaud (3), Alice Goldenberg (1), Jean-François Deleuze (4), Anne Boland (4), Emmanuelle Genin (5), Gaëlle Bougeard-Denoyelle (6), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Claude Houdayer (1), Thierry Frebourg (6)

1. Département de Génétique et Inserm U1245, UNIROUEN, CHU de Rouen et Inserm, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Département de Génétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CHU de Rouen et Inserm, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
3. Département de Génétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
4. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Institut de Génomique, CEA, Evry, France
5. Inserm UMR-1078, CHRU Brest, Univ. Brest, Brest, France
6. Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : Exome, oncogénétique, variant rare, enrichissement, réparation de l'ADN, cancer colorectal, phénotype extrême

Résumé :

Comme l'illustre le différentiel entre le nombre d'articles rapportant l'identification, par séquençage d'exomes (WES), de gènes impliqués dans les formes héréditaires de cancer et les anomalies du développement, le WES a en oncogénétique constitutionnelle une valeur additionnelle limitée. Nous rapportons ici notre expérience. Nous avons dans un premier temps évalué l'apport du WES dans les cancers de l'adulte jeune, sans altération détectable dans les gènes analysés au titre du diagnostic et avons étudié, comme paradigme, le cancer colorectal (CCR). Le WES a été réalisé chez 93 patients atteints de CCR avant 32 ans, de présentation sporadique pour la plupart. L'analyse a été focalisée sur un panel de 296 gènes impliqués dans l'oncogenèse constitutionnelle ou somatique et/ou dans la réparation de l'ADN. Nous n'avons retenu que les variants rares (fréquence allélique < 1 %), perte de fonction (LOF) ou faux-sens prédits délétères. Parmi les 221 variants identifiés, nous n'avons identifié que 4 variants LOF dans les gènes *BRCA2*, *FANCA* et *FANCD2* impliqués dans la voie ICL (*Interstrand crosslinks*). En l'absence de causalité évidente, nous avons analysé pour rechercher un enrichissement par rapport à une population contrôle les 296 gènes chez 567 témoins FREX (*French Exome Project*). L'analyse statistique, réalisée avec le Burden test (SeqMeta), a mis en évidence pour les variants rares de fréquence allélique < 0.1% de la voie ICL, un odds ratio de 5,9 mais le p (0.01) était bien supérieur au p significatif, après correction de Bonferroni sur l'exome ou les 296 gènes ($2,5 \times 10^{-6}$ et $1,7 \times 10^{-4}$). Chez les patients atteints de CCR avec variations des gènes de la voie ICL, des variations d'autres gènes de réparation ont été identifiées, suggérant un oligogénisme. Nous avons alors opté pour une stratégie rapide de WES plus sélective, en nous focalisant sur des phénotypes extrêmes de cancer sans étiologie génétique établie: (i) forme néonatale ou cancer « de l'adulte » chez l'enfant ; (ii) cancers primitifs multiples avant 31 ans ; (iii) association à des éléments syndromiques ou (iv) tumeurs très rares. Les scripts de filtration incluent la localisation (-20 /+6 par rapport aux exons), un GQ score > 89, une fréquence allélique < 1% et la localisation des variants dans 141 gènes clefs de l'oncogenèse. Leur analyse intègre ClinVar, OMIM, leur type (LOF ou faux-sens prédits délétères) et la confrontation au phénotype après RCP et nouveau bilan clinique et para-clinique, si nécessaire. Cette stratégie a déjà permis d'élargir le phénotype associé à des variants touchant des gènes OMIM et révélé que des phénotypes complexes pouvaient résulter de la combinaison de plusieurs variants délétères. Ces travaux montrent qu'en oncogénétique, le WES constitutionnel a sans doute un intérêt limité chez les patients adultes présentant un cancer précoce, mais qu'il doit être intégré à la pratique diagnostique pour des cas très sélectionnés sur l'âge et le phénotype associé.

CS10 : Approche combinatoire pour le classement des variants des gènes BRCA1 et BRCA2**Auteurs :**

Sandrine CAPUTO (1, 2), Nadia Boutry-Kryza (3), Laurent Castera (4), Marine GUILLAUD-BATAILLE (5), Mélanie Leone (3), Audrey Remenieras (6), Françoise Revillion (7), Etienne Rouleau (1), NOémie Basset (8), Claude Houdayer (1), Catherine Nogues (9), Dominique Stoppa-Lyonnet (1), Genetic Group Splice UNICANCER (10), Genetic Group UNICANCER (11), Genetic Group Interpretation UNICANCER (1)

1. Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. , Université Paris Sciences-Lettres, Paris, France
3. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Laboratoire de biologie et de génétique du cancer et INSERM 1079 Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CLCC François Baclesse, Caen, France
5. , Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
6. , Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
7. , Centre Oscar Lambret, Lille, France
8. Génétique, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière, Paris, France
9. Génétique, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
10. Génétique, Institut Curie, PARIS, France
11. , Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : BRCA1, BRCA2, Variant de signification inconnue, épissage, test fonctionnel, co-segregation

Résumé :

A l'heure du séquençage de masse et de l'abondance de données, se pose encore plus la question de l'interprétation des variants de signification inconnue. Bien que différents outils *in silico*, basés sur la conservation, les différences physico-chimiques des acides aminés ou bien l'épissage, existent, aujourd'hui, ils ne permettent pas de classer correctement et avec confiance des variants pour une utilisation en diagnostic. Afin de répondre à cette problématique des variants, nous développons différents outils pour essayer d'y répondre. En France, nous avons l'avantage de travailler en réseau notamment pour les cancers héréditaires dans le cadre du Groupe Génétique et Cancer : <http://www.unicancer.fr/recherche/les-groupes-recherche/groupe-genetique-et-cancer-ggc>, ce qui nous a permis de mettre en place des bases de données, notamment pour les gènes *BRCA1/2* depuis 1995 (Caputo et al., 2012) (Présentation de Laurent Castera). L'exploitation de ces bases de données permet d'adopter une stratégie optimisée pour le classement de ces variants de signification inconnue. Aujourd'hui, l'étude des conséquences des variations nucléotidiques nécessite donc la combinaison de différentes approches (co-ségrégation, co-occurrence avec une mutation délétère, histoire familiale, stabilité et qualité de l'ARN messager, conservation des acides aminés, impact structurale de la mutation, études fonctionnelles, perte de l'hétérozygotie dans les tumeurs (LOH)) et l'utilisation des modèles de risque multifactoriels (Rouleau et al., 2010; Houdayer et al., 2012; Dos Santos et al., 2017; Caputo et al., 2018; Leman et al., 2018; Petitalot et al., 2018). Nous avons donc adopté une approche combinatoire pour répondre à la question des variants de signification inconnue des gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

Pièce jointe : Evolution des chiffres_BRCA_191017.ppt

CS11 : Évaluation de l'incidence des lésions coliques chez les patients âgés de moins de 50 ans suivis pour un Syndrome de Lynch au sein du réseau PRED-IdF.**Auteurs :**

Elise Coffin (1), Céline Lecal (2), Enrique Perez (1), Elia Samaha (3), Jeanne Netter-Coti (4), Chrystelle Colas (5), Bruno Buecher (5), Olivier Caron (6), Jérôme Bellanger (7), Veronica Cusin (8), David Malka (6), Yann Parc (9), Xavier Dray (7), Robert Benamouzig (10), Gabriel Rahmi (1), Stanislas Chaussade (11), Pierre Laurent Puig (12), Guillaume Perrod (1), Christophe Cellier (1)

1. Hépatogastro-entérologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
2. Hépatogastro-entérologie, Avicenne, PARIS, France
3. Hépatogastro-entérologie, Hôtel Dieu de France, Beirut, Liban
4. Hépatogastro-entérologie, Tenon, PARIS, France
5. Génétique, Institut Curie, PARIS, France
6. Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
7. Hépatogastro-entérologie, Saint Antoine, PARIS, France
8. Hépatogastro-entérologie, La Pitié Salpêtrière, PARIS, France
9. Chirurgie Digestive, Saint Antoine, PARIS, France
10. Hépatogastro-entérologie, Avicenne, Bobigny, France
11. Hépatogastro-entérologie, Cochin, PARIS, France
12. Anatomopathologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France

Mots clefs : Syndrome de Lynch, HNPCC, MSH6, adénome, adénome festonné, cancer colorectal

Résumé :**Introduction :**

Le Syndrome de Lynch est responsable d'environ 3% des cancers colorectaux (CCR). Il est lié à la mutation d'un des gènes du système de réparation des mésappariements de l'ADN : MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, et EPCAM. Le risque cumulé de CCR diffère selon la mutation, avec un risque moindre chez les patients MSH6. Il existe peu de données concernant la survenue des lésions coliques selon les différentes mutations à un âge jeune. L'objectif de cette étude était de déterminer l'incidence des lésions coliques chez les patients suivis pour syndrome de Lynch âgés de moins de 50 ans.

Patients et Méthode :

Il s'agit d'une étude rétro-prospective, multicentrique, réalisée au sein du réseau PRED-IdF. Ont été inclus les patients avec une mutation identifiée ayant réalisé au moins une coloscopie avant l'âge de 50 ans. Le critère de jugement principal était l'incidence des lésions coliques : adénomes, adénomes festonnés, et CCR. Les données cliniques, endoscopiques et histologiques ont été collectées.

Résultats :

708 patients (âge médian : 35 [15-50] ans; sexe ratio : 0,7, durée médiane de suivi 55 [0-340] mois) ont été inclus, les données de 2429 coloscopies analysées. La répartition des mutations était la suivante : MLH1 : 237 (33,5%), MSH2 : 323 (45,6%), MSH6 : 108 (15,3%), PMS2 : 30 (4,2%) et EPCAM : 10 (1,4%). 375 (53,0%) patients ont présenté au moins une lésion colique, 268 (37,9%) au moins un adénome, 47 (6,6%) au moins un adénome festonné et 162 (22,9%) au moins un CCR. L'incidence cumulée des lésions coliques était respectivement de 57,0% ; 51,7 % ; 48,1% ; 50,0% ; 60,0% pour les mutations MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 et EPCAM. L'âge médian de survenue d'une lésion colique était respectivement de 37 [19-58], 37 [16-60], 40 [27-53], 38 [29-46] et 35 [26-42] ans pour chacune des mutations. Pour les mutations MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2, 58 (43%) %, 73 (44%), 13 (25%), 3 (20%) des lésions coliques ont été détectées avant 35 ans, $p=0,184$. Chez les patients MSH6, l'âge de survenue de la première lésion colique était significativement plus élevé que pour les autres mutations ($p=0,031$) (Figure 1). Chez ces patients, la répartition des lésions coliques avant l'âge de 35 ans était la suivante : 7 adénomes dont 1 avancé, 1 adénome festonné et 5 CCR. L'âge HR : 1,038 [IC 95 : 1,026-1,116], le sexe masculin HR : 1,460 [IC 95 : 1,017-1,061], et le tabac HR : 1,672 [IC 95 : 1,252-2,233] étaient des facteurs de risque indépendants de survenue de lésion colique.

Conclusion :

Dans cette étude réalisée au sein de la plus importante cohorte Française de patients suivis pour syndrome de Lynch, nous avons confirmé que la mutation MSH6 était associée au développement de lésion colique à un âge plus tardif. Cependant, nos résultats vont à l'encontre des recommandations Européennes qui préconisent un dépistage colique à partir de l'âge de 35 ans. Chez ces patients, l'établissement d'un score de survenue de lésion colique pourrait permettre de proposer un dépistage personnalisé.

Pièce jointe : Figure 1 assise génétique.png

CS12 : Performance des scores de risque polygéniques pour le cancer du sein chez les femmes à haut risque porteuses et non porteuses d'une mutation de BRCA1 ou BRCA2**Auteurs :**

Yue Jiao (1), Juliette Coignard (1), Mojgan Karimi (2), Christine Lonjou (1), Séverine Eon-Marchais (1), Marie-Gabrielle Dondon (1), Noura Mebirouk (1), Dorothée Le Gal (1), Juana Beauvallet (1), Edith Le Floch (3), Claire Dandine-Roulland (3), Anne Boland-Auge (3), Jean-François Deleuze (3), Pascal Guénel (2), Dominique Stoppa-Lyonnet (4), Thérèse Truong (2), Nadine Andrieu (1), Fabienne Lesueur (1)

1. Inserm U900, Institut Curie, Mines ParisTech, PSL University, Paris, France
2. Inserm U1018, CESP, Université Paris-Saclay, Université Paris-Sud, Villejuif, France
3. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Département de l'Institut de Biologie François Jacob, CEA, Evry, France
4. Service de Génétique, Inserm U830, Université Paris Descartes, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : cancer du sein, prédisposition génétique, BRCA1, BRCA2, SNPs, score de risque polygénique, prédiction du risque

Résumé :

Les études pangénomiques menées par le *Breast Cancer Association Consortium* (BCAC) ont identifié des SNPs situés dans environ 170 régions du génome associés au risque de cancer du sein (CS). L'effet de ces SNPs est faible – au plus associé à des risques relatifs de l'ordre de 1,2 – mais leur effet combiné exprimé en score de risque polygénique (PRS) améliore sensiblement le pouvoir prédictif des modèles développés en population générale. Une partie de ces SNPs modifie aussi le risque de CS des femmes portant une mutation de *BRCA1* ou *BRCA2* (*BRCA1/2*). Cependant, le pouvoir prédictif des PRS construits à partir de données internationales hétérogènes, sur des populations à risque élevé de cancer, qu'elles soient porteuses ou non porteuses d'une mutation de *BRCA1/2*, est à démontrer.

Notre objectif est d'évaluer la performance des PRS publiés (Michailidou *et al.* 2017, Milne *et al.* 2017, Mavaddat *et al.* 2019) dans une population spécifique de femmes vivant en France, ayant eu recours à une consultation d'oncogénétique et ayant bénéficié d'un test génétique *BRCA1/2*.

Nos travaux s'appuient sur les données de trois études : GEMO, qui inclut des porteuses d'une mutation de *BRCA1/2*, atteintes et non atteintes de cancer, GENESIS, qui inclut des femmes atteintes de CS, non porteuses d'une mutation *BRCA1/2* et ayant une sœur également atteinte de CS ainsi que des témoins de population, et CECILE, une étude cas-témoins menée en population générale. Au total, 6271 femmes ont été génotypées avec la puce iCOGS (Illumina) ciblant plus de 220 000 SNPs (1700 porteuses *BRCA1/2* de GEMO, 2553 femmes de GENESIS et 2018 femmes de CECILE). Les SNPs des PRS non génotypés ont été imputés avec le logiciel IMPUTE2 en utilisant le panel de référence de 1000Genomes. La performance de deux PRS publiés, construits respectivement à partir de 179 SNPs et 313 SNPs et des Odds Ratio (OR) estimés à partir des données de BCAC sera évaluée dans GEMO et GENESIS.

Bien que CECILE ait contribué à la découverte des 170 régions et donc à la construction des PRS publiés, leur performance y sera testée pour vérifier leur pouvoir prédictif sur une population générale plus homogène. Les données de génotypage de CECILE serviront également à ré-estimer les ORs associés aux 179 et 313 SNPs. Le génotypage de 2500 participantes supplémentaires de GEMO et de la totalité de l'étude CECILE est en cours avec la puce OncoArray (Illumina) ciblant environ 530 000 SNPs. Les nouvelles données génotypiques de CECILE permettront de rechercher de nouveaux SNPs associés au CS et d'évaluer si des PRS spécifiques permettent de mieux discriminer les populations de GEMO et GENESIS.

Ces travaux permettront d'évaluer la pertinence de tester un même PRS ou des PRS spécifiques dans des populations différentes quant à leur risque *a priori* de développer un CS. Ils permettront d'avoir de meilleures estimations individuelles des risques de cancer et ainsi d'améliorer la prise en charge des femmes à risque.

Pièce jointe : Abstract_Assises_PRS_Lesueur.pdf

CS13 : Mutations de POLR1B et anomalies des cellules de la crête neurale dans le syndrome de Treacher Collins de type 4

Auteurs :

Elodie Sanchez (1, 2), Béril Laplace-Builhé (2), Frédéric Tran Mau-Them (3, 4), Eric Richard (5), Alice Goldenberg (6), Tomi L Toler (7), Thomas Guignard (8), Vincent Gatinois (8), Marie Vincent (9), Catherine Blanchet (10), Anne Boland (11), Marie-Thérèse Bihoreau (11), Jean-François Deleuze (11), Robert Olasso (11), Walton Nephi (7), Hermann-Josef Lüdecke (12), Joke BGM Verheij (13), Florence Moreau-Lenoir (14), Françoise Denoyelle (15), Jean-Baptiste Rivière (16), Jean-Louis Laplanche (17), Marcia Willing (7), Guillaume Captier (18), Florence Apparailly (2), Dagmar Wiczorek (12), Corinne Collet (17), Farida Djouad (2), David Geneviève (1, 2)

1. Génétique Clinique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. IRMB-UMR1183, CHU de Montpellier / INSERM / Université de Montpellier, Montpellier, France
3. Unité Fonctionnelle d'Innovation diagnostique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
4. Inserm UMR1231, Université de Bourgogne, Dijon, France
5. Inserm U1194, IRCM / Université de Montpellier, Montpellier, France
6. Inserm U1245, CHU de Rouen / INSERM, Rouen, France
7. Division of Genetics & Genomic Medicine, Washington University School of Medicine, Saint-Louis, Etats-Unis
8. Unité de Génétique Chromosomique, Plateforme ChromoStem, CHU de Montpellier, Montpellier, France
9. Génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
10. ORL, CHU de Montpellier, Montpellier, France
11. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, Evry, France
12. Institute of Human Genetics, Medical Faculty, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Allemagne
13. Medical Genetics, University Medical Centre Groningen, University of Groningen, Groningen, Pays-Bas
14. ORL, CH d'Evreux, Evreux, France
15. ORL pédiatrique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, APHP et Université Paris Descartes, Paris, France
16. Génétique Moléculaire, Plateau technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
17. Biochimie et Biologie Moléculaire - UF de Génétique Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
18. Chirurgie plastique infantile, CHU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Treacher Collins/Franceschetti, POLR1B, apoptose, cellules de la crête neurale, p53, zebrafish

Résumé :

Titre: Mutations de *POLR1B* et anomalies des cellules de la crête neurale dans le syndrome de Treacher Collins de type 4

Objet : Le syndrome de Treacher Collins (STC) est une dysostose mandibulofaciale autosomique dominante rare, dont la prévalence est de 0,2-1/10 000. Le STC est caractérisé par une hypoplasie malaire et mandibulaire bilatérale et symétrique et des variations morphologiques faciales dues à une migration et à une différenciation anormale des cellules de la crête neurale (CCN). A ce jour, 3 gènes ont été identifiés : *TCOF1*, *POLR1C* et *POLR1D*. Malgré un grand nombre de patients avec un diagnostic moléculaire, certains restent sans anomalie génétique connue.

Méthodes : Nous avons effectué le séquençage de l'exome de 4 individus atteints du STC, négatifs pour des variants pathogènes dans les gènes responsables connus. L'effet des variants pathogènes a été étudié chez le zebrafish.

Résultats : Nous avons identifié 3 nouveaux variants pathogènes dans le gène *POLR1B*. Le knockdown de *polr1b* chez le zebrafish induit un phénotype crâniofacial anormal imitant le STC, associé à une altération de l'expression de l'ARN ribosomique, à une apoptose cellulaire massive due à une surexpression de p53 dans le neuro-épithélium et à une réduction du nombre de dérivés des CCN.

Conclusion : Les variants pathogènes de la sous-unité POLR1B de l'ARN polymérase I induit une apoptose massive p53-dépendante dans une zone neuro-épithéliale restreinte, modifiant la migration des CCN et provoquant des malformations cranio-squelettiques. Nous identifions *POLR1B* comme un nouveau gène causal responsable d'un nouveau type de STC (STC4) et établissons un nouveau modèle expérimental chez le zebrafish pour étudier le STC lié à POLR1B.

Pièce jointe : Résumé Assises de Génétique 2020.docx

CS14 : Etiologie du spectre Oculo-Auriculo-Vertebral : nouveaux gènes candidats identifiés

Auteurs :

CAROLINE ROORYCK THAMBO (1), CAROLINE ROORYCK THAMBO (1), Angèle Tingaud-Sequeira (1), Aurélien Trimouille (1), Marie Berenguer (1), Benoît Arveiler (1), Sandrine Marlin (2), Didier Lacombe (1)

1. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, Service de génétique médicale, Université de Bordeaux; CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Génétique Médicale, Centre de référence des surdités congénitales. Hôpital Necker, Paris, France

Mots clefs : Goldenhar, OAVS, MYT1, ZYG11B, acide rétinoïque

Résumé :

Le Spectre Oculo-Auriculo-Vertebral (OAVS) ou Syndrome de Goldenhar est une anomalie du développement embryonnaire caractérisée par une microsomie hémifaciale associée à des malformations auriculaires, oculaires et vertébrales. Depuis 10 ans, grâce à des collaborations nationales et internationales, nous avons constitué la plus grande cohorte d'OAVS décrite à ce jour, avec près de 350 patients. Cependant, l'hétérogénéité clinique et génétique de ce spectre avec une pénétrance incomplète et une expressivité variable, rendent son diagnostic moléculaire complexe. Ainsi, nous avons identifié le premier gène associé à l'OAVS, *MYT1*, avec des variants chez moins de 2 % de nos patients. L'étude d'autres exomes et génomes nous a permis d'identifier de nouveaux gènes candidats dont le gène *ZYG11B*, codant pour une protéine associée à l'ubiquitine ligase E2, ayant un rôle dans la dégradation de substrats par le protéasome. Des expériences de knock-down de *zyg11* chez le modèle poisson zèbre montrent un effet délétère spécifique sur le développement des cartilages craniofaciaux, ainsi qu'un phénotype d'ondulation de la notochorde proximale pouvant correspondre aux anomalies vertébrales observées dans l'OAVS. Nous avons également mis en évidence une amplification anormale d'alanines dans un autre gène, *ZIC3*, associée à une microtie unilatérale et microsomie hémifaciale chez 8 garçons d'une grande famille danoise. Ce gène est déjà connu comme étant impliqué dans les hétérotaxies et cardiopathies, et joue un rôle dans la détermination de l'axe gauche-droite. Cette fonction biologique pourrait expliquer le caractère unilatéral des atteintes craniofaciales dans cette famille et dans l'OAVS. Nous avons également identifié un variant faux-sens récurrent dans le gène *EYA3* chez deux familles non apparentées. Nous avons aussi induit des anomalies craniofaciales spécifiques chez les embryons de poisson zèbre, après inhibition de l'homologue *eya3* par morpholinos, avec un phénotype comparable avec les modèles animaux précédents. Des études protéomiques sur modèles cellulaires mutés sur *EYA3* montrent notamment une dérégulation de la voie de réparation à l'ADN, de la voie de phosphorylation oxydative, de la voie de polyubiquitination des protéines ainsi qu'une activation de la voie de l'acide rétinoïque. Une autre approche par des expériences d'exposition toxique *in utero* d'embryons de souris à l'acide rétinoïque, à un stade de développement donné, nous a permis de mettre en évidence d'autres gènes candidats impliqués dans les malformations craniofaciales, dont certains étaient déjà connus comme associés à des phénocopies de l'OAVS. Ces différentes approches combinant les études multi-omiques et environnementales sont nécessaires pour décrypter les bases étiologiques de cette maladie complexe.

CS15 : Le syndrome TRAF7 à partir d'une série de 41 patients

Auteurs :

Christopher T Gordon (1), Jeanne Amiel (2), Bernardo Blanco-Sanchez (3), Laura Castilla-Vallmanya (4), Clémantine Dimartino (3), Christine Bole-Feyssot (5), Patrick Nitschké (6), Margo Reijnders (7), Ton Van Essen (8), Kaja Selmer (9), Gunnar Houge (10), Helen Cox (11), Helen Kingston (12), Jill Clayton-Smith (13), Jeffrey Innis (14), Wendy Chung (15), Vicki Sanders (16), Christel Thauvin (17), Laurence Faivre (17), Gaetan Lesca (18), Damien Sanlaville (18), Katherine Christensen (19), Rachel Gannaway (20), Anna Lehman (21), Luitgard Graul-Neumann (22), Christiane Zweier (23), bernarda Lozic (24), Ryan Peretz (25), Joanna Meira (26), Anna Cereda (27), Thomas Smol (28), Anne Dieux-Coëslier (29), Valérie Cormier-Daire (30), Arnold Munnich (31), Tiong Tan (32), Stanislas Lyonnet (3), Daniel Grinberg (33), Roser Urreizti (33)

1. Embryology and genetics of malformations, INSERM, UMR 1163 et Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Imagine, paris, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, paris, France
3. Embryology and genetics of malformations, INSERM, UMR 1163 et Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Imagine, Paris, France
4. Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, Espagne
5. Plateforme de génomique, Imagine, Paris, France
6. Plateforme de bioinformatique, Imagine, Paris, France
7. Department of Human Genetics, Radboud University Medical Center, Nijmegen, Pays-Bas
8. Department of Genetics, University, Medical Centre Groningen, Groningen, Pays-Bas
9. Department of Medical Genetics, Oslo University Hospital, Oslo, Norvège
10. Department of Medical Genetics, Haukeland University Hospital, Bergen, Norvège
11. West Midlands Regional Clinical Genetics Service, Birmingham Women's and Children's NHS Foundation Trust, Birmingham, Royaume Uni
12. Manchester Centre for Genomic Medicine, Manchester University Hospitals and Academic Health Sciences Centre, Manchester, Royaume Uni
13. Department of Medical Genetics, Manchester University Hospitals and Academic Health Sciences Centre, Manchester, Royaume Uni
14. Department of Pediatrics and Communicable Diseases, University of Michigan, Ann Arbor, Etats-Unis
15. Department of Pediatrics, Division of Clinical Genetics, Columbia University, Columbia, Etats-Unis
16. Division of Genetics, Birth Defects and Metabolism, Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital, Chicago, Etats-Unis
17. Service de Génétique, CHU de Dijon Bourgogne, Dijon, France
18. Department of Genetics, Lyon University Hospital, Lyon, France
19. Division of Medical Genetics, Saint Louis University School of Medicine, Saint Louis, Etats-Unis
20. Department of Human and Molecular Genetics, Virginia Commonwealth University, Richmond, Etats-Unis
21. Department of Medical Genetics, , , Canada, The University of British Columbia, Vancouver, Canada
22. Institute of Human Genetics, Charité Universitätsmedizin, Berlin, Allemagne
23. Institute of Human Genetics, Friedrich-Alexander-University Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Allemagne
24. Department of Pediatrics, University Hospital Centre Split, Split, Croatie
25. Genetics department, Driscoll Children's Hospital, Driscoll, Etats-Unis
26. University Hospital Professor Edgard Santos, Federal University of Bahia, Bahia, Brésil
27. Department of Pediatrics, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Italie
28. Institut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
29. Service de Génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
30. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
31. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
32. Victorian Clinical Genetics Services, Murdoch Children's Research Institute, Melbourne, Australie
33. Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia, Barcelona, Espagne

Mots clefs : Malformation, tumeur, développement

Résumé :

La famille TRAF (Tumor necrosis factor Receptor-Associated Factor) est impliquée dans un large éventail de fonctions biologiques. TRAF7 est le seul de cette famille à posséder des domaines WD40 en C-terminal remplaçant le domaine TRAF. TRAF7 interagit avec MEKK3 via les domaines WD40, c-Myb et ROBO4, module de nombreuses voies de signalisation dont la voie NF- κ B.

Des mutations faux sens hétérozygotes *de novo* TRAF7 ont été rapportées chez 7 patients, associant un retard de développement, des malformations congénitales et des particularités morphologiques. Nous avons collecté une série de 41 patients (dont un cas familial) par WES, séquençage direct et une collaboration internationale via GeneMatcher présentant des mutations faux-sens hétérozygotes dans les répétitions WD40. Il s'agit d'un syndrome polymalformatif cliniquement reconnaissable avec déficience intellectuelle de sévérité variable et vieillissement précoce. Le morphotype associe blépharophimosis avec ou sans télécanthus, hypertélorisme et ptosis, dysplasie des oreilles, nez large, microrétrognathie, anomalie de la forme du crâne et du palais, cou court, épaules tombantes, pectus carinatum petite taille et macrocéphalie relative. Les malformations fréquentes sont cardiaques (persistance du canal artériel le plus souvent, malformations septales et valvulaires), costo-vertébrales (avec risque de scoliose et canal médullaire étroit), et des extrémités (déviations des doigts et orteils, campto, brachy et syndactylies). Les difficultés alimentaires sont fréquentes ainsi que l'hypocousie et les anomalies de réfraction.

Des mutations somatiques de TRAF7 sont identifiées dans différentes tumeurs en particulier le méningiome. Le regroupement dans le domaine WD40 des mutations germinales et somatiques, exclusivement faux sens et dont certaines sont récurrentes, suggère un gain de fonction ou un effet dominant négatif. L'absence de chevauchement entre les catalogues de mutations germinales et somatiques suggère un effet seuil qui reste à démontrer. Le risque des patients présentant une mutation germinale de développer un méningiome reste à déterminer. Une étude du transcriptome de fibroblastes de 3 patients et de témoins avec ou sans stimulation par le TNF α a identifié des gènes différenciellement exprimés

dans les voies Wnt et Notch, ouvrant des hypothèses physiopathologiques intéressantes. Des modèles animaux sont en cours de développement.

CS16 : Les mutations du gène *RIMS2* sont responsables d'une maladie de la transmission synaptique rétinienne associée à des troubles autistiques et pancréatiques.

Auteurs :

Sabrina Méchaussier (1), Basamat Almoallem (2), Kristof Van Schil (2), Jo Van Dorpe (2), Michel Polak (3), Nathalie Boddaert (4), Nadia Bahi-Buisson (5), Alexandra Mouallem-Beziere (6), Olivier Pellé (7), Christina Zeitz (8), Isabelle Audo (9), Josseline Kaplan (10), Jean-Michel Rozet (10), Elfride De Baere (11), Isabelle Perrault (12)

1. LGO Inserm U1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Centre de Génétique Médicale, Université de Gand, Gand, Belgique
3. Département d'Endocrinologie, de Gynécologie et de Diabétologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Département de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Département de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Département d'Ophtalmologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
7. Plateforme de Tri Cellulaire, Institut Imagine, Paris, France
8. Département de Génétique, Institut de la Vision, Paris, France
9. Ophtalmologie, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Paris, France
10. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique, Institut Imagine, Paris, France
11. Département de Génétique, Université de Gand, Gand, Belgique
12. LGO Inserm U1163, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : *RIMS2*, maladie de la transmission synaptique rétinienne syndromique, troubles autistiques, diabète

Résumé :

Introduction. La transmission de l'information visuelle des photorécepteurs aux cellules ganglionnaires du nerf optique implique une variété de neurones intermédiaires, parmi lesquels les cellules bipolaires. Les anomalies de transmission pré- et post-synaptique entre photorécepteurs et bipolaires sont à l'origine des cécités nocturnes congénitales stationnaires (CSNB). Cette terminologie est toutefois mieux adaptée aux maladies post-synaptiques, les atteintes pré-synaptiques étant volontiers caractérisées par un nystagmus congénital et une photophobie, sans cécité nocturne. Cette dernière présentation connue sous le nom de *cone-rod synaptic disorder* (CRSD) rappelle celle de l'amaurose congénitale de Leber (ACL), la dystrophie rétinienne la plus sévère et précoce et une cause majeure de cécité de l'enfant. L'électrorétinographie est déterminante pour l'établissement du diagnostic différentiel mais cet examen peut être difficile à réaliser chez le jeune enfant. Ici, nous rapportons, (i) l'identification de mutations récessives du gène *RIMS2* codant une protéine pré-synaptique non encore associée à une maladie humaine dans trois familles adressées initialement pour ACL et (ii) le redressement diagnostique en CRSD avec trouble du spectre autistique et insulinopathie.

Matériel et méthodes. Un WES a été réalisé en trio pour un cas sporadique né de parents non consanguins et deux familles multiplexes et consanguines. Les patients ($n = 6$; $1 \leq \text{âge} \leq 32$ ans) ont été réexaminés à l'issue de l'étude moléculaire sur le plan ophtalmologique, neurologique et métabolique.

Résultats: L'analyse des données du WES a permis d'identifier des mutations perte de fonction dans le gène *RIMS2* à l'état hétérozygote composite (p.Arg962* et c.4363+1G>A, p?) pour le cas sporadique, et à l'état homozygote (p.Trp1042* et p.Arg1170*) dans les familles consanguines. *RIMS2* régule l'exocytose à la membrane synaptique des photorécepteurs et du cortex cérébral ainsi que la sécrétion d'insuline par les cellules bêta du pancréas où nous avons détecté la protéine par immuno-marquage. L'examen clinique des patients dirigé par le patron d'expression de *RIMS2* a révélé des tracés électrorétinographiques compatibles avec le diagnostic de CRSD (5/5 examinés), des troubles du spectre autistique ou une déficience intellectuelle (4/5 examinés) et une homéostasie du glucose anormale (1/3 examinés, patient le plus âgé de la cohorte : 32 ans).

Discussion: L'identification de mutations du gène *RIMS2* a non seulement permis de redresser le diagnostic ophtalmologique mais aussi de décrire une nouvelle entité clinique, distincte des CSNB purement rétiniennes sous-tendues par des mutations affectant la synapse des photorécepteurs, caractérisée par une atteinte rétinienne invalidante mais non dégénérative avec troubles neuropsychologiques et anomalie de l'homéostasie du glucose.

CS17 : Identification de deux nouveaux gènes d'albinisme.

Auteurs :

Perrine Pennamen (1, 2), Angela TINGAUD-SEQUEIRA (2), Eulalie LASSEAUX (1), Souad Gherbi Halem (3), Josseline KAPLAN (4), Sandrine Marlin (3), Ivet Gazova (5), Margaret Keighren (6), Mathieu FIORE (7, 8), Anne BAUTERS (9), Bruno Delobel (10), Linh Le (11), Claudio PLAISANT (1), Vincent MICHAUD (1), Sophie Javerzat (12), Cedric Delevoye (13), Michael MARKS (11), Ian JACKSON (6), Benoit ARVEILER (2, 1)

1. Génétique Biologique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. Laboratoire MRGM- Inserm U1211, Université Bordeaux, Bordeaux, France
3. Département de Génétique, Hopital NECKER-ENFANTS MALADES, PARIS Cedex 15, France
4. Laboratoire Génétique Moléculaire, Hopital NECKER-ENFANTS MALADES, PARIS Cedex 15, France
5. MRC Human Genetics Unit, , University of Edinburgh, Edinburgh, Royaume Uni
6. MRC Human Genetics Unit, University of Edinburgh, Edinburgh, Royaume Uni
7. Laboratoire d'Hématologie, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
8. Reference Center for Platelet Disorders, CHU de Bordeaux, PESSAC, France
9. Laboratoire d'hémostase, CHU Lille, LILLE, France
10. Centre de Génétique Chromosomique, GHICL, Hôpital Saint Vincent de Paul, LILLE, France
11. Department of Pathology and Laboratory Medicine, Children's Hospital of Philadelphia Research Institute, Philadelphia, Etats-Unis
12. Laboratoire MRGM- Inserm U1211, Université Bordeaux, BORDEAUX, France
13. Structure et Compartiments Membranaires, CNRS-UMR144, Institut Curie, Section de Recherche, PARIS, France

Mots clefs : Albinisme, hypopigmentation, nouveaux gènes, Maladie rare

Résumé :

L'albinisme est un trouble de pigmentation généralisé caractérisé par une importante hétérogénéité clinique et génétique. Cette affection associe des anomalies ophtalmologiques, véritable source de handicap, à divers degrés d'hypopigmentation cutanéophanérienne et parfois des atteintes hématologiques, digestives ou respiratoires dans les formes syndromiques que sont les syndromes d'Hermansky-Pudlak(HPS) et le syndrome de Chediak-Higashi (1).

A ce jour 19 gènes sont connus comme responsables de formes isolées ou syndromiques d'albinisme, dont la plupart sont autosomiques récessives à l'exception de l'albinisme oculaire lié à l'X. Au laboratoire de génétique du CHU de Bordeaux, nous étudions ces 19 gènes ainsi que quelques diagnostics différentiels par un panel de séquençage haut-débit, parfois complété par une recherche de remaniements par CGH Array ciblée. Plus de 1600 patients ont été analysés à ce jour. Après étude complète des 19 gènes connus comme responsables d'albinisme, environ 25% des patients restent sans diagnostic moléculaire (2). Afin de rechercher de nouveaux gènes, nous avons développé et testé un panel de 129 gènes candidats chez 230 patients négatifs. Ceci a permis de mettre en évidence des variants délétères dans deux gènes. Le premier, *DCT* ou *TYRP2* est suspecté de longue date du fait de sa collaboration à la synthèse de la mélanine avec *TYR* et *TYRP1*, gènes connus d'albinisme (*OCA1* et 3, respectivement). Nous décrivons 2 patientes présentant un albinisme cutané modéré avec atteinte ophtalmologique caractéristique. Une patiente est homozygote pour un variant faux sens et l'autre hétérozygote composite pour un variant faux sens et une délétion frameshift. Les variants faux sens ont été induits chez la souris par CrispR-Cas9, reproduisant l'hypopigmentation modérée. Un modèle poisson zèbre a aussi été produit. Nous rapportons également une patiente porteuse d'une délétion intragénique homozygote du gène *BLOC155*. Ce gène code une des sous-unités du complexe BLOC-1 qui en compte huit et dont 3 sont déjà associées aux formes d'HPS 7, 8 et 9. Cette patiente présente un phénotype d'albinisme modéré et des signes de diathèse hémorragique, lié à un déficit d'agrégation plaquettaire par défaut en granules denses. Des analyses in vitro sur modèles cellulaires ont confirmé la pathogénicité de cette délétion homozygote de *BLOC155*. Nous avons donc découverts deux nouveaux gènes d'albinisme, pour une forme oculocutanée et pour une forme syndromique (HPS), toutes deux apparemment modérées.

1.Arveiler B, Lasseaux E, Morice-Picard F. Clinical and genetic aspects of albinism. Presse Medicale Paris Fr 2017;46(7-8 Pt 1):648-54.

2.Lasseaux E, Plaisant C, Michaud V, Pennamen P, Trimouille A, Gaston L, et al. Molecular characterization of a series of 990 index patients with albinism. Pigment Cell Melanoma Res. 2018;31(4):466-74.

CS18 : Epidémiologie génétique des neuropathies auditives

Auteurs :

Sophie Achard (1), Sandrine Marlin (2), Isabelle ROUILLON (3), Natalie Loundon (4), Elisa RUBINATO (5), Isabelle MOSNIER (6), Laurence Jonard (7)

1. ORL pédiatrique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades-APHP, Paris, France
2. Centre de référence surdités génétiques, Hôpital Necker, Paris, France
3. ORL pédiatrique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades-APHP, Paris, France
4. ORL, Hôpital Necker, Paris, France
5. Service de Génétique Clinique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades-APHP, Paris, France
6. ORL, Hôpital Universitaire Pitié-Salpêtrière-APHP, Paris, France
7. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades-APHP, Paris, France

Mots clefs : Neuropathie auditive, surdité, OTOF, FDXR, ATP1V3, DIAPH3

Résumé :

Justification du projet : Les neuropathies auditives (NA) représentent 5 à 10% des déficits auditifs de l'enfant. Elles peuvent être isolées ou syndromiques. Les NA se caractérisent par une série de résultats paradoxaux lors des investigations audiolinguistiques qui la distinguent des atteintes cochléaires habituelles. Les performances en audiométrie vocale sont typiquement moins bonnes que celles attendues. Effectivement, l'audiométrie tonale peut varier d'une audition normale à un déficit profond, alors que la compréhension de la parole est très perturbée. On dit donc qu'il existe une discordance entre l'audiométrie tonale et l'audiométrie vocale. Une dizaine de gènes responsables des NA isolées ou syndromiques ont été identifiés à ce jour. Les patients atteints de neuropathie auditive n'ont que rarement un diagnostic génétique établi, il est donc difficile d'adapter leur prise en charge et de donner un pronostic évolutif de leur maladie.

Objectif : L'objectif de cette étude était de rechercher une cause génétique en séquençant l'ADN d'une série de patients présentant une neuropathie auditive avec un panel de 216 gènes connus de surdité. L'objectif secondaire était d'établir des relations génotypes-phénotypes afin d'améliorer la prise en charge et le suivi des patients.

Matériel et méthodes : Inclusion de patients présentant une neuropathie auditive isolée ou syndromique recrutés au sein du Centre de Référence des Surdités Génétiques coordonné par le Dr S. Marlin (Hôpital Necker, Institut Imagine, INSERM). Tous les patients avaient déjà bénéficié d'une consultation génétique clinique et d'un prélèvement sanguin à visée diagnostique (consentements des parents obtenus selon les règles législatives). Pour tous les patients un panel des 216 gènes impliqués dans les surdités a été séquençé par une méthode NGS Capture (*Next Generation Sequencing*). Les patients pour lesquels une cause génétique a pu être déterminée, ont été analysés du point de vue clinique afin d'établir une corrélation génotype-phénotype.

Résultats : Trente-sept patients non-apparentés ont été séquençés en NGS Capture. Seize patients ont eu un diagnostic pour leur NA (43%). Pour cinq patients, un gène responsable de surdité (mais non connu pour être impliqué dans les NA) est suspecté et 16 patients n'ont pas été résolus. Le gène *OTOF* était impliqué dans 27%, les gènes *DIAPH3*, *ATP1A3* et *FDXR* étaient chacun impliqués dans 5 % de notre cohorte.

Conclusion : Sur les gènes connus de neuropathie auditive, 4 ont été retrouvés mutés dans notre population, avec majoritairement des mutations du gène *OTOF*. De nombreux gènes impliqués dans les neuropathies auditives sont sûrement encore à découvrir, et des séquençages d'exome pourront être proposés aux cas non résolus.

Pièce jointe : Abstract neuropathies auditives Assises 2020 V0.docx

CS19 : Etude de l'hétérogénéité clinique du syndrome MCAP à partir d'une cohorte française de 32 patients

Auteurs :

Aurore Garde (1, 2), Laurent Guibaud (3), Alice Goldenberg (4), Florence Petit (5), Rodolphe Dard (6), Juliette Mazereeuw-Hautier (7), Nicolas Chassaing (8), Didier Lacombe (9), Fanny Morice-Picard (9), Annick Toutain (10), Stéphanie Arpin (10), Olivia Boccara (11), Renaud Touraine (12), Patricia Blanchet (13), Christine Coubes (13), Marjolaine Willems (13), Lucie Pinson (13), Philippe Khau Van Kien (14), Christine Chiaverini (15), Fabienne Giuliano (16), Jean-Luc Alessandri (17), Michèle Mathieu-Dramart (18), Anne-Claire Bursztejn (19), Elodie Gautier (1), Meriem Yousfi (1), Maxime Luu (20), Marc Bardou (20), Arthur Sorlin (1, 21), Christophe Philippe (21), Patrick Edery (22), Massimiliano Rossi (22), Virginie Carmignac (21), Christel Thauvin-Robinet (1, 2), Pierre Vabres (23, 24), Laurence Faivre (1, 21)

1. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, FHU TRANSLAD, CHU de Dijon, Dijon, France
2. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Service d'Imagerie Pédiatrique et Fœtale, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Service de Génétique Clinique, CHU de Lille, Lille, France
6. Département de Génétique, Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHI Poissy St Germain-en-Laye, St Germain-en-Laye, France
7. Centre de Référence des Maladies Rares de la Peau, CHU de Toulouse, Toulouse, France
8. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse, Toulouse, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
10. Service de Génétique Clinique, CHRU de Tours, Tours, France
11. Department of Dermatology and Reference Center for Genodermatoses and Rare Skin Diseases (MAGEC), Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris, France
12. Service de Génétique Clinique, CHU de Saint Etienne, Saint-Priest-en-Jarez, France
13. Département de Génétique Médicale, Maladies rares et Médecine Personnalisée, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
14. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
15. Service de Dermatologie, CHU de Nice, Nice, France
16. Département de Génétique Médicale, CHU de Nice, Nice, France
17. Pôle Enfants, CHU de la Réunion, Saint-Denis, France
18. Centre d'Activité Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
19. Service de Dermatologie, CHU de Nancy, Nancy, France
20. Centre d'Investigation Clinique INSERM 1432, CHU de Dijon, Dijon, France
21. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, CHU de Dijon, Dijon, France
22. Département de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
23. Service de Dermatologie, CHU de Dijon, Dijon, France
24. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : PIK3CA, MCAP, mosaïque

Résumé :

Introduction : Le syndrome MCAP (Syndrome mégalencéphalie-malformation capillaire-polymicrogyrie) est une maladie génétique qui résulte d'une variation post-zygotique gain de fonction du gène *PIK3CA*. Ce syndrome appartient au spectre PROS (PIK3CA-related overgrowth spectrum). Dans la littérature, il n'existe que peu de publications rapportant des séries de patients atteints du syndrome MCAP. L'objectif de cette étude est de mieux définir l'étendue du spectre clinique et leur éventuelle corrélation avec les signes radiologiques, à partir d'une cohorte nationale de patients avec un syndrome MCAP.

Patients et Méthodes : Les cliniciens ayant adressé des patients au laboratoire de biologie pour suspicion de syndrome MCAP, et pour lesquels une mutation *PIK3CA* en mosaïque a été identifiée, ont été contactés pour leur proposer de participer à cette étude de cohorte. Un appel à collaboration a également été lancé au sein de la filière AnDDI-Rares. Nous avons ainsi pu colliger les informations cliniques, biologiques et radiologiques de 32 patients atteints du syndrome MCAP. Les imageries cérébrales ont été revues par un même neuroradiologue.

Résultats : Dans notre cohorte, nous observons 18 variations différentes dans le gène *PIK3CA*. Le taux de mosaïcisme se situe entre 0% et 20% dans le sang, entre 1% et 47% dans la peau et entre 4% et 34% dans la salive. La macrocéphalie est observée à la naissance chez 22/29 patients et au moment du diagnostic chez 30/31 patients. Une hémihypertrophie est retrouvée chez 23/32 patients. Une déficience intellectuelle est retrouvée chez 14/32 patients, de légère à sévère. Quatre patients présentent des troubles d'apprentissage nécessitant une aide scolaire ou la scolarisation en classe d'inclusion scolaire. Parmi les patients restants, 10 patients ont une efficacité intellectuelle dans la norme et 4 patients sont trop jeunes pour évaluer leur cognition. Six patients souffrent d'épilepsie. Des malformations cérébrales ont été rapportées chez 20/21 patients : une ventriculomégalie chez 10 patients, une anomalie des amygdales cérébelleuses chez 12 patients, des anomalies du corps calleux chez 11 patients et des anomalies de la substance blanche chez 5 patients. Tous les patients présentent des malformations cutanéovasculaires : angiomes plans chez 24 patients, et cutis marmorata chez 14 patients. Une dysplasie du tissu conjonctif est retrouvée chez 23/32 patients à type d'hyperélasticité cutanée chez 12 patients, anomalies du tissu sous-cutané chez 13 patients et hyperlaxité ligamentaire chez 14 patients.

Conclusion : Cette étude confirme le large spectre clinique dans le syndrome MCAP, en particulier dans le neurodéveloppement. A l'aube de l'arrivée d'essais thérapeutiques dans les pathologies liées à *PIK3CA*, ces informations sont importantes pour mieux décrire l'histoire naturelle de la maladie et les éventuelles corrélations entre l'importance de l'atteinte neuroradiologique et les troubles cognitifs.

CS20 : Caractéristiques phénotypiques du modèle murin du syndrome de Cohen

Auteurs :

Vincent Lhussiez (1), Eléonore Lizé (1), Charlotte Montillot (1), Stephan Collins (1), Binnaz Yalcin (1), Christel Thauvin-Robinet (2), Laurence Faivre (3), Romain Da Costa (4), Laurence Duplomb (2)

1. INSERM1231, GAD, Dijon, France
2. GAD INSERM1231, CHU, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. GAD EA4271, CHU Dijon, Dijon, France
4. GAD INSERM1231, CHU, Université de Bourgogne, Dijon, France

Mots clés : Syndrome de Cohen, modèle murin, phénotype, métabolisme, atteintes ophtalmiques, infertilité

Résumé :

Le syndrome de Cohen (SC) est une maladie rare de transmission autosomique récessive due à des mutations dans le gène *VPS13B*. Les patients présentent de nombreuses atteintes cliniques dont les principales sont une dysmorphie faciale typique, une microcéphalie associée à une déficience intellectuelle, une répartition anormale des graisses au niveau du tronc avec un risque de diabète de type II et de maladies cardiovasculaires, une rétinopathie pigmentaire et une neutropénie. Nous avons généré un modèle murin du SC à l'Institut Clinique de la Souris à Strasbourg par le système de recombinaison Cre-LoxP (délétion de l'exon 3/décalage du cadre de lecture/codon STOP prématuré dans l'exon 4). Plusieurs études phénotypiques sont réalisées au laboratoire afin de pouvoir valider la pertinence du modèle murin pour l'étude du SC, permettre de mieux comprendre la physiopathologie du SC, d'approfondir les connaissances sur les fonctions de VPS13B et d'améliorer la prise en charge des patients. Dès les premières semaines de vie, les souris mutantes *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} sont facilement identifiables car plus petites et de poids nettement inférieurs que les souris sauvages ou hétérozygotes. Le nombre de souriceaux *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} vivants est significativement inférieur à celui attendu, provenant d'une mort embryonnaire à différents stades du développement et d'une mort précoce à la naissance. Différents croisements ont permis de mettre en évidence une infertilité (oligo-astheno-teratozoospermie) des mâles *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} (voir Da Costa *et al.*). La croissance des souris *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} est retardée mais reste homogène avec une consommation de nourriture normale. Pour l'étude du métabolisme lipidique et glucidique des patients, les souris viennent d'être placées sous régime High Fat. La prise de poids (masse grasse vs masse maigre par EchoMRI), la prise hydrique, la dépense énergétique, le RER (respiratory exchange ratio) (cage CLAMS), l'apparition d'un diabète de type II (intolérance au glucose, résistance à l'insuline) et l'éventualité du développement d'une stéatose hépatique (existante chez un de nos patients) vont être mesurées. Un projet sur l'atteinte ophtalmologique est en cours et démontre que les souris *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} peuvent développer une cataracte naturellement mais également de façon exagérée après une exposition à des intensités lumineuses qui se rapprochent des conditions de vie des patients. Enfin une étude neuro-anatomique et comportementale vient de débuter. Les résultats préliminaires montrent (i) une microcéphalie et une diminution de 25% de l'aire du gyrus denté (2 souris étudiées), et (ii) une anxiété des souris *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} par rapport aux souris sauvages (test de l'Open Field). En conclusion, notre modèle murin *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} reproduit plusieurs caractéristiques du phénotype humain et va nous permettre de mieux comprendre la pathologie du SC. (Permis APAFIS#8142-20 1 612 1210214682).

CS21 : Quand rechercher une RASopathie en anténatal ? Proposition après étude systématique de 260 cas.

Auteurs :

Alexandra Scott (1, 2), Marie-Ange Delrue (1, 2), Anne-Marie Laberge (1, 2)

1. Génétique médicale, CHU Ste-Justine, Montréal, Canada

2. , Université de Montréal, Montréal, Canada

Mots clefs : Prénatal, RASopathie, Noonan, échographie fœtale

Résumé :

Les RASopathies constituent un groupe de pathologies fréquentes diagnostiquées en pré ou post-natal, représentant environ 1/1 000-2500 naissances vivantes. Sur les dernières années, des études ont identifié certains signes échographiques évocateurs de ces pathologies : dysplasie lymphatique (clarté nucale (CN) augmentée, pli nucale (PN) augmenté, hygroma kystique (HK), hydrops, épanchements...); cardiopathie congénitale (dysplasie valvulaire, cardiomyopathie hypertrophique principalement), hydramnios, anomalies rénales. L'objectif de cette étude est de déterminer quels signes sont les plus suggestifs afin de clarifier les indications à rechercher une RASopathie en anténatal.

Nous avons réalisé une étude rétrospective de 2012-2018. Nos critères d'inclusion étaient : 1) cas ayant une présentation prénatale avec signes évocateurs de RASopathies (n=206) ou une présentation pédiatrique avec suspicion de RASopathie pour lesquels les données anténatales étaient disponibles (n=54); 2) CGH-array normale; 3) analyse moléculaire de gènes impliqués dans les RASopathies réalisée. Cela totalise donc 260 cas. La plupart des patients ont été testés pour 11 gènes de RASopathies : *BRAF*, *HRAS*, *KRAS*, *MAP2K1*, *MAP2K2*, *PTPN11*, *RAF1*, *SHOC2*, *SOS1*, *RIT1*, *NRAS*. Les données prénatales des cas positifs et négatifs ont été comparées. Une analyse stratifiée de certains signes échographiques a également été réalisée.

Un variant pathogène ou probablement pathogène a été identifié chez 21% (55/260) des patients, dont 17/141 (12%) des fœtus avec HK et CN augmentée. Le taux de détection de variant pathogène était de 40% pour les épanchements pleuraux, 28% pour les hydrops, 28% pour les cardiopathies, et 27% pour les CN augmentées. Ces taux de détection étaient significativement augmentés dans les cas d'HK persistant (16%), de CN>6 mm (23%), et de valvulopathie associée à une cardiomyopathie hypertrophique (100%). Il était également observé un meilleur taux de détection quand l'anomalie échographique était associée à un hydramnios (49%), une anomalie rénale (36%) ou une macrosomie (54%). 45/151 des cas avec 2 signes échographiques ou plus (30%) avaient un diagnostic de RASopathie vs 9% lors de la présence d'un seul signe échographique.

Conclusion : après une CGH-array normale, la recherche de RASopathie devrait être considérée en anténatal lorsqu'un signe de dysplasie lymphatique ou une cardiopathie congénitale suggestive est retrouvée, seule OU associée. Un polyhydramnios, des anomalies rénales, la macrosomie, sont fréquents, significativement associés à des signes évocateurs de RASopathie. Seuls des anomalies échographiques sévères sont associées à un devenir post-natal défavorable de RASopathie.

CS22 : Présentation anténatale du syndrome de Bardet-Biedl: à propos de 47 fœtus

Auteurs :

Laura Mary (1), Kirsley Chennen (2), Corinne Stoetzel (3), Manuela Antin (4), Anne-Sophie Leuvre (4), Elsa Nourisson (4), Elisabeth Alanio-Detton (5), Maria Cristina Antal (6), Tania Attié-Bitach (7), Patrice Bouvagnet (8), Raymonde Bouvier (9), Annie Buenerd (9), Alix Clémenson (10), Louise Devisme (11), Bernard Gasser (12), Brigitte Gilbert-Dussardier (13), Fabien Guimiot (14), Philippe Khau Van Kien (15), Brigitte Leroy (16), Philippe Loget (17), Jelena Martinovic (18), Fanny Pelluard (19), Marie Josée Perez (20), Florence Petit (21), Lucille Pinson (22), Caroline Rooryck-thambo (23), Olivier Poch (2), Hélène Dollfus (3), Elise Schaefer (1), Jean Muller (3)

1. HUS, CHU de Haute-pierre, Strasbourg, France
2. , iCube, Strasbourg, France
3. , , STRASBOURG, France
4. Laboratoire de diagnostic génétique de Strasbourg, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Gynécologie-obstétrique, centre de dépistage anténatal, hôpital Maison-Blanche, CHU de Reims, Reims, France
6. Service de Pathologie, UF6349 Fœtopathologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. INSERM U1163, Institut IMAGINE, Université Paris Descartes, Paris, France
8. Laboratoire de Cardiogénétique, Malformations cardiaques congénitales, Hôpitaux Civils de Lyon, Lyon, France
9. Département de pathologie, centre hospitalier Est, Hôpitaux Civils de Lyon, Lyon, France
10. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Saint-Etienne, Saint Etienne, France
11. Institut d'Anatomo-Pathologie, Centre de Biologie Pathologie, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille, France
12. Laboratoire de Pathologie, GHR Mulhouse-Sud Alsace, Mulhouse, France
13. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers, France
14. Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Strasbourg, France
15. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, Centre Hospitalier Universitaire de Nîmes, Nîmes, France
16. Service d'Anatomie Pathologique, CHI Poissy Saint Germain-en-Laye, Saint Germain-en-Laye, France
17. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Pontchaillou, Université Rennes 1, Rennes, France
18. Unité de Fœtopathologie, Hôpital Antoine Béclière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
19. Service d'Anatomie-Cytologie Pathologique, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Bordeaux, France
20. Unité de fœtopathologie, Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Montpellier, Montpellier, France
21. Clinique de Génétique Guy Fontaine, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Lille, France
22. Département de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier, Montpellier, France
23. Laboratoire Maladies rares, génétique et métabolisme, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Syndrome de Bardet-Biedl, ciliopathie, diagnostic moléculaire, cohorte fœtale

Résumé :

Introduction

Bardet-Biedl syndrome (BBS, MIM# 209900) is an emblematic ciliopathy associating retinal dystrophy, obesity, postaxial polydactyly, learning disabilities and renal dysfunction. Before birth, enlarged/cystic kidneys as well as polydactyly revealed by ultrasound (US) are the usual hints to consider this diagnosis in absence of familial history. However, these symptoms are not specific of BBS, raising the problem of differential diagnoses and prognosis. Molecular diagnosis during pregnancies remains a timely challenge for this heterogeneous disease (24 known BBS genes). We report here a large cohort of BBS fetuses to better characterize antenatal phenotype-genotype correlations and to refine if necessary the molecular diagnostic strategy.

Materials and Methods

Prenatal US and/or autopsic data from 74 interrupted fetuses with putative BBS diagnosis were collected and analyzed.

Results

Using targeted Next Generation Sequencing, we established a molecular diagnostic in 52 cases mainly in BBS genes (47 cases) following the classical gene distribution, but also in other ciliopathy genes (5 cases). Polydactyly (81%, of postaxial localization only) and renal cysts (72%) were the most prevalent symptoms in BBS-mutated fetuses. However, autopsy revealed polydactyly missed by US in 44% of cases. Hydrometrocolpos, evocative of BBS, was found in 3 cases. Ductal plate anomalies, hepatic portal fibrosis, cardiovascular or central nervous system anomalies were rare (6, 4 and 6 cases respectively).

Conclusion

Polydactyly and renal anomalies are confirmed as major prenatal manifestations for BBS. Polydactyly must be carefully controlled in case of apparent isolated renal anomalies. The use of prenatal "fast track" NGS in case of enlarged/cystic kidneys and/or polydactyly has a high utility for diagnosis and prognosis for improved parental information.

Pièce jointe : BBSFoetus_Abstract_Assises_Final.docx

CS23 : Les variants faux-sens localisés dans les domaines de liaison à l'actine de la Plastine 3 sont responsables de hernie diaphragmatique congénitale liée à l'X

Auteurs :

Florence PETIT (1, 2), Barbara POBER (3), Robin CLARK (4), Philip GIAMPIETRO (5), Hans Hilger ROPERS (6), Hao HU (6), Pooja BHAYANI (7), Matthew DYSART (8), Maria LOSCERTALES (7), Anne-Sophie JOURDAIN (9), Frédéric FRENOIS (2), Marie-Ange DELRUE (10), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (11, 12), Louise DEVISME (13, 2), Boris KEREN (14), Sylvie MANOUVRIER-HANU (1, 2), Patricia DONAHOE (3), Mauro LONGONI (3)

1. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CLAD Nord Ouest, ERN-ITHACA, CHU Lille, Lille, France
2. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
3. Department of Pediatrics, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
4. , Loma Linda School of Medicine, Loma Linda, Etats-Unis
5. Drexel University College of Medicine, Drexel University College of Medicine, Philadelphia, Etats-Unis
6. , Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Allemagne
7. Pediatric Surgical Research Laboratories, Massachusetts General Hospital, Boston, Etats-Unis
8. Department of Pediatrics, Massachusetts General Hospital, Massachusetts General Hospital, Boston, Etats-Unis
9. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, Etats-Unis
10. Service de Génétique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Service de Génétique, CHU Poitiers, Poitiers, France
12. EA3808, Université de Poitiers, Poitiers, France
13. Institut de Pathologie, CHU Lille, Lille, France
14. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : PLS3, plastine, hernie diaphragmatique congénitale, lié à l'X

Résumé :

La hernie diaphragmatique congénitale (CDH) a une incidence d'environ 1 naissance sur 3000. C'est une anomalie développementale responsable d'une morbi-mortalité élevée et associée à une grande hétérogénéité génétique. Les formes familiales sont rares et seule une fraction des cas sporadiques est expliquée par des anomalies chromosomiques récurrentes ou des variants *de novo*. Nous rapportons 4 familles où ségrège une CDH liée à l'X sur de multiples générations. Dans ces familles, la CDH est associée de façon variable à des anomalies de la paroi abdominale antérieure et à un hypertélorisme, réalisant une forme syndromique. En combinant analyse de liaison et séquençage de l'exome, nous avons mis en évidence 4 variants faux-sens du gène *PLS3*. Ce gène code la Plastine 3, une protéine du cytosquelette impliquée dans l'organisation des microfilaments d'actine. Il est exprimé au cours du développement pulmonaire et du diaphragme.

L'haploinsuffisance de *PLS3* est responsable d'une forme liée à l'X d'ostéoporose avec fractures (MIM#300910). Nous émettons l'hypothèse que le mécanisme moléculaire impliqué dans la physiopathologie de la CDH est différent. En effet, les variants faux-sens identifiés touchent des résidus conservés au sein des domaines de liaison à l'actine de *PLS3*. Les prédictions *in silico* et les tests fonctionnels suggèrent une modification de la liaison à l'actine, responsable d'une désorganisation du cytosquelette. En conclusion, nous décrivons une forme syndromique de hernie diaphragmatique, constituant une nouvelle entité mendélienne liée au gène *PLS3*.

CS24 : Identification d'un nouveau gène (PDCL3) et spectre mutationnel du syndrome mégavessie-microcôlon sur une série fœtale

Auteurs :

Clarisse Billon (1, 2), Arnaud Molin (3), Céline Poirsier (4), Alix Clémenson (5), Coralie Dauge (6), Maude Grelet (7), Julia Torrents (8), Sabine Sigaudy (7), Sophie Patrier (9), Alice Goldenberg (10), Valérie Layet (11), Julia Tantau (1), Lucile Boutaud (1, 12), Aude Tessier (1), John Rendu (13, 14), Clémence Fleury (15), Cécile Masson (16), Christine Bôle-Feysot (17), Amale Achaiaa (1), Leila Hakkakian (1), Eglantine Magnin (1), Ferehté Razavi (1), Sophie Thomas (18), Yves Ville (19), Philippe Roth (19), Bettina Bessieres (1), Fabienne Prieur (20), Maryse Bonnière (1), Tania Attie-Bitach (1, 12)

1. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Unité d'Embryofœtopathologie, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Laboratoire de Génétique, Assistance-Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Département de génétique, Université de Normandie, CHU de Caen Normandie, Caen, France
4. Département de génétique, CHU de Reims, Reims, France
5. Service d'anatomie et Cytologie Pathologique, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
6. Département de Pathologie, Université de Normandie, CHU de Caen Normandie, Caen, France
7. Département de génétique médicale, APHM, Hôpital de la Timone, Marseille, France
8. Service d'anatomie et Cytologie Pathologique, APHM, Hôpital de la Timone, Marseille, France
9. Service d'anatomopathologie, CHU Charles Nicolle - Rouen, Rouen, France
10. Département de génétique, centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génétique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
11. consultations de génétique, Groupe hospitalier du Havre, Le Havre, France
12. INSERM U1163, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France
13. Unité Médicale de Génétique Moléculaire, Institut de Biologie et Pathologie, CHU Grenoble Alpes, Université de Grenoble Alpes, Grenoble, France
14. Inserm, U1216, CHU Grenoble Alpes, Université de Grenoble Alpes, Grenoble, France
15. Département de Pathologie, CHU Robert-Debré, Reims, France
16. Plateforme Bioinformatique, INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
17. Plateforme de génomique, Inserm UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
18. INSERM U1163, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France
19. Service de Gynécologie-Obstétrique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
20. Service de génétique, Hôpital Nord CHU St Etienne, Saint-Etienne, France

Mots clefs : Mégavessie fœtale, MMIHS

Résumé :

Le syndrome de mégavessie microcôlon hypopéristaltisme intestinal (MMIHS) est la cause la plus sévère de mégavessie par myopathie viscérale. Ce syndrome est caractérisé par une distension abdominale secondaire à la présence d'une vessie géante non obstruée, un microcôlon, et une diminution ou absence du péristaltisme intestinal. Le principal gène en cause identifié à ce jour est le gène *ACTG2*, à transmission autosomique dominante. Plus récemment, des formes récessives de MMIHS impliquant les gènes *MYH11*, *LMOD1*, *MYLK* et *MYL9* ont été décrites. L'identification de variations pathogènes dans ces gènes explique environ 80% des cas de MMIHS, et a permis d'identifier un mécanisme physiopathologique commun par défaut de la contraction des cellules musculaires lisses. Afin de définir le spectre mutationnel en prénatal, nous avons étudié neuf familles indépendantes, avec 14 individus (12 fœtus et 2 nouveau-nés) atteints de mégavessie et fortement suspects de MMIHS.

Le séquençage sanger du gène *ACTG2* a permis d'identifier la variation pathogène en cause dans cinq de ces familles. L'analyse des données de séquençage haut débit par exome chez les quatre familles restantes nous a permis de retrouver une cause moléculaire pour trois d'entre elle, dans 3 gènes. Dans une famille, nous avons mis en évidence une nouvelle variation non-sens homozygote chez 3 fœtus atteints issus d'un couple apparenté dans le gène *MYH11*. Dans une deuxième famille, les deux fœtus atteints issus de parents non apparentés présentent la même délétion homozygote de l'exon 4 du gène *MYL9* que la seule observation précédemment publiée. Un effet fondateur est possible. Dans la troisième famille, nous n'avons pas identifié de variations pathogènes dans les gènes connus du MMIHS, mais deux variations hétérozygotes composites dans le gène *PDCL3*, présentes chez deux fœtus atteints c.[143_144del];[380G > A], p.[(Tyr48Ter)]; [Cys127Tyr)]. L'analyse du transcrit réalisée par RT-PCR nous a permis de démontrer l'absence des deux transcrits mutants, entraînant la perte de fonction totale de la phosphoducin-like 3, protéine se liant au complexe CCT. Ce complexe est notamment connu pour son rôle dans le repliement de l'actine, étape essentielle pour la conformation de l'actine globulaire précédant l'étape de formation des filaments fins d'actine composant le muscle lisse. Dans une famille, la cause moléculaire n'a pu être identifiée par séquençage d'exome.

Au total, nous avons identifié la cause moléculaire dans huit familles sur neuf, cinq fois dans *ACTG2* d'hérédité dominante, et trois fois dans un gène récessif permettant d'affiner le conseil génétique aux couples. Nous avons identifié un gène fortement candidat par sa fonction conforme au mécanisme myogénique mis en évidence jusqu'à ce jour pour les gènes responsables de MMIHS.

CS25 : Anomalies du corps calleux anténatales associées à un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale : description neuropathologique et implication d'un nouveau gène

Auteurs :

Lucile Boutaud (1, 2), Benedetta Ruzzenente (3), Aude Tessier (4), Sarah Grotto (5), Naïma Talhi (6), Daniel Amram (7), Marjolaine Willems (8), Patricia Blanchet (9), Yuri Musizzano (10), Olivia Anselem (5), Clémence Jauny (11), Bettina Bessièrès (4), Houria Salhi (12), Amale Achaiaa (4), Férechti Razavi (4), Agnès Rötig (3), Laurence Loeuillet (4), Tania Attié-Bitach (13, 4)

1. Génétique et développement du cortex cérébral, Institut Imagine, Paris, France
2. Embryologie et génétique des malformations humaines, Institut Imagine, Paris, France
3. Génétique des maladies mitochondriales, Institut Imagine, Paris, France
4. Unité Fonctionnelle d'embryo-foetopathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Maternité Port Royal, Hôpital Cochin, Paris, France
6. Anatomie et cytologie pathologiques, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
7. Unité de génétique, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
8. Département de génétique médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
9. Unité de génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
10. Anatomie et cytologie pathologiques, CHU Montpellier, Montpellier, France
11. Maternité Port Royal, Hôpital Cochin, Paris, France
12. Unité Fonctionnelle d'embryo-foetopathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
13. Génétique et développement du cortex cérébral, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : Corps calleux, cytopathie mitochondriale, phénotype anténatal, neuropathologie

Résumé :

Un déficit primaire de la chaîne respiratoire mitochondriale est difficile à diagnostiquer chez le fœtus. Certains signes non spécifiques sont rapportés en prénatal comme le retard de croissance intra-utérin (22,6% Von Kleist-Retzow et al, 2003) ou une cardiomyopathie (Von Kleist-Retzow et al, 2003, Schiff et al 2011), mais les anomalies cérébrales et particulièrement les anomalies du corps calleux sont plus rarement décrites.

Nous rapportons ici 4 familles ayant subi une ou plusieurs interruptions médicales de grossesse devant une anomalie du corps calleux associée ou pas à d'autres anomalies cérébrales ou extra-cérébrales. Dans 2 familles, l'analyse par séquençage haut débit d'un panel de gènes impliqués dans les anomalies du corps calleux (Callosome) a permis l'identification de nouvelles mutations dans 2 gènes récessifs de maladies mitochondriales précédemment associées à des anomalies du corps calleux (*MRPS22* et *EARS2*). *MRPS22* code une petite sous-unité du ribosome mitochondrial et ses mutations sont responsables d'un déficit multiple de la chaîne respiratoire (COXPD5). *EARS2* code l'ARNt-glutamyl synthétase mitochondriale (mtGluR), et ses mutations sont associées à une leucoencéphalopathie et un déficit combiné de phosphorylation oxydative (COXPD12). Ces cas permettent de décrire pour la première fois le phénotype prénatal associé aux mutations de ces gènes. L'analyse par exome de 2 autres familles avec récurrence d'agénésie du corps calleux a permis l'identification de la même mutation à l'état homozygote du gène *TIMMDC1*. Ces 2 familles étant d'origine portugaise ceci évoque un effet fondateur. Le gène *TIMMDC1* code une protéine impliquée dans l'assemblage du complexe I de la chaîne respiratoire. Une seule mutation intronique profonde de ce gène a été rapportée chez plusieurs patients atteints de syndrome de Leigh (Kremer et al., 2017) mais jamais associée à des anomalies calleuses. Les analyses fonctionnelles ont montré un déficit isolé du complexe I de la chaîne respiratoire sur tissu musculaire comparé aux contrôles d'âge apparié.

Au total, nous rapportons 9 cas fœtaux de mutations des gènes *MRPS22*, *EARS2* ou *TIMMDC1* permettant de décrire le phénotype anténatal des cytopathies mitochondriales, et d'améliorer le diagnostic et le conseil génétique des anomalies du corps calleux.

Pièce jointe : Résumé assises L.Boutaud.pdf

CS26 : Les mutations dominantes dans le gène de maintien de l'ADN mitochondrial *SSBP1* causent une atrophie optique et une fovéopathie.

Auteurs :

Emmanuelle Sarzi (1), Camille Piro-Mégy (1), Aleix Tarrés-Solé (2), Marie Pequignot (1), Fenna Hensen (3), Mélanie Quiles (1), Gaël Manes (1), Arka Chakraborty (2), Audrey Sénéchal (1), Béatrice Bocquet (1), Chantal Cazeveille (1), Agathe Roubertie (1, 4), Agnès Müller (1, 5), Majida Sharif (6), David Goudenege (6), Guy Lenaers (6), Helmut Wilhelm (7), Ulrich Kellner (8), Nicole Weisschuh (9), Bernd Wissinger (9), Xavier Zanlonghui (10), Christian Hamel (1), Johannes Spelbrink (11), Maria Sola (2), Cécile Delettre (1)

1. Inserm U1051, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
2. Department of Structural Biology, IBMB-CSIC, Barcelona, Espagne
3. , Radboud Center For Mitochondrial Medicine, Nijmegen, Pays-Bas
4. Département de Neuropédiatrie, CHU Gui de Chaulliac, Montpellier, France
5. Laboratoire de Physiologie, Faculté de Pharmacie, Montpellier, France
6. Institut MitoVasc, Université d'Angers, Angers, France
7. University eye Hospital, University of Tübingen, Tübingen, Allemagne
8. Rare retinal disease center, MVZ Augenärztliches Diagnostikum Therapiezentrum Siegburg GmbH, Siegburg, Allemagne
9. Institute for Ophthalmic Research, University of Tübingen, Tübingen, Allemagne
10. Centre de Compétence Maladie Rares, Clinique Pluridisciplinaire Jules Verne, Nantes, France
11. Department of Paediatrics, Radboud Center For Mitochondrial Medicine, Nijmegen, Pays-Bas

Mots clefs : *SSBP1*, ADNmt, réplication, déplétion, atrophie optique, fovéopathie.

Résumé :

Les mutations dans les gènes codant pour les composants de la machinerie de réplication de l'ADN mitochondrial (ADNmt) provoquent des syndromes de déplétion de l'ADNmt (MDS), qui associent des atteintes oculaires à des syndromes neurologiques graves. Nous avons identifié des mutations faux-sens hétérozygotes dans le gène *SSBP1*, dans cinq familles non apparentées. Elles conduisent aux modifications des acides aminés R38Q et R107Q dans la protéine de liaison à l'ADN simple brin, protéine majeure de la réplication de l'ADNmt. Tous les individus atteints présentent une atrophie optique, associée à une fovéopathie dans la moitié des cas. Pour identifier les caractéristiques structurales sous-jacentes aux mutations *SSBP1*, nous avons déterminé une nouvelle structure cristalline révisée de *SSBP1*. L'analyse structurale suggère que les deux mutations affectent les interactions des dimères et faussent vraisemblablement la région de liaison à l'ADNmt. En utilisant des fibroblastes de patients, nous avons validé que le variant R38Q déstabilise la formation de dimères / tétramères *SSBP1*, affecte la réplication de l'ADNmt et induit une déplétion de ce génome. Notre étude montre que les mutations de *SSBP1* sont à l'origine d'une nouvelle forme d'atrophie optique dominante fréquemment accompagnée de fovéopathie et apporte de nouvelles informations sur les anomalies du maintien de l'ADNmt.

Pièce jointe : Abstract AGHM.docx

CS27 : POIKTMP (Poikilodermie héréditaire fibrosante avec Myopathie rétractile et Fibrose Pulmonaire) liée à des variations dans le gène FAM111B: un nouvel exemple d'oncogène impliqué dans une maladie constitutionnelle?

Auteurs :

Martin Broly (1), Anne Bigot (2), Virginie Vignard (3), Thomas Besnard (4), Véronique Blouin (5), Amandine Caillaud (3), Laurent David (6), Jamila Dhiab (2), Anne Gaignerie (6), Sébastien Küry (7, 3), Caroline Le Guiner (5), Marie Mooney (8), Negroni Elisa (2), Linda Poiraudau (5), Karim Si-Tayeb (3), Stéphane Bézieau (1, 3), Vincent Mouly (2), Erica Davis (9, 10), Sandra Mercier (7, 3)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Sorbonne Université, Myology Research Center, UM76 and INSERM U974, Institut de Myologie, Paris, France
3. L'institut du thorax, INSERM, CNRS, Université de Nantes, Nantes, France
4. CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Moléculaire, , Nantes, France
5. INSERM UMR 1089, Translational Gene Therapy for Genetic Diseases, Université de Nantes, Nantes, France
6. SFR-SANTE, iPSC core facility, INSERM, CNRS, Université de Nantes, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
8. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, NC, Etats-Unis
9. Advanced Center for Translational and Genetic Medicine (ACT-GeM), Stanley Manne Children's Research Institute, Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital of Chicago, Chicago, IL, Etats-Unis
10. Departments of Pediatrics and Cell and Molecular Biology, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, IL, Etats-Unis

Mots clefs : FAM111B, poikilodermie, myopathie, fibrose pulmonaire, oncogène, cycle cellulaire, cancer, insuffisance pancréatique, RNA-seq, souris, poisson zèbre

Résumé :

Le syndrome POIKTMP [MIM 615704] est une entité rare, décrite en 2013 par notre équipe, liée à des variants dans le gène *FAM111B* (NM_198947.3) de fonction jusqu'alors inconnue. Elle est caractérisée principalement par (i) une atteinte dermatologique : poikilodermie précoce, hypotrichose et hypohidrose, (ii) une myopathie rétractile, (iii) une atteinte pulmonaire : syndrome restrictif, fibrose pulmonaire, (iv) une atteinte pancréatique : insuffisance exocrine, prédisposition à l'adénocarcinome. L'examen histologique montre une atrophie musculaire avec infiltration graisseuse, sans plage de nécrose et un aspect sclérodermiforme de la peau. A ce jour, les 7 variants faux-sens pathogènes identifiés dans 14 familles (30 cas rapportés dont 10 cas sporadiques) sont localisés dans le domaine trypsine-like cystéine/serine peptidase de la protéine. Un mécanisme de gain de fonction ou de variation dominante négative induisant un changement de l'activité catalytique de FAM111B a été proposé.

Pour explorer l'impact fonctionnel des variants décrits, une analyse transcriptomique par RNA-seq a été réalisée à partir de fibroblastes de deux patients. Du fait d'un chevauchement phénotypique entre le syndrome de Rothmund Thompson (causé par des variations dans le gène *RECQL4*) et le syndrome POIKTMP, notre attention s'est d'abord portée sur les partenaires protéiques significativement sur- ou sous-régulés (p-value ajustée < 0.05) de FAM111B et RECQL4. Parmi ces partenaires, nous avons identifié un réseau moléculaire de 61 protéines toutes sur-régulées et impliquées dans les voies métaboliques de prolifération cellulaire ou de contrôle du cycle cellulaire, ce qui est concordant avec (i) la forte expression de FAM111B en phase S du cycle cellulaire, et (ii) le caractère oncogène potentiel de FAM111B, cible directe de P53, qui ont été récemment décrits. Ces voies sont en cours d'étude sur cellules souches de patients de type iPSC (induced Pluripotent Stem Cells) permettant le monitoring *in vitro* de leur comportement. D'autre part, des analyses protéomiques haut débit sont en cours afin de confirmer les résultats obtenus par l'analyse RNA-seq et déterminer si un marqueur diagnostique de la maladie peut être identifié. En parallèle, des études sur modèle animal ont été menées en injectant le transcrit humain muté de *FAM111B* dans des embryons de poisson-zèbre et chez des souris Rag2^{-/-} Il2rb^{-/-}. Malgré l'absence d'orthologue dans ces deux espèces, nous avons observé une réduction du calibre de la fibre musculaire chez le poisson-zèbre et des signes majeurs de régénération musculaire à 1 mois et 3 mois post-injection dans le tibia antérieur chez la souris.

Finalement, ces données nous confortent vers un rôle essentiel de FAM111B au cours du cycle cellulaire et d'un gain de fonction dans le syndrome POIKTMP. Des pistes thérapeutiques sont envisagées notamment l'association aspirine-metformine qui pourrait réduire l'expression de FAM111B et améliorer le phénotype des patients.

CS28 : Compound heterozygous mutations in the LOXL4 gene: a novel cause of contractural myopathy

Auteurs :

Enzo Cohen (1), Isabelle Nelson (1), Corine Gartioux (1), Maud Beuvin (1), Zaineb Mezdari (1), Fanny Roth (1), Rabah Ben Yaou (1, 2), Susana Quijano-Roy (3, 4), Tanya Stojkovic (1, 5), Robert-Yves Carlier (6), Valérie Allamand (1), Gisèle Bonne (1)

1. Sorbonne Université, Inserm UMRS974, Centre de Recherche en Myologie, Institut de Myologie, Paris, France
2. APHP, Centre de référence de pathologie neuromusculaire, FILNEMUS, Institut de Myologie, Département de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. APHP, Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, Service de Neurologie, Réanimation et Rééducation Pédiatriques, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France
4. Inserm UMR 1179, Université Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, Montigny-le-Bretonneux, France
5. APHP, Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, Service de Neurologie, Réanimation et Rééducation Pédiatriques, Centre de Recherche en Myologie, Institut de Myologie, Paris, France
6. APHP, Medical Imaging Department, Raymond Poincaré teaching Hospital, Garches, GHU Université Paris-Saclay, U1179 UVSQ, Paris-Saclay, France

Mots clefs : extracellular matrix, contractural myopathy, collagen, lysyl-oxidase, cellular models

Résumé :

Joint contractures are recurrent and sometimes prominent features in neuromuscular disorder, most notably in extracellular matrix (ECM)-related myopathies, such as COL6-related muscle disorders. Here, we report a patient with an atypical clinical presentation of congenital arthrogryposis, associated with distal hyperlaxity, proximal muscle deficit, lack of facial expression, dysphonia, dysphagia, oculo-motor anomalies, dorsal kyphosis, lordosis and preserved respiratory function. Immunostaining of skin-derived fibroblasts demonstrated a subtle impairment of COLVI secretion, with no mutation in the *COL6A1-3* genes identified. Accordingly, whole body MRI was performed at 15, 21 and 24 years of age and remained quite normal without any COL6-RD-compatible pattern. Using whole-exome sequencing analysis, we ruled out the implication of any known myopathy-associated gene. Interestingly, we identified compound heterozygous missense variants (c.1747 C > T; p.Arg583Cys and c.1789 C > T; p.Arg597Cys) in the *LOXL4* gene encoding lysyl oxidase-like 4.

LOXL4 is a member of the LOX protein family, which are secreted copper-dependent amine oxidases that catalyse collagen and elastin cross-linking. Together with collagens, LOXs proteins participate in ECM synthesis and maintenance in a tissue-specific manner. Both rare variants identified alter residues of the highly conserved LOX catalytic domain and are predicted as deleterious. Additionally, transient expression of each variant in cell lines and human primary fibroblasts, impeded LOXL4 secretion into the medium. Furthermore, our data suggest that variant-derived protein accumulation in the cytoplasm could trigger the unfolded protein response, likely through IRE1/PERK pathways. Taken together, our results provide reasonable evidence toward the pathogenicity of these variants as a direct cause of genetic connective tissue disorder.

CS29 : Une nouvelle glycogénose musculaire causée par une mutation dominante dans le gène de la myophosphorylase (PYGM)

Auteurs :

Andoni Echaniz-Laguna (1), Xavière Lornage (2), Evelina Edelweiss (2), Pascal Laforet (3), John Vissing (4), Jocelyn Laporte (2), Johann Böhm (2)

1. Service de neurologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France, Paris, France

2. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), Inserm U1258, CNRS UMR7104, Université de Strasbourg, Illkirch, France, Strasbourg, France

3. Service de Neurologie, centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, Paris, France

4. Copenhagen Neuromuscular Center, Rigshospitalet, University of Copenhagen, Denmark, Copenhagen, Denmark

Mots clefs : glycogénose, myophosphorylase, myopathie

Résumé :

Glycogen synthesis and breakdown are regulated by a subset of enzymes, and impaired enzymatic reactions in the cytosol or in the lysosomes result in severe disorders referred to as glycogen storage diseases (GSD). All previously described human GSDs segregate as recessive or X-linked traits. Here we describe a GSD family with thirteen affected members and a dominant disease transmission over four generations. The affected individuals presented with adult-onset proximal muscle weakness, and the biopsies showed fiber size variability, vacuoles, and especially glycogen accumulations. Exome sequencing uncovered the heterozygous c.1915G > C (p.Asp639His) mutation in *PYGM*, encoding myophosphorylase. Recessive *PYGM* mutations leading to myophosphorylase deficiency cause McArdle disease, the most common GSD. However, western blot revealed comparable myophosphorylase levels in muscles from our patients and from control, demonstrating that the p.Asp639His mutation does not interfere with mRNA or protein stability and consequently involves a different pathomechanism than McArdle disease. Myophosphorylase immunolocalization on muscle sections from our patients uncovered aggregations of myophosphorylase and sequestration of desmin within the myofibers. To investigate the functional impact of the p.Asp639His mutation, we produced recombinant WT and mutant myophosphorylase. Sedimentation velocity experiments demonstrated an increased propensity of mutant myophosphorylase to form higher-order polymers, highlighted a disparity in the tetrameric forms of WT and mutant myophosphorylase, and enzymatic tests revealed an impaired activity of the p.Asp639His myophosphorylase. Overall, the dominant *PYGM* mutation involves a different pathomechanism than McArdle disease and defines a novel class of GSDs.

CS30 : Nouveautés diagnostiques et thérapeutiques dans le déficit en transporteur du glucose GLUT1

Auteurs :

Camille Giron (1), Elodie Hainque (2), Domitille Gras (3), Aurélie Meneret (4), Mathilde Lalaude (5), Mariana Atencio (5), Manon Nizou (6), Sandrine Vuillaumier (7), Marie-Pierre Luton (5), Emmanuel Roze (2), Fanny Mochel (8)

1. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
2. Département des Maladies du Système Nerveux, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Département des Maladies du Système Nerveux, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
5. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
6. Metafora Biosystems, Metafora Biosystems, Evry, France
7. Laboratoire de Biochimie et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
8. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Glut1; épilepsie; biomarqueur; thérapie

Résumé :

Le déficit en transporteur du glucose GLUT1 (GLUT1-DS) est responsable d'une carence énergétique cérébrale due à une altération du transport du glucose dans le cerveau. GLUT1-DS se manifeste par un large spectre de symptômes neurologiques dont une déficience intellectuelle, une épilepsie et des troubles moteurs permanents et/ou paroxystiques. Le diagnostic repose sur une ponction lombaire (hypoglycorrachie) et la présence d'un variant (souvent faux-sens *de novo*) du gène *SLC2A1*. Le diagnostic est d'autant important que GLUT1-DS est traitable. Classiquement, le régime cétogène permet un bon contrôle des crises d'épilepsie et dans une moindre mesure des mouvements anormaux.

Du fait de nombreuses formes atypiques de la maladie (épilepsie ou déficience ou mouvement anormal isolé), du caractère invasif de la ponction lombaire, et de l'interprétation parfois difficile des variants *SLC2A1*, nous avons développé un test sanguin (MetaGlut) non invasif, simple et rapide, permettant de détecter la quantité de protéine Glut1 à la surface des érythrocytes. Dans une première étude chez 30 patients GLUT1-DS, nous avons montré que 23 patients (78%) étaient détectés par le test MetaGlut (Gras et al, Ann Neurol 2017). Nous présentons ici les résultats de la performance du test MetaGlut dans une nouvelle cohorte de 48 patients GLUT1-DS : 42 patients (87,5%) sont détectés, dont 4 patients avec une analyse génétique non contributive.

Compte tenu des difficultés d'observance du régime cétogène au long cours, en particulier chez les adolescents et les adultes, nous avons testé l'efficacité d'une intervention thérapeutique par la triheptanoïne. Il s'agit d'un triglycéride à chaîne moyenne mais nombre impair de carbones, apportant à la fois de l'acetyl-CoA mais également du propionyl-CoA au cycle de Krebs. Dans une première étude chez des patients GLUT1-DS présentant des mouvements anormaux paroxystiques après échec ou refus du régime cétogène, nous avons observé une diminution de 90% des épisodes paroxystiques après 2 mois de traitement par triheptanoïne (Mochel et al, J Neurol Neurosurg Psychiatry 2016). Nous présentons ici l'évolution à long terme de ces patients traités depuis plus de trois ans par triheptanoïne avec une réponse thérapeutique de 97% sur les épisodes paroxystiques. Nous présentons également une série de 4 patients GLUT1-DS, traités par régime cétogène mais présentant des manifestations paroxystiques résiduelles, chez qui le régime cétogène a été progressivement arrêté et remplacé par la triheptanoïne. Chez 3 patients, la transition a été possible et a permis un meilleur contrôle des mouvements anormaux paroxystiques.

En conclusion, nous proposons de réaliser un test MetaGlut chez tout patient présentant une déficience intellectuelle, une épilepsie, un syndrome cérébelleux, une dystonie et/ou des mouvements anormaux paroxystiques. La triheptanoïne est par ailleurs une alternative thérapeutique au régime cétogène chez les patients GLUT1-DS.

Pièce jointe : Abstract Assises Génétique Tours.docx

CS31 : Intérêt théranostique de la réalisation d'un exome et du séquençage de l'ARNm à visée pour les patients porteurs de tumeurs solides : expérience de la RCP moléculaire de l'APHP

Auteurs :

Geraldine PERKINS (1), Gimenez-Roqueplo Anne-Paule (1), Hélène Blons (2), Karen Leroy (3), Vincent Fallet (4), Valerie Gounant (5), Fabre Elizabeth (6), Julien Taieb (7), Nadia Younan (8), Mehdi Touat (8), Marc Sanson (8), Jerome Alexandre (9), Pascaline Boudou-Rouquette (9), Guillaume Assié (10), Jacques Medioni (11), Martine Antoine (12), Laure Gibault (13), Audrey Mansuet-Lupo (14), Nelly Burnichon (15), Florence Coulet (16), Patrick Benusiglio (17), Roger Lacave (18), Simon Garinet (19), Delphine Le Corre (20), Birot Anne-Marie (1), Lahlou-Laforet Khadija (21), Jacques Cadranel (4), Pierre Laurent-Puig (19)

1. Oncogénétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Pharmacogénétique et Oncologie Moléculaire, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Biologie moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
4. pneumologie, Hôpital Tenon, Paris, France
5. Oncologie thoracique, Hôpital Bichat, Paris, France
6. Oncologie thoracique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
7. Oncologie digestive, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
8. Neurologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Oncologie médicale, Hôpital Cochin, Paris, France
10. Endocrinologie, Hôpital Cochin, Paris, France
11. Oncologie médicale, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
12. Anatomopathologie, Hôpital Tenon, Paris, France
13. Anatomopathologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
14. Anatomopathologie, Hôpital Cochin, Paris, France
15. génétique biologique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
16. ontogénétique moléculaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
17. Oncogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
18. Biologie moléculaire, Hôpital Tenon, Paris, France
19. Biologie moléculaire, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
20. INSERM 1147, Université Paris Descartes, Paris, France
21. Psychologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France

Mots clefs : RCP moléculaire; théranostique; exome; séquençage de l'ARNm

Résumé :

Depuis 2014, les dossiers des patients atteints de tumeurs solides en échec thérapeutique sont présentés à la RCP moléculaire de l'APHP (comité multidisciplinaire multi site) afin de discuter l'indication d'une analyse moléculaire étendue (séquençage de l'exome et de l'ARNm : RNAseq) à visée théranostique. Les analyses sont financées par deux programmes du Cancéropôle Ile-de-France, dont le programme EXORARE pour les tumeurs rares. Lorsque l'indication est posée, les patients sont rapidement vus en consultation d'oncogénétique pour une information, portant notamment sur les données incidentes. L'analyse de l'ADN constitutionnel a été réalisée à partir d'un prélèvement sanguin, de l'ADN tumoral à partir de tumeurs congelées ou incluses en paraffine, de l'ARNm tumoral à partir de tumeurs congelées.

Un total de 328 dossiers a été discuté entre septembre 2014 et septembre 2019. Cent-vingt-cinq dossiers ont été retenus. L'analyse moléculaire a été réalisée chez 109 d'entre eux. Les raisons de l'absence d'analyse étaient une qualité insuffisante du matériel tumoral (9 cas) et une dégradation clinique rapide (3 cas). Quatre résultats sont en attente. 48 tumeurs pulmonaires, 19 tumeurs coliques, 19 tumeurs cérébrales, 12 sarcomes et 11 autres tumeurs rares ont été analysées. 107 tumeurs congelées ont été analysées par exome et RNAseq. 10 tumeurs incluses en paraffine ont été analysées par exome seul. Le délai médian de rendu des résultats est de 21 jours, après réception des acides nucléiques sur la plateforme de séquençage.

Des altérations ciblables ont été identifiées dans 81 tumeurs. Les voies de signalisation impliquées étaient les voies HER/RAS/MAPK ou PTEN/PI3K/AKT/STK1, le remodelage de la chromatine ARID1A/ARID2/EZH2, la réparation de l'ADN ATR/ATRAX/ATM/BRCA1/BRCA2. Quatre réarrangements chromosomiques (gènes de fusion) ciblables impliquant *RET*, *ROS1*, *RAF1* ou *NRG1* ont été identifiés. Au total, 16 patients ont pu bénéficier d'une thérapie ciblée dont 8 dans le cadre d'un essai thérapeutique. Deux diagnostics (mélanome, sarcome d'Ewing) ont été précisés par le résultat moléculaire. Une mutation constitutionnelle a été identifiée chez 11 patients.

Le bilan de cette RCP moléculaire montre la faisabilité de cette approche en diagnostic et son intérêt dans des cas sélectionnés pour l'identification de nouvelles options thérapeutiques.

**CS32 : Etude des gènes de réparation de l'ADN par recombinaison homologue dans le cancer de la prostate à des fins
d'orientation thérapeutique : retour d'expérience sur 148 Patients**

Auteurs :

Etienne Muller (1), Nicolas Goardon (1), Angéline Legros (2), Robin Fouillet (2), Aude Lamy (3), Julien Levilly (4), Aurore Tranchant (2), Florian Domin (2), Imene Chentli (1), Elodie Coquan (5), Thibaut Lavolé (1), Alexandre Atkinson (1), Agathe Ricou (1), Sophie Krieger (6), Laurent Castéra (1), 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. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
3. Laboratoire de génétique du cancer, département de Pathologie, CHU, Rouen, France
4. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, Centre François Baclesse, Caen, France
5. Service de recherche Clinique, Centre François Baclesse, Caen, France
6. 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

Mots clefs : tumeurs, prostate, recombinaison homologue, BRCAness, essais clinique, PARPi

Résumé :

Le cancer de la prostate apparaît comme le cancer le plus fréquent chez l'homme, représentant plus de 23% des cas de cancer. Malgré une baisse globale de son incidence et de la mortalité, son évolution métastatique et résistante à la castration (mCRPC : metastatic castration-resistant prostate cancer) est associée à un taux de survie à 5 ans de l'ordre de 31%. La caractérisation moléculaire des mCRPC a pu montrer que jusqu'à 30% de ces cancers présentent des variants pathogènes dans les gènes de réparation à l'ADN, dont ceux participant à la recombinaison homologue, principalement représentés par les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Ces variants confèrent une sensibilité à une classe récente de thérapies ciblées que sont les inhibiteurs de PARP. Ces molécules, aujourd'hui d'utilisation courante dans le traitement de maintien des cancers de l'ovaire, semblent aussi efficaces dans les mCRPC « BRCA-déficients ». Des études récentes telle que l'essai PROFound dans le mCRPC suggèrent que l'inactivation d'autres gènes participant à la recombinaison homologue peuvent aussi conférer une sensibilité aux inhibiteurs de PARP.

Dans ce contexte, le Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer du Centre François Baclesse a développé en 2017 une analyse des défauts de réparation à l'ADN par séquençage à haut-débit, sur un panel de 69 gènes participant majoritairement à la recombinaison homologue. A ce jour, 148 patients atteints d'un mCRPC ont bénéficié de cette analyse afin de permettre leur inclusion dans des essais cliniques. Pour 42% des patients analysés, un variant pathogène a pu être identifié. 4% des patients possédaient un variant des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, mais aussi 9,5% sur *ATM*, 5,4% sur *CDK12* ou encore 2,7% sur *CHEK2* ou *PALB2*. D'autres voies de signalisation avec un intérêt thérapeutique potentiel ont aussi été explorées. Ainsi, des variants pathogènes de *PTEN* ont pu être identifiés chez 10% des patients, et chez 6,7% concernant *PIK3CA*. Enfin, 13% des analyses se sont révélées non interprétables, majoritairement en raison d'une quantité d'ADN trop faible pour pouvoir réaliser une analyse de qualité. En considérant tous les gènes de notre panel impliqués dans la recombinaison homologue, la proportion de patients possédant un variant pathogène atteint 20%, pouvant permettre une orientation thérapeutique vers les inhibiteurs de PARP. D'autre part, 17% des patients possédaient un variant pathogène sur les gènes de la voie PI3K/AKT/mTOR, ouvrant aussi l'accès potentiel à des thérapies ciblées autres.

L'élargissement de l'exploration des cibles moléculaires actionnables dans le mCRPC pourrait ainsi, en concordance avec les résultats des essais cliniques récents, permettre à une proportion importante des patients de bénéficier de possibilités thérapeutiques les plus adaptées.

Pièce jointe : Abstract_Assises2019_BRCAness_V3.docx

CS33 : Profil génétique des carcinomes rénaux à cellules chromophobes et caractérisation immunohistochimique de l'implication de la voie de signalisation mTOR dans leur tumorigenèse.

Auteurs :

Aurélien Morini (1, 2), Tom Drossart (2), Marc-Olivier Timsit (3, 2), Arnaud Mejean (4), Constance Thibault (5, 2), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (6, 2), Judith Favier (2), Virginie Verkarre (1, 2), Nelly Burnichon (6, 2)

1. Laboratoire de Pathologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. INSERM, Equipe Labellisée par la Ligue contre le Cancer, PARCC, Université Paris, Paris, France
3. Service d'Urologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
4. Service d'Urologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Service d'Oncologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
6. Laboratoire de Génétique, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Mots clefs : Carcinomes rénaux à cellules chromophobes, séquençage NGS, validation immunohistochimique, Tissue MicroArray, voie mTOR

Résumé :

Introduction :

Les Carcinomes Rénaux à Cellules Chromophobes (ChRCC) sont des tumeurs rares, représentant 5 à 10 % des tumeurs du rein. Leur profil génétique est peu connu mais l'étude du TCGA de 2014 avait notamment retrouvé des altérations génétiques somatiques au sein de gènes codant pour des protéines impliquées dans la voie de signalisation mTOR. L'objectif de notre étude était d'effectuer une caractérisation génétique précise d'une cohorte de ChRCC, complétée par un phénotypage immunohistochimique, tout en clarifiant le rôle de la voie mTOR.

Matériel et méthodes :

A partir d'une cohorte monocentrique rétrospective de 247 cas ChRCC, opérés dans les hôpitaux Necker et Georges Pompidou (Paris) entre 2001 et 2018, nous avons sélectionné 20 cas représentatifs de ChRCC non métastatiques, pour lesquels leurs profils génétiques et immunohistochimiques ont été étudiés.

Nous avons réalisé l'étude génétique somatique (ADNs tumoraux extraits de fragments congelés) et constitutionnelle (ADNs leucocytaires) par séquençage nouvelle génération. Nous avons utilisé un panel maison (SeqCap EZ HyperCap, Roche®) ciblé de 29 gènes incluant les gènes de prédisposition aux tumeurs du rein et de la tumorigenèse rénale comprenant *FLCN*, *PTEN*, *TP53*, *TSC1*, *TSC2* et *MTOR*. Un bloc de Tissue MicroArray (TMA) a été construit, regroupant 40 échantillons (fixés en formol et inclus en paraffine) des 20 tumeurs (2 par tumeur) avec leur tissu rénal sain correspondant. Nous avons effectué l'étude immunohistochimique avec des anticorps ciblant les protéines pour lesquelles des altérations génétiques avaient été identifiées ainsi que Akt, Akt-P, p70S6K, p70S6K-P et 4EBP1-P, protéines de la voie de signalisation mTOR. Le marquage a été évalué à l'aide d'un H-score (intensité (de 0 à +3) multipliée par le pourcentage de cellules marquées).

Résultats :

Six variations d'intérêt ont été identifiées au niveau somatique (5 sur le gène *TP53* et une sur *MTOR*) ainsi qu'une variation constitutionnelle du gène *TSC2*. L'immunomarquage de la protéine TP53 n'a pas permis de discriminer les tumeurs mutées des autres tumeurs. En revanche, les 2 tumeurs porteuses d'une altération génétique dans la voie mTOR, présentaient un marquage fort des protéines ciblant cette voie, comparativement au tissu rénal sain, et aux 18 autres tumeurs, où le marquage était faible ou absent.

Conclusion :

Les mutations du gène *TP53* sont les plus fréquemment impliquées dans la tumorigenèse des ChRCC, mais non prédictibles par une étude immunohistochimique. En revanche, il existe une excellente corrélation entre l'expression immunohistochimique des protéines Akt, Akt-P, p70S6K, p70S6K-P et 4EBP1-P, et les altérations génétiques de la voie mTOR. Une étude plus large, portant sur l'ensemble de la cohorte et incluant des formes métastatiques de ChRCC, est en cours, ce qui pourrait permettre de mieux évaluer l'impact d'altérations dans la voie mTOR comme marqueurs pronostics et prédictifs chez les patients atteints de ChRCC.

CS34 : Evaluation multicentrique en « vraie vie » de l'impact du séquençage haut débit sur la prise en charge des patients atteints d'hémopathie maligne myéloïde.

Auteurs :

Sophie Vantighem (1), Pierre Peterlin (2), Sylvain Thépot (3), Audrey Ménard (1), Viviane Dubruille (2), Camille Debord (1), Thierry Guillaume (2), Soraya Willeme (1), Amandine Le Bourgeois (2), Alice Garnier (2), Catherine Godon (1), Olivier Theisen (1), Marion Eveillard (1), Jacques Delaunay (4), Hervé Maisonneuve (5), Nadine Morineau (5), Bruno Villemagne (5), Stéphane Vigouroux (5), François Subiger (6), Elsa Lestang (7), Marion Loirat (7), Anne Parcelier (8), Pascal Godmer (8), Mélanie Mercier (8), Adrien Trebouet (9), Lenaig Le Clech (10), Ronan Le Calloch (10), Céline Bossard (11), Anne Moreau (11), Valérie Ugo (12), Mathilde Hunault (3), Philippe Moreau (2), Steven Le Gouill (2), Patrice Chevallier (2), Marie C Béné (13), Yannick Le Bris (13, 14)

1. Hématologie biologie, CHU Nantes, Nantes, France
2. Hématologie clinique, CHU Nantes, Nantes, France
3. Hématologie clinique, CHU Angers, Angers, France
4. Hématologie clinique, Goupe Confluent, Nantes, France
5. Hématologie clinique, CHD Vendée, La Roche S/ Yon, France
6. Hématologie biologie, CHD Vendée, La RocheS/ Yon, France
7. Hématologie clinique, CH St Nazaire, St Nazaire, France
8. Hématologie clinique, CH Vannes, Vannes, France
9. Hématologie clinique, CH Lorient, Lorient, France
10. Hématologie clinique, CH Quimper, Quimper, France
11. Anatomopathologie, CHU Nantes, Nantes, France
12. Hématologie biologie, CHU Angers, Angers, France
13. Hématologie Biologique, CHU de Nantes, Nantes, France
14. CRCNA, UMR1232, INSERM, Nantes, France

Mots clefs : NGS myélodysplasie syndrome myéloprolifératif

Résumé :

Le développement du séquençage haut-débit (*next generation sequencing*, NGS) a permis d'améliorer la connaissance du paysage génomique des hémopathies malignes. Les nouveaux biomarqueurs que sont les mutations somatiques (MS) n'ont cependant pas encore trouvé leur place dans la stratégie diagnostique et thérapeutique. Cette étude observationnelle multicentrique a évalué l'impact des MS détectées en NGS sur la prise en charge des hémopathies myéloïdes chroniques (HMC).

Tous les patients ayant bénéficié d'une étude moléculaire, prescrite en réunion de concertation pluridisciplinaire, entre Octobre 2014 et Mars 2019 ont été inclus. Un panel de 34 gènes a été appliqué à l'analyse d'ADN de sang périphérique ou de moelle osseuse selon une méthode Haloplex avec la technologie MiSeq Illumina.

Dans un premier groupe (A, N=94) cette analyse visait à la recherche d'une hématoïèse clonale (HC) pour confirmer ou infirmer un diagnostic d'ICUS (Idiopathic Cytopenia of Undetermined Significance) ou CCUS (*Clonal Cytopenia of Undetermined Significance*, N=37) de syndrome myélodysplasique (SMD) de syndrome mixte MDS/NMP(N=16), d'anémie réfractaire (N=16) ou de néoplasie myéloproliférative (NMP, N=25) sur la base des recommandations OMS. Dans un second groupe (B), le but était de mesurer l'impact thérapeutique des MS en fonction des données de la littérature.

Au sein du groupe A (N=94), les anomalies principales étaient des cytopénies (68%), une thrombocytose (16%) ou une monocytose (13%). Un caryotype normal avait été retrouvé pour 77% des patients et était non informatif pour 5%. Une HC a été observée chez 31 patients, confirmant un diagnostic de HMC. A l'inverse, l'absence d'HC (N=63) a permis d'exclure l'hypothèse diagnostique initiale dans 50% des cas, tandis qu'aucune information décisive n'était apportée pour 16 patients.

Au sein du groupe B (N=95), des MS pronostiques ont été retrouvées pour 33% des patients, de mauvais pronostic pour 24 d'entre eux. Ces observations ont eu un impact thérapeutique pour 18 patients, avec une greffe de cellules souches hématopoïétiques pour 12 et l'initiation d'un traitement par agent déméthylant pour 1. A l'inverse, une désescalade a pu être proposée à 5 patients avec des marqueurs de bon pronostic ou l'absence de marqueurs de mauvais pronostic.

Au total, l'utilisation du NGS, de façon raisonnée après décision collective, a conduit dans cette étude de vie réelle à l'obtention d'un diagnostic intégré formel dans 83% des cas pour le groupe de patients étudiés à visée diagnostique, avec 33% de confirmation et 50% d'exclusion de l'hypothèse initiale. Il est critique de considérer ces analyses en séquençage haut débit dans le contexte des autres explorations. De plus, dans la cohorte à visée thérapeutique, les résultats du NGS ont conduit à une modification de la prise en charge du patient dans 19% des cas, toujours en prenant en compte l'ensemble des données cliniques et biologiques de chaque patient.

Pièce jointe : Assises 2020.docx

CS35 : Données cliniques et moléculaires issues de la base de données du consortium européen "Care for CMMRD" à propos de 88 patients CMMRD (constitutional mismatch repair deficiency) : discussion des aspects digestifs et du chevauchement phénotypique avec le s

Auteurs :

Chrystelle Colas (1), Hélène Delhomelle (2), Marine Le Mentec (1), Bruno Buecher (1), Jérôme Viala (3), Edouard Cottereau (4), Delphine Bonnet (5), Thierry Frébourg (6), Laurence Faivre (7), Sophie Lejeune (8), Natacha Entz-Werle (9), Julie Tinat (10), Françoise Desseigne (11), Dominique Leroux (12), Arnault Verschuur (13), Nicolas Janin (14), Christine Devalck (15), Sheila Unger (16), Amal Benmoussa (17), Edita Kabickova (18), Maurizio Genuardi (19), Daniel Rueda (20), Yael Goldberg (21), Zohar Levi (22), Clara Ruiz Ponte (23), Danuta Januszkiewicz-Lewandowska (24), Martine Muléris (25), Katharina Wimmer (26), Hans Vasen (27), Laurence Brugières (28)

1. Département de Génétique, PSL Research University, Institut Curie, PARIS, France
2. Département de Génétique, PSL Research University, Institut Curie, Saint Cloud, France
3. Service de Gastro-entérologie et Nutrition Pédiatrique, Hôpital Universitaire Robert-Debré. APHP, PARIS, France
4. Oncogénétique, CHRU Trousseau, Tours, France
5. Gastroentérologie, CHU Purpan, Toulouse, France
6. Département de Génétique et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, , , CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
7. Génétique Médicale, CHU Dijon Bourgogne,, Dijon, France
8. Service de génétique clinique, CHRU Lille, Lille, France
9. Oncopédiatrie, Les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg,, Strasbourg, France
10. Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Oncogénétique, Centre Léon Berard, , Lyon, France
12. Génétique, CHU, Grenoble,, Grenoble, France
13. Oncopédiatrie, Hôpital de la Timone, Marseille, France
14. Génétique, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique
15. HUDERF, ULB, Bruxelles, Belgique
16. Génétique, Centre hospitalier universitaire vaudois, Lausanne, Suisse
17. Génétique, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc
18. Génétique, University Hospital, Prague, République tchèque
19. Génétique, Policlinico Universitario A. Gemelli,, Rome, Italie
20. Génétique, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Espagne
21. Recanati institute of genetics, Rabin Medical Center, Petah Tikva, Israël
22. Gastroenterology Institute, Rabin Medical Center, Petah Tikva, Israël
23. Génétique, Fundacion Pública Galega de Medicina Xenomica, Santiago Compostela, Espagne
24. Department of Pediatric Oncology, Hematology and Bone Marrow Transplantation, Poznań University of Medical Sciences, Poznań, Pologne
25. INSERM U938, Pierre et Marie Curie University, PARIS, France
26. Génétique, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Autriche
27. Gastroenterology, Leiden University Medical Centre, Leiden, Pays-Bas
28. Oncopédiatrie, Gustave Roussy cancer campus, Villejuif, France

Mots clefs : CMMRD, Cancers digestifs, Adénomes, base de donnée, C4CMMRD, Syndrome de Lynch

Résumé :

Le syndrome CMMRD (Constitutional Mismatch Repair Deficiency), dû à des mutations bialléliques constitutionnelles dans un des 4 gènes MMR, est caractérisé par des tumeurs multiples et précoces qui incluent des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch. A partir des données de la base européenne du consortium Care For CMMRD (C4CMMRD) nous rapportons la présentation clinique et moléculaire de 88 patients CMMRD avec une description plus particulièrement ciblée sur les aspects digestifs.

Parmi les 156 tumeurs développées par ces patients, on note 39 cancers digestifs, principalement, mais pas exclusivement, au niveau colorectal. Ces cancers sont rapportés chez 28 patients avec un âge médian de 17,5 ans (7-33). Ce type de cancer était la première manifestation de la maladie pour 14 patients et la cause de décès pour 7 patients. Toutes les tumeurs digestives analysées, sauf deux, présentaient une instabilité des microsatellites et toutes, sauf une, une immunohistochimie anormale dans la tumeur. Seulement la moitié d'entre elles présentaient également une perte en tissu sain. Nous disposons des données endoscopiques pour 33 patients. Des adénomes coliques sont rapportés chez tous sauf un, le plus jeune à l'âge de 9 ans. Plus de la moitié de ces patients avait des adénomes multiples (> 10) et tous au moins un adénome avancé. Enfin certaines situations cliniques illustrent un chevauchement phénotypique entre le syndrome CMMRD et le syndrome de Lynch qui peut compliquer le diagnostic.

En conclusion, les patients CMMRD ont une atteinte sévère y compris au niveau digestif avec de multiples adénomes et des cancers précoces à la fois au niveau colique mais aussi sur le reste du tube digestif. Un dépistage précoce et intensif de ces lésions est nécessaire car leur résection permettrait d'éviter leur dégénérescence. Des recommandations de surveillance ont été publiées par le consortium C4CMMRD en 2014 et sont en cours d'évaluation. Le continuum clinique entre syndrome CMMRD et syndrome de Lynch suggère un continuum moléculaire dont le mécanisme est encore en cours d'exploration.

CS36 : Apports des Unique Molecular Index pour la détection de mosaïque germinale par NGS : retour d'expérience dans la néoplasie endocrinienne multiple de type 1.

Auteurs :

Arnaud Lagarde (1, 2), Amira Mohamed (2), Antoine Tabarin (3), Catherine Roche (2), Brigitte Delemer (4), Anne Barlier (1, 2), Pauline Romanet (1, 2)

1. MMG, Aix Marseille Univ, INSERM, Marseille, France
2. Laboratoire de biologie moléculaire, hôpital de La Conception, Marseille, France
3. Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Maladies Métaboliques, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service d'Endocrinologie-Diabète-Nutrition, Hôpital Robert Debré, Reims, France

Mots clefs : mosaïcisme, digital-NGS, NEM1, UMI, MEN1

Résumé :

La néoplasie endocrinienne multiple (NEM1) est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante, due à des anomalies du gène *MEN1*, qui se caractérise par l'association de plusieurs lésions du système endocrines : hyperparathyroïdie (HPT, 90-95%), tumeurs neuroendocrines digestives (TNED, 30-70%), adénomes hypophysaires (HYP, 30-40%), parfois associées à des lésions dites mineures : adénomes surrénaliens, tumeurs carcinoïdes, thymomes ... (1,2). Les analyses constitutionnelles classiques, séquençage et MLPA, sont positives chez plus 90% des patients présentant une NEM1 cliniquement bien authentifiée (1). Quelques cas de mosaïcisme ont été décrits pour le gène *MEN1*, principalement mis en évidence lors de la transmission de la maladie à la descendance (3-5). L'utilisation d'une librairie ciblée QIAseq Targeted DNA Panels (Qiagen) incluant des UMIs (unique molecular index), permet de descendre le seuil de détection des mutations de faible fréquence allélique (FA) en éliminant les erreurs de séquençage. Les UMIs sont constitués de séquences uniques aléatoires (4^{12} possibilités) permettant d'identifier les copies générées à partir d'un même fragment d'ADN au cours des étapes de PCR. Un traitement bio-informatique spécifique avec le logiciel CLC Genomics Workbench (Qiagen) permet de dissocier les reads uniques (ou singleton) des duplicats de PCR, en éliminant les discordances au sein des duplicats de PCR.

Au cours de notre activité de diagnostic, nous avons ainsi mis en évidence 3 variants pathogènes en mosaïque chez des patients atteints de NEM1 (séquençage sur MiseqDx (Illumina)) dont l'analyse par séquençage Sanger + MLPA de première intention était négative. La présence de la variation pathogène a été confirmée par une seconde technique ou sur un second prélèvement.

Patient #1 : HPT à 28 ans, tumeur carcinoïde médiastinale à 35 ans, Hyp à 37 ans

MEN1 NM_130799.2: c.375_376delAT, p.(Ile125fs*54) FA= 5.7 % (profondeur 875X)

Patient #2 : HPT, thymome à 44 ans

MEN1 : c.496C>T, p.(Gln166*) FA= 9.5 % (841X)

Patient #3 : HPT, TNED, thymome, HYP à 60 ans

MEN1 : c.784-9G>A, p.(?) FA= 2.4 % (877X)

Ces premiers cas identifiés au sein du laboratoire montrent que le mosaïcisme germinale est à prendre plus en considération dans les situations d'explorations négatives pour des profils cliniques clairement associés à une NEM1 ou des cas apparents de NEM1 *de novo*.

Cette constatation, nous a orienté vers une analyse rétrospective de nos patients présentant cliniquement une NEM1 mais non élucidée sur le plan génétique, après une phase de validation visant à déterminer les critères qualité et le seuil de sensibilité *ad hoc* permettant de garantir un résultat fiable.

Références:

1. Thakker et al. JCEM 2012
2. Romanet et al JCEM 2019
3. Coppin et al. EJE 2019
4. Farook et al. Endocr. Abstr 2011
5. Klein et al. Genet Med 2005

Pièce jointe : Apports des Unique Molecular Index pour la détection de mosaïque germinale par NGS -resume-oct2019.docx

CS37 : Transmission familiale de chromoanagenesis : à propos de trois familles

Auteurs :

Julie Masson (1, 2), Marion Beaumont (3, 4), Kevin Uguen (3, 5), Céline Pebrel-Richard (6), Mathilde Fréty (7), Flavie Diguët (3), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (8), Isabelle Perthus (9), Claire Bardel (3), Marianne Till (3), Dominique Boggio (3), Nicolas Chatron (3, 2), Charline Cartellier (10), Audrey Putoux (1, 11), Fabienne Raskin-Champion (12), Jérôme Massardier (10), Christine Vinciguerra (7), Patrick Lutz (13), Bérénice Doray (14), Damien Sanlaville (3, 2), Caroline Schluth-Bolard (3, 2)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Equipe Métabolisme énergétique et développement neuronal, Institut NeuroMyoGène CNRS UMR 5310, INSERM U1217, Université Lyon 1, Lyon, France
3. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
5. Service de Génétique Médicale, CHRU Brest, Brest, France
6. Service de Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
7. Service d'Hématologie Biologique, Biologie moléculaire des pathologies de l'hémostase, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
8. Cellule bio-informatique de la plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
10. Centre Pluri-disciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
11. GENDEV Team, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, CNRS UMR5292, UCBL1, Lyon, France
12. Centre Pluri-disciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
13. Service d'onco-hématologie pédiatrique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
14. Service de génétique, CHU de la Réunion - Hôpital Félix Guyon, Saint-Denis, France

Mots clefs : Chromoanagenesis, recombinaison, méiose, diagnostic prénatal

Résumé :

Les chromoanagenesis regroupent un ensemble de remaniements chromosomiques extrêmement complexes, qui correspondraient à l'éclatement d'un chromosome suivi de sa reconstitution en un événement catastrophique unique. Les chromoanagenesis constitutionnels sont des événements rares, encore peu connus, tant dans leur fréquence que dans leurs origines. La très grande majorité est rapportée comme *de novo*, impliquant préférentiellement la méiose paternelle. Seule une dizaine de cas de transmission familiale a été décrite à ce jour.

Nous rapportons 3 cas de transmission familiale de chromoanagenesis, tous hérités d'un parent sain. Les remaniements ont été caractérisés par caryotype, FISH, ACPA et WGS (Whole Genome Sequencing). Pour 2 des 3 parents, le diagnostic de chromoanagenesis n'a pu être posé qu'après WGS.

Famille 1 : La mère est porteuse d'un remaniement du chromosome 21 impliquant 11 gains (de 197 à 593kb) et une délétion (301 kb). Durant la première grossesse, l'amniocentèse réalisée pour dépistage combiné à risque a montré chez le fœtus un chromosome 21 remanié avec la délétion maternelle (301 kb), un gain de 315 kb et un gain de la partie terminale du bras long (21q21.3qter, 19Mb) intéressant la région critique du syndrome de Down, motivant une IMG. Lors de la seconde grossesse, le fœtus était porteur de deux chromosomes 21 d'aspect normal avec seulement la délétion d'origine maternelle (301kb). La grossesse s'est arrêtée spontanément. Lors de la troisième grossesse, le chromosome 21 remanié maternel a été transmis à l'identique au fœtus. La grossesse est en cours.

Famille 2 : La mère est porteuse en ACPA d'un gain de deux copies de 514kb sur le chromosome X en Xq27. Le WGS a montré que ce gain correspond à la présence deux blocs remaniés identiques associant un gain de 41kb (aucun gène), un gain de 59kb (5 premiers exons du gène *F9*) et un gain de 461kb (2 derniers exons du gène *F9*). Son fils, suivi pour une hémophilie B, a hérité d'un chromosome X recombiné porteur d'un seul bloc de gains et d'une délétion de l'exon 6 du gène *F9*.

Famille 3 : Le père est porteur d'un remaniement du chromosome 10 évoquant une insertion intrachromosomique péracentrique. Le WGS a montré la présence de 15 délétions (de 1,4 à 566kb). Son fils présente un retard des acquisitions et a hérité d'un chromosome 10 recombiné présentant 9 gains (de 22,7kb à 10Mb) et une perte (11,8Mb).

En conclusion, les chromoanagenesis constitutionnels peuvent être associés à un phénotype normal. Leur fréquence est donc très probablement sous-estimée dans la population générale. Malgré leur complexité, ces remaniements peuvent être transmis lors de la méiose maternelle aussi bien que paternelle. Leur recombinaison est possible, mais complètement imprévisible, tout comme la pathogénicité des recombinants. Ces observations illustrent la difficulté du conseil génétique dans ce type de remaniement ainsi que la difficulté de choisir la technique la plus adaptée pour le diagnostic prénatal.

Pièce jointe : Abstract-Transmission Chromo-vfinale.docx

CS38 : Apport de la CGH array en diagnostic prénatal devant la mise en évidence d'une malformation du corps calleux. Etude rétrospective multicentrique d'une série française de 256 fœtus.

Auteurs :

Charlotte Caille (1), Jean-Marie Ravel (1), leila guesh (2), Françoise Devillard (3), Claire Beneteau (2), Mona Massoud (4), Sylvie Odent (5), Estelle Perdriolle (6), Laurence Bourguignon (6), Bruno Leheup (1), Andreea Apetrei (7), Guillaume Benoist (8), Mathilde Renaud (1), Severine Audebert-Bellanger (9), Mathilde Pacault (9), Nathalie Douet-Guilbert (9), Agnes Guichet (10), Clara Houdayer (10), Marie-Thérèse Cheve (11), Perrine Pennamen (12), Frederic Coatleven (13), Genevieve Lefort (1), Celine Bonnet (1), Claude Ferec (9), laetitia lambert (1)

1. Service de génétique médicale, CHRU de Nancy, Nancy, France
2. Service de génétique médicale, CHRU de Nantes, Nantes, France
3. Département de génétique et de la procréation, CHRU de Grenoble, Grenoble, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Bron, Lyon, France
5. Service de génétique médicale, CHRU de Rennes, Rennes, France
6. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Nancy, Nancy, France
7. Service de génétique médicale, CHRU de Caen, Caen, France
8. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Caen, Caen, France
9. Service de génétique médicale, CHRU de Brest, Brest, France
10. Service de génétique médicale, CHRU de Angers, Angers, France
11. Service de Gynécologie-Obstétrique, CH Le Mans, Le Mans, France
12. Service de génétique médicale, CHRU de Bordeaux, Bordeaux, France
13. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : CCM; array CGH; prenatal; antenatal diagnosis

Résumé :

Abstract

Objective. Callous callosum malformation (CCM) is the most common brain abnormality found in antenatal diagnosis and it is difficult to predict its neurological prognosis. The aim of this study is to evaluate the performance of array comparative genomic hybridization (aCGH) prenatal diagnosis in corpus callosum malformations.

Methods. In this French multicenter retrospective study, 256 fetuses with corpus callosum malformation were included. All underwent invasive prenatal diagnosis, and the samples were analyzed using aCGH. CCMs were grouped depending on the presence of additional malformations affecting the brain and/or other organs and the CCM subtype.

Results. Of the 256 fetuses included, 42% had isolated CCM (iCCM). The most frequent CCM was agenesis (N=176, 69%). A total of 56 (24%) chromosomal anomalies were detected prenatally with 38% (N=21) diagnosis by aCGH only. Nine chromosomal anomalies were detected in group of iCCM and 47 of non isolated (niCCM). The risk of chromosomal anomalies is 10% for iCCM, 15% for niCCM associated cerebral malformation, 31% for niCCM associated extracerebral malformation and 54% for niCCM associated cerebral and extracerebral malformation.

Conclusion. CCM is often associated with chromosomal anomalies. This study evaluated the risk of detecting a chromosome anomaly according to whether CCM is isolated or associated with other anomalies. The results of this study are helpful for defining risk during pre-test counselling and during post-test genetic counselling prognosis and management can be more thoroughly apprehended when a specific chromosomal anomaly is detected.

Pièce jointe : Contribution of array CGH in prenatal diagnosis of foetal corpus callosum malformations.pdf

CS39 : Détection précise de disomies uniparentales cliniquement pertinentes à partir des données de séquençage de l'exome

Auteurs :

Kevin Yaury (1), Nicole de Leeuw (2), Helger G Yntema (2), Rolph Pfundt (2), Christian Gilissen (2)

1. Service de Génétique Clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Department of Human Genetics, Radboudumc, Nijmegen, Pays-Bas

Mots clés : Disomie uniparentale, séquençage de l'exome

Résumé :

Introduction : La disomie uniparentale (DUP) est la rare occurrence de deux chromosomes homologues provenant du même parent. Elle est habituellement identifiée par l'analyse des microsatellites ou par SNP-array. Les DUP peuvent être pathogènes dues à une modification de l'empreinte parentale, des variations pathogènes homozygotes induites ou à des aneuploïdies en mosaïques de faible intensité. Dans cette étude, nous avons tenté de détecter des DUP cliniquement pertinentes à partir des données de séquençage de l'exome (SE) en solo et en trio.

Méthodes : Pour identifier les DUP, nous avons appliqué soit une méthode basée sur les erreurs héréditaires mendéliennes dans une cohorte de 4.912 SE en trio (tous types de DUP), ou soit une méthode basée sur la déviation absolue de la taille médiane des régions d'homozygotie dans une cohorte de 29.723 SE en solo (isodisomie seulement). L'ensemble des codes et scripts sont disponibles en licence libre : <https://github.com/kyauy/UPDive>.

Résultats : Nous avons réussi à identifier trois DUP mixtes, trois isodisomies et deux DUP segmentaires précédemment détectés par SNP array. De plus, nous avons identifié dans notre cohorte trois nouvelles DUP segmentaires et 11 nouvelles isodisomies. Parmi elles, trois sont impliquées dans un trouble de l'empreinte parentale. Par exemple, une isodisomie maternelle du chromosome 7 (associée au syndrome de Silver-Russell) a été détectée et correspond au phénotype du patient. Deux DUP sont localisées sur une variation pathogène homozygote, ce qui signifie qu'un seul parent serait porteur hétérozygote de la variation respective et change le conseil génétique. Par exemple, une variation non-sens homozygote (NM_000123.3:c.1096C > T (p.(Arg366*))) du gène ERCC5 associé au syndrome cérébroculofaciosquelettique type-3 a été détectée sur une disomie segmentaire maternelle du chromosome 13. L'identification d'une DUP est de signification inconnue pour les huit autres patients.

Conclusions : La DUP peut être facilement identifiée à partir du SE en solo ou en trio. Cette découverte peut être cliniquement pertinente pour les patients. Nous proposons que l'analyse des DUP soit appliquée en routine diagnostique dans les pipelines de SE cliniques, car elle augmente le rendement diagnostique et peut changer le conseil génétique.

CS40 : Résultats du séquençage d'exome en prénatal devant une anomalie du corps calleux sur une série de 49 fœtus : faisabilité, intérêt et limites

Auteurs :

solveig HEIDE (1), Myrtille SPENTCHIAN (2, 3), Stéphanie VALENCE (4), Marie-Laure MOUTARD (4), Thierry BILLETTE DE VILLEMEUR (4), Corinne MACH (5), Elodie LEJEUNE (5), Valérie OLIN (5), Claude ESTRADE (5), Aurélie WAERNESYCKLE (5), Sabina KARAGIC (5), Julien BURATTI (5), Catherine GAREL (6), Cyril MIGNOT (1), Valérie LAYET (7), Vassilis TSATSARIS (8), Marie-Amélie ROCCHISANI (9), Sébastien MOUTTON (10), Matthieu MILH (11), Magali GORCE (12), Marta SPODENKIEWICZ (13), Geneviève QUENUM MIRAILLET (14), Sandra CHANTOT BASTARAUD (14), Mathilde NIZON (15), Marie VINCENT (15), Sandra MERCIER (15), Claire BENETEAU (15), Vincent DES PORTES (16), Elise BOUCHER (17), Agnès GUET (18), Laurent MANDELROT (19), Alexandra BENACHI (20), Audrey PUTOUX (21), Jean-Marie JOUANNIC (22), Boris KEREN (23), Delphine HERON (24)

1. UF de Génétique Médicale, APHP.Sorbonne Université, GH Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
2. UF de Génétique Médicale, APHP.Sorbonne Université, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. CRMR Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Service de Neurologie Pédiatrique, APHP.Sorbonne Université, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. UF de Génétique Médicale, APHP.Sorbonne Université, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Service de Radiologie Pédiatrique, APHP.Sorbonne Université, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
7. Service de Génétique Clinique, CH du Havre, Le Havre, France
8. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Cochin, Paris, France
9. Service de Réanimation et Médecine Néonatale, Hôpital Cochin, Paris, France
10. Centre de génétique, Hôpital d'enfants CHU Dijon Bourgogne - Hôpital François Mitterrand, Dijon, France
11. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital La Timone, APHM, Marseille, France
12. Service de Génétique Clinique, CHU d'Angers, Angers, France
13. Service de Génétique Clinique, CHU de Reims, Reims, France
14. Service de Cytogénétique, APHP.Sorbonne Université, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
15. Service de Génétique Clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
16. Service de Neurologie Pédiatrique, CHU de Lyon, HCL, Lyon, France
17. Service de Génétique Clinique, CHU de Besançon, Besançon, France
18. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
19. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
20. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Kremlin Bicêtre, Clamart, France
21. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
22. Service de Médecine Foetale, APHP.Sorbonne Université, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
23. UF de Génétique Médicale, GH Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
24. UF de Génétique Médicale, GH Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

Mots clefs : Prénatal, WES, Exome, Anomalie du corps calleux

Résumé :

Introduction : Le diagnostic d'une anomalie du corps calleux (ACC) est le plus souvent réalisé en prénatal lors de l'échographie du 2^{ème} trimestre. Lorsqu'elle est isolée, le pronostic neuro-développemental est très variable (70 à 80% des enfants ont un développement dans les normes, et 20 à 30% une déficience intellectuelle), et dépend essentiellement de la cause génétique sous-jacente. Actuellement, seules les causes chromosomiques, qui représentent une minorité des causes génétiques d'ACC, sont recherchées en prénatal (caryotype et analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)).

L'objectif principal de notre étude était d'étudier la faisabilité du séquençage d'exome (WES) en trio dès la découverte de l'ACC en prénatal afin d'augmenter les chances d'en faire le diagnostic étiologique.

Patients et méthodes : Entre septembre 2018 et septembre 2019, 49 trios ont été inclus. Le terme moyen était de 27 SA (21,7 à 34 SA). 36 ACC étaient isolées (ou associées à un signe mineur) et 13 ACC étaient associées à au moins une autre malformation, ou à plus de 2 anomalies mineures. Le WES était réalisé avec le kit MEDExome (ROCHE) sur ADN fœtal extrait du liquide amniotique. Seules les variations pathogènes ou probablement pathogènes (classes 4 et 5) dans les gènes connus d'ACC et/ou de DI étaient rendus. Les données secondaires n'étaient pas recherchées.

Résultats : Le résultat du WES a été rendu dans un délai moyen de 23.6 jours (14j-48j). Dans 2/49 cas, le résultat n'a été disponible qu'en post-natal (accouchement prématuré dans un cas, inclusion à un terme très tardif dans le second cas).

Une variation ponctuelle pathogène ou probablement pathogène a été mise en évidence dans 8/49 cas (16 %) (PPP2R1A, KIF1A, KANSL1, ASXL3, SHROOM4, BRAT1, PTPN11, TUBA1A). De plus, un CNV pathogène a été identifié par WES dans 3/49 cas (6 %) (del 17q21, del 2q22, del 6qter), confirmé par l'ACPA qui était réalisée en parallèle. Parmi ces diagnostics, 3 étaient des ACC apparemment isolées après IRM fœtale (PPP2R1A, KANSL1, PTPN11).

Dans 10/11 cas (91%) où le diagnostic était établi, il s'agissait de syndromes avec handicap intellectuel constant. 7/11 couples (63%) se sont orientés vers une IMG. 3 couples ont souhaité poursuivre la grossesse (KANSL1, BRAT1, del 6qter), parmi lesquels un a choisi un accompagnement palliatif néonatal (BRAT1). Dans un cas, le résultat n'a été disponible qu'après la naissance (PTPN11).

Discussion : Les résultats de cette étude permettent de montrer la faisabilité du séquençage d'exome en prénatal dans cette indication d'incertitude pronostique. Dans 22% des cas, l'établissement d'un diagnostic étiologique a permis d'aider les couples à prendre une décision plus éclairée concernant l'issue de la grossesse. Cette approche, qui pourrait être étendue à d'autres malformations à pronostic incertain, nécessite néanmoins une réflexion collégiale et une information adaptée en raison des questions éthiques liées au séquençage haut débit en prénatal.

CS41 : Architecture du génome et pathologies: l'exemple des CNVs en 16p11.2

Auteurs :

Alexandre Reymond (1), Giannuzzi Giuliana (1), Männik Katrin (1)

1. Centre Intégratif de Génomique, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

Mots clefs : CNV, 16p11.2, evolution, GWAS

Résumé :

Les délétions et les duplications récurrentes en 16p11.2 sont l'une des causes les plus fréquentes de troubles psychiatriques et neuro-développementaux. Ces réarrangements sont présents chez 1% des personnes atteintes d'autisme et de schizophrénie. L'IMC et le périmètre crânien sont tous deux corrélés négativement au nombre de copies 16p11.2.

En utilisant des données de biobanques, nous avons découvert que le nombre de copies de 16p11.2 est aussi corrélé avec l'âge de la ménarche (AdIM) et à des troubles de l'appareil reproducteur. À l'appui de ces observations, les modèles murins 16p11.2 présentent des malformations des organes reproducteurs et une apparition de la puberté altérée. Nous avons mis en évidence une corrélation négative entre les copies de 16p11.2 et le volume de l'hypothalamus chez l'homme et la souris. Le knock-out et la surexpression d'*ASPHD1*, un gène de cette région principalement exprimé dans le cerveau et l'hypophyse, modifient le nombre de neurones libérant de la GnRH. Au total, nos données démontrent le pouvoir d'une approche interdisciplinaire pour élucider l'étiologie de maladies complexes.

Les réarrangements pathogènes 16p11.2 sont engendrés par recombinaisons homologues non-alléliques de duplications segmentaires (*low-copy repeats* ou LCR) spécifiques à l'espèce humaines. Ces dernières sont apparues au début de la lignée humaine moderne et ont augmenté rapidement en fréquence jusqu'à se fixer dans la population. Cela suggère que leur expansion présente un avantage évolutif qui l'emporte sur l'instabilité chromosomique. Ces LCRs sont polymorphes en nombre de copies et incluent 3 à 8 copies de *BOLA2*, un gène impliqué dans la maturation des protéines cytosoliques Fer-Soufre. Afin d'étudier l'avantage potentiel sur le métabolisme du fer offert par l'expansion rapide de *BOLA2*, nous avons évalué les traits hématologiques et la prévalence de l'anémie chez 379'385 témoins et des personnes ayant perdu ou gagné des copies de *BOLA2* (del et dup 16p11.2). La délétion 16p11.2 est fortement associée à une anémie ($p = 4e-7$, OR = 5), en particulier l'anémie ferriprive. Si nous stratifions ces résultats par le nombre de copies de *BOLA2*, nous observons une association entre un faible nombre de copies du gène et l'anémie ($P = 2e-3$) en particulier chez les individus avec trois copies (6 sur 14 ; 43%). Conformément aux données humaines, le modèle murin de la délétion 16p11.2 et les souris déficientes en *Bola2* montrent des signes précoces de carence en fer, une diminution du taux d'hémoglobine, une réduction du nombre de globules rouges et une augmentation de la protoporphyrine-zinc. Nos résultats indiquent que *BOLA2* participe à l'homéostasie du fer *in vivo*. Son expansion rapide pourrait avoir contribué à protéger les hommes d'une carence en fer, notre espèce ayant élargi avec succès son aire écologique au prix d'une prédisposition accrue aux réarrangements associés à l'autisme.

Pièce jointe : 16p11_syndrome_AReymond_AssisesTours.docx

CS42 : Analyse par puce à ADN « single nucléotide polymorphism » chez 223 familles d'enfants nés avec un hypospadias distal isolé

Auteurs :

Adrien Bloch (1), Matthieu Peycelon (2), Jean-Pierre Siffroi (1), Sandra Chantot-Bastaraud (1), Geneviève Quenum-Miraillet (1), Fernanda Frade (3), Thomas Blanc (4), Capucine Hyon (1), Muriel Houang (5), Laetitia Martinierie (6), Annabel Jaouen-Paye (2), Christine Grapin (2), Georges Audry (3), Alaa Elghoneimi (2), Serge Amselem (1), Marie Legendre (1), Liza Ali (2)

1. Génétique et Embryologie Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Chirurgie Pédiatrique Urologique et Viscérale, Hôpital Robert-Debré, Paris, France
3. Chirurgie Pédiatrique Viscérale et Néonatale, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Chirurgie Viscérale Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Explorations Endocriniennes Pédiatriques, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

Mots clefs : Génétique, Puce, ADN, CNV, hypospadias, pédiatrie, cytogénétique

Résumé :

But de l'étude. L'hypospadias est l'anomalie congénitale des organes génitaux externes du garçon la plus fréquente. Son incidence est en constante augmentation bien que les causes restent encore inconnues. Des facteurs endocriniens, vasculaires et environnementaux ont été incriminés et l'origine génétique en cas de forme mineure reste probablement sous-estimée. L'objectif de cette étude était de réaliser une étude pangénomique par puce à ADN « SNP » chez des enfants nés avec un hypospadias distal isolé et leurs parents.

Méthodes. Une cohorte de 284 enfants a été établie depuis 2011 dans laquelle 223 garçons présentent un hypospadias distal isolé sans consanguinité ni origine familiale. L'ADN germinale de ces patients a été extrait des lymphocytes sanguins selon la technique habituelle. Un caryotype standard puis une analyse pangénomique par puce à ADN « SNP 12 chips (Illumina®) » ont été réalisés pour tous les patients.

Résultats. Dans cette cohorte, 41 anomalies (18,4%) pouvant être en lien avec la survenue d'un hypospadias distal isolé ont été identifiées par puces à ADN. L'étude de ségrégation familiale a mis en évidence un caractère héréditaire dans six cas. Une seule translocation 46,XY,t(7;11)(p14;q23) *de novo* a été visible sur le caryotype. Des variations du nombre de copies susceptibles d'être impliquées dans cette pathologie étaient présentes chez 30 patients : 17 duplications, trois délétions, six double-duplications, trois délétions, deux délétions/duplications et une translocation avec duplication, qui englobent un total de 25 gènes candidats. L'étude pangénomique a retrouvé des régions d'homozygotie > 2 Mb chez cinq patients, qui pourraient abriter des mutations à l'état homozygote dans des gènes candidats. L'étude de ségrégation familiale n'a mis en évidence aucun caractère héréditaire.

Conclusion. L'analyse pangénomique par puces à ADN a trouvé de façon surprenante 15,7% anomalies susceptibles d'être en lien avec la survenue d'un hypospadias distal isolé non héréditaire. L'utilisation de ces nouveaux outils d'analyse génétique semble essentielle à la compréhension des mécanismes de survenue de cette pathologie malgré un conseil génétique potentiellement difficile.

CS43 : Séquençage de génomes après ACPA et séquençage d'exome trio négatifs : 27% de diagnostic positif avec une interprétation limitée aux régions exoniques et variations de structure

Auteurs :

Frédéric Tran Mau-Them (1, 2), Alexandre Plagos (2), Ange-Line Bruel (2, 1), Patrick Callier (3), Sebastien Moutton (4), Sophie Nambot (5, 2), Daphne Lehalle (2), Nolwenn Jean (5), Julian Delanne (5), Caroline Racine (5), Julien Thevenon (2), Charlotte Poe (1), Thibaud Jouan (2), Martin Chevarin (2), Marjolaine Willems (6), Christine Coubes (6), David Genevieve (6, 7), Nada Houcinat (5), Alice Masurel (4), Anne-Laure Mosca-Boidron (3), Emilie Tisserand (2), Arthur Sorlin (8), Bertrand Isidor (9), Solveig Heide (10), Alexandra Afenjar (11), Diana Rodriguez (12), Cyril Mignot (10), Delphine Heron (10), Marie Vincent (9), Perrine Charles (10), Sylvie Odent (13), Christel Dubourg (14), Anne Faudet (10), Boris Keren (15), Benjamin Cogne (16), Anne Boland (17), Robert Olaso (17), Jean-François Deleuze (17), Yannis Duffourd (4), Laurence Faivre (5, 2), Christophe Philippe (3, 1), Christel Thauvin (18, 2), Antonio Vitobello (2, 1)

1. Unité Fonctionnelle d'Innovation diagnostique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
2. Inserm - Université de Bourgogne UMR1231 GAD, CHU Dijon, Dijon, France
3. Laboratoire de Cytogénétique et Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
4. Service de Génétique des Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
5. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du Développement et syndrome malformatifs » de l'Est, CHU Dijon, Dijon, France
6. Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs ADSOOR, CHU Montpellier, Montpellier, France
7. Unité Inserm U1183, CHU Montpellier, Montpellier, France
8. Service de génétique médicale, CHU Nancy, Nancy, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
10. Département de Génétique, CHU La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
11. Département de génétique et embryologie médicale, CHU Armand Trousseau, Paris, France
12. Centre de Référence de Neurogénétique et Service de Neurologie Pédiatrique, CHU Armand Trousseau, Paris, France
13. Génétique, CHU Rennes, Rennes, France
14. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
15. Département de Génomique du développement, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
16. Institut du thorax, CHU Nantes, Nantes, France
17. Institut de Biologie François Jacob, CNRGH, Evry, France
18. Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : séquençage de génome, anomalies de structures, SV, anomalie du développement, déficience intellectuelle.

Résumé :

Les anomalies du développement et la déficience intellectuelle (AD/DI) affectent environ 3% de la population. Leur diagnostic repose sur l'expertise clinique, l'analyse chromosomique sur puce à ADN, la recherche du syndrome X-fragile ± l'étude de gènes ciblés orientés par les données cliniques, et plus récemment, le séquençage d'exome (ES). Actuellement, l'ensemble de ces analyses permettent de poser un diagnostic étiologique chez environ 30-50% des patients. Le séquençage de génome (GS) est donc une véritable opportunité pour ces patients car il permet une meilleure couverture exonique, la détection de variations non exoniques et l'analyse de variations de structures (SV) non décelables par d'autres méthodes cytogénétiques.

Chez 51 patients (22 garçons et 29 filles - âge moyen 13.8 ans), un GS (moyenne 30X) en trio a été réalisé. Le pipeline bio-informatique a inclus la détection des variations codantes par Haplotype Caller (GATK), des variations du nombre de copie (CNV) et des SVs par 2 approches complémentaires basées sur l'estimation de la profondeur (Control-FREEC) et les anomalies de paires et de lectures coupées (LUMPY).

Les 51 patients présentaient en moyenne 100 fois plus de variations introniques qu'exoniques et environ 2.500 SVs. En moyenne par individu, 23 variations *de novo* (3 exoniques et 20 introniques) et plus de 10.000 variations bialléliques (20 exoniques et 10.000 introniques) impliquaient des gènes OMIM morbides. Pour les SVs, en moyenne, 8 étaient rares et impactaient des gènes OMIM morbides.

Un diagnostic positif a été posé chez 14/51 patients (27%), incluant 8 SNVs, 1 CNV et 5 SVs. Les SNVs impliquaient *CYFIP2*, *EIF3F*, *FOXG1*, *KMT2D*, *MAGEL2*, *PURA*, *SMARCE1* et *ZMIZ1*. Lors de l'ES, ces variations n'avaient pas été retenues car non impliquées en pathologie humaine au moment de l'analyse (*CYFIP2*, *EIF3F*, *ZMIZ1*), mal capturée (*PURA*) ou mal interprétées (*FOXG1*, *KMT2D*, *MAGEL2*, *SMARCE1*). Le CNV était une délétion partielle de *GATAD2B*. Les SVs incluaient 2 inversions *de novo* (*BCL11A* et *MEF2C*), 1 translocation (*FBN1*) et 2 SVs complexes (inversion-délétion de *CASK* et *WWOX*). La SV de *WWOX* était *en trans* d'1 SNV. La majorité de ces anomalies n'étaient pas décelables par des stratégies de cytogénétiques conventionnelles ou d'ES avec détection de CNVs. Des VSI ont été identifiées chez 19/51 patients (37%) incluant 23 SNVs et 3 SVs. Parmi les SNVs, 2 impactaient des gènes hautement candidats pour une nouvelle implication en pathologie humaine.

En conclusion, le GS présente un intérêt indéniable pour le diagnostic des patients avec AD/DI, même après un ES en trio. Son interprétation, rendue difficile par la quantité importante et la complexité des variations, s'avère actuellement restreinte aux variations exoniques et de structures. Seule une analyse intégrée des données de GS et de RNAseq avec des outils bioinformatiques combinant ces données permettrait d'étendre l'interprétation de ces données aux régions introniques et intergéniques.

CS44 : Conservation in silico des domaines topologiquement associés en population témoin, impact sur l'interprétation des CNV

Auteurs :

Thomas Smol (1, 2), Florence Petit (3, 2), Elise Boudry-Labis (1), Sonia Bouquillon (1), Perrine Brunelle (1), Mélanie Rama (1), Catherine Roche-Lestienne (1), Sylvie Manouvrier-Hanu (3, 2), Jamal Ghoumid (3, 2)

1. Institut de génétique médicale, CHU Lille, Lille, France
2. EA7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
3. Clinique de Génétique, CHU Lille, Lille, France

Mots clefs : TAD, CNV, OMIM, SYSID

Résumé :

Introduction. L'implication des ruptures de frontières de domaines topologiquement associés (TAD) est maintenant bien établie comme mécanisme responsable de pathologies humaines. Cependant, hormis un faible nombre de maladies, les ruptures de frontières de TAD ne semblent pas être *a priori* un mécanisme fréquent de pathologies génétiques. Aussi, nous avons cherché à déterminer en population générale et à l'échelle du génome, quels étaient les TAD dont les frontières n'étaient jamais déletés et leur contenu en gène. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux TAD impliquant des gènes responsables de déficiences intellectuelles.

Méthode. Nous nous sommes appuyés sur les données publiées de cartographies des TAD dans différents modèles cellulaires et sur les données publiques de variations du nombre de copies de segments génomiques (CNV) en population générale. Les coordonnées génomiques de 307430 microdélétions provenant des bases DGV, GnomAD, des annotations bénignes de ClinVar et DECIPHER, ainsi que des CNV témoins de publication (Coe *et al.*, *Nat. Genet.*, 2014) ont été utilisées. Douze jeux de données de Hi-C ont été croisés avec les coordonnées des CNV. Certains TAD, qualifiés de robustes, ont été identifiés sans aucune frontière touchée par un CNV de la population générale. Les contenus génique entre ces TAD robustes et les TAD non robustes ont été comparés, à la recherche d'un éventuel enrichissement en gènes des bases OMIM et SysID.

Résultats. Les 12 séries de Hi-C comportent une médiane de 2837 TAD d'une taille médiane de 700 kb. Le pourcentage médian de TAD conservés est de 39.1% [38.1% - 40.6%]. Les TAD non robuste présentent un enrichissement plus important en gènes que les TAD robustes : 10.6 gènes/TAD vs 10.0 ($p < 8.5e^{-3}$). Les TAD robustes comprennent un plus grand nombre de gènes OMIM : 5.5 gènes OMIM/TAD vs 5.2 ($p = 0.001$) représentant respectivement 59.8% et 23.3% du contenu moyen en gènes de ces 2 groupes ($p < 2.2e^{-16}$). Le contenu en gènes associés à des pathologies neuro-développementales dominantes de la base SysID est également supérieur : 0.4 gènes/TAD vs 0.3 gènes/TAD ($p = 0.04$). Ainsi, les TAD robustes regroupent 64.08% des gènes OMIM et 36.70% des gènes de la base SysID.

Conclusion. Ces données suggèrent que l'expression des gènes pourrait être moins sensible aux ruptures de frontières de TAD. L'analyse du contenu en gènes des deux types de TAD suggère que les TAD robustes contiennent moins de gènes, mais plus de gènes responsables de pathologies humaines et en particulier de trouble du neurodéveloppement. Ces gènes semblent sanctuarisés dans les TAD robustes. Il est donc très intrigant de ne pas observer plus fréquemment de réarrangement de frontières de TAD robustes en pathologies humaine. Est-ce dû à des mécanismes de compensation moléculaire de tels réarrangements ? Ou à une résolution habituelle trop faible pour l'identification de micro-réarrangements à ces *loci* ?

CS45 : Modélisation et quantification de l'impact des CNVs sur l'intelligence générale.

Auteurs :

Pauline Monin (1, 2), Catherine Schramm (2, 3), Elise Douard (2, 3), Mor Absa Loum (2, 3), Maude Auger (2), Martineau Jean-Louis (2), Zohra Saci (2), Celia Greenwood (4, 5), Guillaume Huguet (2, 3), Sébastien Jacquemont (2, 3)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Laboratoire Jacquemont, Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada
3. Faculté de médecine, département de pédiatrie, Université de Montréal, Montréal, Canada
4. Department of Epidemiology, Biostatistics and Occupational Health, McGill University, Montréal, Canada
5. Lady Davis Institute, Jewish General Hospital, Montréal, Canada

Mots clés : CNV (Variant du Nombre de Copie), QI (Quotient Intellectuel), neurodéveloppement, pLI (probabilité d'être intolérant aux variants perte de fonction), ratio obs/exp (nombre de variants observés / nombre de variants attendus).

Résumé :

Contexte

Des variants du nombre de copie (CNVs) pathogènes sont identifiés chez 10 à 15% des patients référés pour troubles neurodéveloppementaux. Néanmoins, l'impact de ces CNVs sur la cognition reste mal quantifié car la majorité d'entre eux sont trop rares pour être étudiés individuellement. Dans une récente étude, nous avons développé un modèle linéaire, basé sur des scores d'annotations géniques, capable de prédire la taille de l'effet de toute délétion sur le quotient intellectuel (QI). Cependant, l'impact des duplications et des gènes ayant des tailles d'effet extrêmes n'a pu être clairement modélisé.

Objectif

L'objectif est d'identifier les caractéristiques du contenu génique des CNVs permettant de prédire leur impact sur les traits cognitifs.

Méthodes

Nous avons analysé un grand jeu de données combinant les mesures d'intelligence générale (QI ou facteur général) et les CNVs de 20,151 individus de la population générale (5 cohortes) et 7,008 individus issus de 4 cohortes autistiques (Simons Simplex Collection, MSSNG, Autism Genome Project, et Simons foundation Powering Autism Research for Knowledge). Le modèle linéaire se base sur les gènes inclus dans les CNVs selon leurs probabilité d'être intolérant à l'haploinsuffisance (pLI), ou selon leurs ratio du nombre de variants perte de fonction (LoF) observés / nombre de LoF attendus (LoF obs/exp). Des méta- et méga-analyses ont été effectuées entre les cohortes. La validation du modèle a été effectuée en comparant sa prédiction aux observations de la littérature pour 26 CNVs psychiatriques récurrents.

Résultats

La méta-analyse n'a pas montré d'hétérogénéité significative entre les différentes cohortes, y compris entre les cohortes autistiques, et nous avons pu répliquer l'estimation de l'impact des délétions sur l'ensemble des cohortes. La méga-analyse a montré que la délétion d'1 unité de pLI entraîne une perte de 2.3 points de QI (0.15 Z-score, SE=0.01, P=4.17⁻²⁵). L'estimation pour les duplications est 3 fois plus basse avec une perte de 0.75 points de QI (0.05 Z-score, SE=0.01, P=1.40⁻⁹) par unité de pLI dupliquée.

Nous avons également quantifié l'impact des gènes significativement enrichis en variants *de novo* dans les populations neurodéveloppementales: leurs effets sont 6 à 13 fois plus important.

Les résultats observés avec le modèle appliqué sur le ratio LoF obs/exp sont similaires. Les 2 scores d'annotations sont donc aussi performants l'un que l'autre.

La concordance des estimations du modèle avec les données de la littérature s'élève à 75% pour les délétions et 72% pour les duplications.

Conclusion

Notre modèle, entraîné sur près de 34,500 CNVs répartis dans l'ensemble du génome, estime avec fiabilité l'impact des délétions et des duplications sur l'intelligence générale. Grâce à ces observations, un outil a été développé et est disponible en ligne pour les cliniciens. Cet outil leur permet d'estimer la contribution des CNVs rares non documentés détectés chez leurs patients.

Pièce jointe : abstract_assises_CNV_PaulineMONIN.docx

CS46 : Identification de voies métaboliques associées au risque de cancer différencié de la thyroïde par analyse pangénomique

Auteurs :

Om Kulkarni (1), Pierre-Emmanuel Sugier (2), Julie Guibon (2), Christine Lonjou (1), Jean-François Deleuze (3), Anne Boland-Auge (3), Delphine Bacq-Baian (3), Céline Besse (3), Carole Rubino (2), Marie-Christine Boutron-Ruault (2), Evgenia Ostroumova (4), Ausrele Kesminiene (4), Pascal Guénel (2), Florent De Vathaire (2), Thérèse Truong (2), Fabienne Lesueur (1)

1. Inserm U900, Institut Curie, Mines ParisTech, PSL University, Paris, France
2. Inserm U1018, CESP, Université Paris-Saclay, Université Paris-Sud, Villejuif, France
3. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Département de l'Institut de Biologie François Jacob, CEA, Evry, France
4. Section Environnement et Rayonnements, Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon, France

Mots clefs : cancer différencié de la thyroïde, analyse pangénomique, SNPs, ontologie

Résumé :

Une étude d'association pangénomique réalisée par le consortium EPITHYR a identifié quatre régions du génome associées au risque de développer un cancer différencié de la thyroïde (CDT) : 2q35 incluant les gènes *DIRC3* et *IGFBP5*, 8p12 incluant le gène *NRG1*, 9q22 incluant le gène *FOXO1* et 14q13 proche de *NKX2-1*. Les analyses effectuées ont considéré un par un chacun des 530 000 polymorphismes nucléotidiques (SNPs) génotypés, comme cela est classiquement utilisé. Cette approche peut néanmoins manquer de puissance pour détecter des SNPs interagissant avec d'autres SNPs. Notre objectif a été d'utiliser une stratégie basée sur les voies biologiques et les interactions protéiques connues afin d'identifier des ensembles de gènes appartenant à une même classe d'ontologie pouvant influencer l'apparition du CDT.

Notre étude a concerné 2089 cas de CDT et 2475 témoins d'origine européenne de sept études cas-témoins rassemblées dans le cadre du consortium EPITHYR et génotypés à l'aide de la puce Illumina OncoArray (environ 530 000 SNPs). Après un contrôle de qualité strict des SNPs génotypés, 460 437 SNPs ont été conservés pour l'analyse et 458 486 SNPs ont été localisés dans ou à proximité de 19 129 gènes. Ces gènes ont été assignés à des fonctions biologiques à l'aide des bases de données KEGG (361 définitions), REACTOME (1698 définitions) et GO (5203 processus biologiques, 1059 fonctions moléculaires et 652 composants cellulaires). L'analyse statistique a consisté à déterminer les voies biologiques ou les classes d'ontologie pouvant contenir un excès de gènes significativement associés au CDT à l'aide du logiciel VEGASPathway.

Notre analyse a mis en évidence 21 voies biologiques décrites dans KEGG et 75 décrites dans REACTOME qui contiennent en excès des gènes associés au CDT au seuil de $P < 0.05$. Les voies KEGG incluent notamment les fonctions liées au métabolisme du cholestérol, des glucides et des acides aminés tandis que les annotations de REACTOME permettent d'identifier en plus les voies de signalisation en aval du récepteur tyrosine kinase erbB2 (HER2) et régulant l'expression de ce récepteur.

Pour décrire les réseaux de gènes associés au CDT, nous avons ensuite utilisé l'algorithme EW_dmGWAS qui intègre les annotations sur les interactions protéines-protéines de la base HINT et les données du Cancer Genome Atlas de 59 CDT et du tissu normal associé pour prioriser les gènes dont l'expression est altérée dans les tumeurs. Nous avons ainsi identifié 54 modules enrichis avec les définitions de KEGG (2) ou REACTOME (52) au seuil $P_{FDR} < 0.05$, dont les voies liées au métabolisme de l'amidon et du saccharose, à la glycogénolyse, au métabolisme du glycogène et au métabolisme de l'insuline.

Cette étude montre l'avantage d'utiliser une approche permettant l'analyse de nombreux marqueurs génétiques simultanément. Elle a permis de caractériser de nouvelles voies biologiques impliquant des gènes susceptibles d'augmenter le risque de ce cancer.

Pièce jointe : Abstract_Assises_EPITHYR_Lesueur.pdf

**CS47 : Gestion des données secondaires dans le cadre des analyses pangénomiques par séquençage haut débit (projet FIND) :
le point de vue des laboratoires**

Auteurs :

Gaetan LESCA (1), Boris KEREN (2), Yannis DUFFOURD (3, 4), Ange-Line BRUEL (3, 4), Arthur SORLIN (3, 4), Frédéric TRAN MAU-THEM (3, 4), Julien BURATTI (2), Damien SANLAVILLE (5), Marie FAOUCHER (5), Claire GOURSAUD (5), Audrey LABALME (5), Marianne TILL (5), Nicolas CHATRON (5), Pierre-Antoine ROLLAT-FARNIER (5), Charles-Patrick EDERY (5), Delphine HERON (2), Céline VERSTUYFT (6), Association Nationale des Praticiens de Génétique ANPGM (7), Christel THAUVIN (3, 4), Laurence FAIVRE (8, 4), Christophe PHILIPPE (9)

1. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Département de génétique, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
3. Unité Fonctionnelle « Innovation diagnostique dans les maladies rares », laboratoire de génétique moléculaire, plate-forme de biologie hospitalo-universitaire, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental disorders, FHU TRANSLAD, Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
5. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Service de Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, CHU Bicêtre, Paris, France
7. Réseau français de laboratoires de référence, <https://anpgm.fr>, -, France
8. Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement et syndromes malformatifs", CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
9. Laboratoire d'innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : Analyses pangénomiques , données secondaires

Résumé :

Le séquençage à haut débit (SHD) pangénomique offre de nouvelles opportunités de diagnostic dans le contexte des maladies rares. Il permet d'aboutir plus fréquemment à un diagnostic primaire (but de la consultation génétique), il peut aussi conduire à la découverte de variations non en lien avec la pathologie du patient. Ces données secondaires (si recherchées activement), ou incidentes (découvertes fortuites), peuvent donner lieu à des actions préventives ou curatives s'intégrant dans une démarche de médecine personnalisée. Le fait de proposer aux patients d'avoir accès aux données secondaires ou incidentes reste largement débattu en France et à l'étranger. Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet de recherche FIND (PREPS 2016) « les données secondaires produites par SHD en diagnostic ; du besoin des patients aux modalités organisationnelles », avec 3 CRMR AnDDI-Rares participants (Dijon, Lyon, Paris Pitié). Selon le protocole, seules les variations pathogènes ou probablement pathogènes pour trois catégories de DS sont transmises au généticien prescripteur si le patient y a consenti. Le groupe 1 comprend les variations dans des gènes responsables d'une prédisposition à une maladie à révélation tardive accessible à une prévention (122 gènes, liste ACMG élargie), le groupe 2 est constitué des 114 gènes ayant des implications pour le conseil génétique (pathologies AR ou RLX). Un 3^e groupe plus restreint comprend 2 gènes avec 5 variations pharmacogénétiques ciblées d'intérêt clinique.

Nous présentons les résultats pour 330 patients qui ont bénéficié de la recherche de DS dans les données de SHD de l'exome dans le cadre du projet FIND. À ce stade de l'étude (312 patients analysés), des DS ont été retrouvées chez 48 patients (15,4%) avec une répartition dans les groupes 1 (16 patients - 5%), 2 (21 patients - 6,7%) et 3 (13 - 4%). Deux patients (4%) présentaient deux DS (groupes 2 et 3). La cause de la pathologie n'a pas été élucidée pour la moitié des patients qui recevait une DS. De nombreux laboratoires experts ont été mis à contribution (20 laboratoires différents pour 52 DS candidates) lorsque les données disponibles étaient insuffisantes. Dans tous les cas, les laboratoires ont répondu très rapidement (délai de réponse 1 heure à 1 semaine) et de façon détaillée, permettant ainsi d'orienter les biologistes pour la classification des DS candidates. L'avis d'un laboratoire de référence a été nécessaire pour la moitié des DS rendues. Les gènes ayant nécessité le plus grand nombre de demandes d'avis sont *CYP21A2*, *VWF* et *BRCA1/2*. La recherche de données secondaires issues des données de SHD pangénomiques, leur interprétation et le rendu aux généticiens prescripteurs impactent de façon importante les laboratoires aux niveaux de leur activité (temps technicien/bio-informaticien/biologiste mesurés dans l'étude et coûts des tests génétiques ciblés) et de leur organisation au niveau national (mise à contribution du réseau de laboratoires experts).

Pièce jointe : Abstract FIND_Lesca et al_Assises de génétique Tours 2020.docx

CS48 : Prise en compte de l'hétérogénéité phénotypique des patients dans les tests d'association avec des variants rares

Auteurs :

Ozvan Bocher (1), Gaëlle Marenne (1), Thomas Ludwig (1, 2), Kévin Uguen (1, 3), Arnaud Boulling (1), Virginie Scotet (1), Carine L'Hostis (1, 4), Isabelle Gourlaouen (1), Claude Férec (1, 3), Gérald Le Gac (1, 3), Hervé Perdry (5), Emmanuelle Génin (1)

1. , Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France, Brest, France

2. , CHU Brest, Brest, France, Brest, France

3. Génétique moléculaire et d'histocompatibilité, CHU Brest, Brest, France, Brest, France

4. , Association Gaëtan Saleün, Brest, France, Brest, France

5. , CESP Inserm, U1018, UFR Médecine, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Villejuif, 94807, France, Villejuif, France

Mots clefs : Tests d'association, Variants rares, Sous-phénotypes, Tests de fardeau, SKAT

Résumé :

Les méthodes de séquençage de nouvelle génération nous permettent aujourd'hui d'explorer le rôle des variants génétiques rares dans les maladies. Pour rechercher des associations avec des variants rares, des méthodes statistiques spécifiques ont été développées. Ces méthodes sont de deux types : (1) les tests de fardeau dans lesquels un score génétique est calculé par individu et par gène, puis comparé entre les individus, et (2) les tests de variance qui s'intéressent à la dispersion des effets génétiques. Ces différents tests ont été développés pour étudier des traits binaires (malade/non malade) ou quantitatifs. Ils ne permettent pas de comparer aux témoins des sous-groupes de malades basés, par exemple, sur la sévérité de la maladie ou son âge d'apparition (précoce/tardif). Cette hétérogénéité phénotypique peut cependant résulter d'une hétérogénéité génétique et ne pas en tenir compte peut conduire à un manque de puissance des tests. Afin de tenir compte de l'hétérogénéité phénotypique dans les tests d'association avec variants rares, nous avons réalisé des extensions des tests de fardeau et de variance. Nous avons étudié les propriétés statistiques de ces tests à l'aide de simulations et montré les gains de puissance obtenus sous différents modèles génétiques. Nous avons également pu étudier dans quelles situations il était préférable d'utiliser les tests de fardeau ou les tests de variance. Enfin, nous avons confirmé les résultats de ces simulations sur des données réelles de séquençage issues d'une étude sur l'hémochromatose chez des patients non porteurs homozygotes de la mutation HFE p.C282Y. Nous avons pu, à l'aide de nos méthodes, comparer les patients hétérozygotes composites HFE p.C282Y/p.H63D et les autres patients aux données de séquence d'un panel de témoins de référence (projet FranceGenRef du labex GENMED). Nous avons implémenté les tests d'association sur variants rares et leurs extensions dans le package R Ravages (<https://github.com/genostats/Ravages>). Ce package permet de réaliser ces différents tests et d'évaluer leur puissance par simulations.

CS49 : PRME DISSEQ - Evaluation des différentes stratégies de technologies de séquençage par haut débit (panel et exome) dans le diagnostic des patients atteints de déficience intellectuelle : efficacité et discordances

Auteurs :

Ange-Line Bruel (1, 2), Bénédicte Gérard (3), Amélie Piton (3), Frédéric Tran Mau-Them (1, 4), Arthur Sorlin (5, 6), Anne-Laure Sorly (7), Didier Lacombe (8), Sylvie Manouvrier (9, 10), Patrick Edery (11, 12), Nicole Philip (13, 14), David Genevieve (15, 16), Alain Verloes (17, 18), Sylvie Odent (19), Julien Thevenon (1, 20), Annick Toutain (21, 22), Bonneau Dominique (23), Salima El Chehadeh-Djebbar (24), Martine Doco-Fenzy (25), Bertrand Isidor (26), Alice Goldenberg (27), Catherine Vincent-Delorme (28), Odile Boute-Benejean (29), Laetitia Lambert (30), Marie-Laure Asensio (31), Patrick Callier (1, 4), Yannis Duffourd (32, 4), Catherine Lejeune (31), Christine Binquet (31), Christophe Philippe (1, 4), Laurence Faivre (1, 20), Christel Thauvin-Robinet (1, 20)

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. Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology, Center for Scientific Research, UMR7104, Illkirch, France
4. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
5. UMR1231 GAD, Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
6. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du Développement et syndromes malformatifs », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, CHU DIJON, Dijon, France
7. Direction Clinique de la Recherche et de l'Innovation, CHU DIJON, Dijon, France
8. Service de génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
9. Centre de référence maladies rares pour les anomalies du développement Nord-Ouest, CHU de Lille, Lille, France
10. EA7364, Université de Lille, Lille, France
11. Department of Medical Genetics, Women Mothers and Children's Hospital, Lyon Hospices Civils, Lyon, France
12. CNRS UMR 5292, INSERM U1028, Claude Bernard Lyon 1 University, Lyon, France
13. Service de génétique médicale, CHU de Marseille, Marseille, France
14. INSERM, MMG, Aix Marseille Université, Marseille, France
15. Département de génétique médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
16. INSERM U1183, Université de Montpellier, Montpellier, France
17. Département de Génétique, APHP-Robert DEBRE University Hospital, Paris, France
18. INSERM UMR1141, USPC University, Paris, France
19. Service de génétique clinique, CHU Rennes, Rennes, France
20. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France
21. Service de génétique, CHU de Tours, Tours, France
22. UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Tours, France
23. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France
24. Centre de génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
25. Service de Génétique, CHU de Reims, Reims, France
26. Service de Génétique Médical, CHU Nantes, Nantes, France
27. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles Nicolle, CHU Rouen, Rouen, France
28. Service de Génétique Clinique Guy Fontaine, CHRU de Lille-Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
29. Centre de référence maladies rares pour les anomalies du développement Nord-Ouest, CHU de Lille, Lille, France
30. UF de génétique médicale, Maternité régionale, CHU de Nancy, Nancy, France
31. EPICAD LNC-UMR1231, Burgundy & Franche Comte University, Dijon, France
32. FHU-TRANSLAD, Équipe EA42271 GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, DISSEQ, Exome

Résumé :

Le diagnostic de la déficience intellectuelle (DI) reposait jusqu'à récemment sur l'expertise clinique, l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), la recherche du syndrome X-fragile (FRAXA) et l'étude de gènes ciblés. Si l'expertise clinique ne permet pas de cibler l'étude de gènes en particulier, ces différents outils aboutissent à un diagnostic chez seulement 20% des patients sans diagnostic clinique, au prix parfois de nombreux examens biologiques coûteux. La génétique médicale connaît actuellement un véritable bouleversement technologique par le développement du séquençage haut débit (SHD), permettant l'analyse de panels de gènes ciblés et d'exome (ES).

Le PRME DISSEQ a pour objectif d'évaluer l'efficacité de différentes stratégies de SHD dans le diagnostic des patients atteints de DI à partir d'une cohorte de 330 patients (205 hommes/127 femmes) et sans investigation génétique antérieure. Trois stratégies ont été réalisées en parallèle à l'aveugle: stratégie classique (ACPA+FRAXA+séquençage de gènes ciblés), stratégie 1 (ACPA+FRAXA+panel DI459 solo) et stratégie 2 (FRAXA+ES solo).

A ce jour, environ un tiers de la cohorte a été analysée. Parmi les 39 résultats positifs (15 CNV, 25 SNV, 1 FRAXA dont 3 double hits), 16 ont été diagnostiqués par la stratégie classique (41%), 34 par la stratégie 1 (87%) et 35 par la stratégie 2 (90%) ; 35 présentaient une variation sporadique, 3 une variation héritée d'un parent, 3 des variations bialléliques et 1 un FRAXA. Seuls 30/41 variations causales (73%) ont été identifiés par la stratégie 1 (FRAXA+ACPA+panel DI459) et la stratégie 2 (FRAXA+ES), soit un taux de discordance de 27% : 5/11 retenus uniquement par la stratégie 2 car le gène causal est absent du panel, et 6/11 retenus uniquement par la stratégie 1 par discordance d'interprétation. Ces discordances étaient principalement liées à une présentation clinique atypique. Par ailleurs, la stratégie 2 a permis d'identifier des variations dans de nouveaux gènes candidats chez 3 patients.

Ces premiers résultats (ensemble des résultats disponible en fin d'année 2019) montrent que les discordances entre le panel et l'ES sont dues à l'absence des gènes causaux dans le panel et à une discordance d'interprétation dans des phénotypes atypiques pour l'ES, mais non par défaut de couverture de l'ES. Ceci conforte l'importance d'une double interprétation. Le panel ne permet pas d'identifier les variations des gènes récemment associés à la DI et montre également des limites pour identifier les CNVs, devant ainsi être couplé à l'ACPA. A l'inverse, l'ES semble efficace pour identifier SNVs et CNVs y compris dans les gènes récemment associés à la DI et dans des nouveaux gènes candidats. Cependant, le grand nombre de données disponibles pour l'ES peut conduire à un défaut d'interprétation des variations. L'approche de séquençage en trio pourrait limiter la non considération de certaines variations dans des gènes connus, non retenues du fait de phénotypes atypiques.

CS50 : L'haploinsuffisance du gène *SIN3B*, membre du complexe co répresseur Sin3/HDAC, est responsable de déficience intellectuelle syndromique et/ou d'autisme

Auteurs :

Xenia Latypova (1, 2), Marie Vincent (3), Alice Mollé (4), Oluwadamilare A. Adebambo (5), Cynthia Fourgeux (4), Tahir N. Khan (5, 6), Alfonso Caro (7), Monica Rosello (7), Dmitriy Niyazov (8), Damien Lederer (9), Marie Deprez (10), Yline Capri (11), Peter Kannu (12), Anne-Claude Tabet (13), Jonathan Levy (13), Emmelien Aten (14), Nicolette den Hollander (14), Jagdeep Walia (15), Ladonna L Immken (16), Pawel Stankiewicz (17), Kirsty McWalter (18), Sharon Suchy (18), Raymond J. Louie (19), Shannon Bell (19), Roger E. Stevenson (19), Justine Rousseau (20), Catherine Willem (21), Christelle Retiere (21, 22), Xiang-Jiao Yang (23), Philippe M. Campeau (20), Francisco Martinez (7), Jill A. Rosenfeld (17), Cédric Le Caignec (24), Sébastien Küry (24), Sandra Mercier (24), Kamran Moradkhani (24), Solène Conrad (24), Thomas Besnard (24), Benjamin Cogné (24), Nicholas Katsanis (5), Stéphane Béziau (25), Jeremie Poschmann (4), Erica E. Davis (5), Bertrand Isidor (25, 26)

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. Center for research in transplantation and Immunology, UMR1064, CHU-Nantes, Inserm, Université de Nantes, Nantes, France
5. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
6. Department of biological sciences, National University of Medical Sciences, Rawalpindi, Pakistan
7. Unidad de Genética, Grupo de Investigación Traslacional en Genética, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Espagne
8. Department of Pediatrics, Ochsner Clinic, New Orleans, Etats-Unis
9. Centre de Génétique Humaine, IPG, Gosselies, Belgique
10. Service de neuropédiatrie, Clinique Saint Elizabeth, Namur, Belgique
11. Service de génétique médicale, Hôpital Robert Debré, Paris, France
12. Division of Clinical and Metabolic Genetics, The Hospital for Sick Children, Toronto, Canada
13. Service de cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
14. Department of Clinical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-Bas
15. , Kingston General Hospital Research Institute, Kingston, Canada
16. Genetics department, Dell Children's Medical Center of Central Texas, Austin, Etats-Unis
17. Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
18. , GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
19. , Greenwood Genetic Center, Greenwood, Etats-Unis
20. , Sainte-Justine Hospital, Montréal, Canada
21. , Etablissement Français du Sang, Nantes, France
22. CRCINA, INSERM, CNRS, Université d'Angers, Université de Nantes, Nantes, France
23. Rosalind & Morris Goodman Cancer Research Center and Department of Medicine, McGill University, Montréal, Canada
24. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
25. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
26. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France

Mots clefs : régulation transcriptionnelle, complexe Sin3, déficience intellectuelle, *SIN3B*, acétylation, poisson zèbre

Résumé :

Les variants de gènes responsables de régulation transcriptionnelle sont des contributeurs majeurs aux pathologies neurodéveloppementales. Le complexe Sin3 assure un rôle central dans la désacétylation des histones et la répression transcriptionnelle, par modulation de l'activité de l'HDAC 1/2. Parmi les deux paralogues vertébrés du complexe Sin3, *SIN3A* et *SIN3B*, le gène *SIN3A* est connu pour être responsable de déficience intellectuelle syndromique. Les conséquences cliniques de l'haploinsuffisance de *SIN3B* n'ont pas été caractérisées à ce jour. Nous décrivons une nouvelle entité associant une déficience intellectuelle, des anomalies morphologiques, ainsi que de façon variable des troubles du spectre autistique, malformations congénitales, et anomalies du corps calleux. Un des patients est également atteint d'autisme isolé. En utilisant les techniques d'analyse chromosomique par puce à ADN ou de séquençage d'exome, et à travers la mise en commun de données lors de collaborations internationales, nous avons identifié chez neuf patients des délétions ou variants nucléotidiques hétérozygotes de *SIN3B*. Cinq patients sont porteurs de délétions hétérozygotes incluant *SIN3B*, ayant permis de définir une région minimale d'intérêt de 230 kb en 19p13.11, deux individus ont une substitution non synonyme rare et deux individus une délétion d'un nucléotide à l'origine d'un décalage du cadre de lecture et d'un codon stop. Afin de caractériser *in vivo* les conséquences de l'ablation de *SIN3B* et confirmer la pathogénicité des variants non synonymes, nous avons inactivé l'orthologue du gène chez le poisson zèbre par édition génomique et suppression transitoire. Nous montrons chez les larves, après inactivation, une perturbation de l'architecture cranio-faciale et des anomalies des axones commissuraux, soutenant l'hypothèse d'un rôle essentiel de *SIN3B* dans la croissance et la formation des structures antérieures. L'absence de restauration du phénotype associé à l'inactivation transitoire lors de l'injection d'ARNm variant nous permet de classer les deux variants non synonymes identifiés comme perte de fonction. Enfin, afin de préciser les conséquences moléculaires des variants de *SIN3B*, nous avons quantifié les activités des éléments cis-régulateurs par Chip-seq. Les profils d'acétylation obtenus sont similaires à ceux mis en évidence en cas d'haploinsuffisance de *SIN3A* : l'inactivation de *SIN3B* est associée à l'hyperacétylation d'une fraction de régions régulatrices dans les cellules mononucléées sanguines. En conclusion, nos résultats confirment le rôle crucial du complexe Sin3 dans le développement du système nerveux central et définissent le paysage épigénétique associé à la perturbation de son fonctionnement. Nous démontrons ainsi que l'haploinsuffisance de *SIN3B* est responsable chez l'Homme de déficience intellectuelle syndromique et/ou d'autisme.

CS51 : Protéasomopathies neurodéveloppementales causées par des altérations des gènes de sous-unités de la particule régulatrice 19S

Auteurs :

Sébastien KÜRY (1, 2), Frédéric EBSTEIN (3), Geeske M. VAN WOERDEN (4, 5), Thomas BESNARD (1), Cory ROSENFELT (6), Victoria MOST (7), Anna HAJDUKOWICZ (3), Virginie VIGNARD (2), Wallid DEB (1), Benjamin COGNE (1), Dustin BALDRIDGE (8), Cara FORSTER (9), Cyril MIGNOT (10), Boris KEREN (10), May MALICDAN (11), Siddharth SRIVASTAVA (12), Lesley ADES (13), Jennifer Ann BRAULT (14), Hind AL SAIF (15), Damara ORTIZ (16), Consortium PSMC3/PSMC5 (1), David GENEVIEVE (17), Richard REDON (2), Bertrand ISIDOR (1), Peter W.R. HILDEBRAND (18), Francois BOLDUC (6), Ype ELGERSMA (4, 5), Elke KRÜGER (3), Stéphane BEZIEAU (1)

1. Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. l'Institut du Thorax, INSERM, CNRS, Université de Nantes, Nantes, France
3. Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie, Universitätsmedizin Greifswald, Greifswald, Allemagne
4. Department of Neuroscience, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas
5. ENCORE Expertise Center for Neurodevelopmental Disorders, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas
6. Department of Pediatrics, University of Alberta, Edmonton, Canada
7. Institut für Biochemie, Universität Leipzig, Leipzig, Allemagne
8. Pediatrics, Washington University in St. Louis, St. Louis, Etats-Unis
9. -, GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
10. Département de Génétique, APHP, Paris, France
11. Medical Genetics Branch, NHGRI/NIH, Bethesda, Etats-Unis
12. Department of Neurology, Boston Children's hospital, Boston, Etats-Unis
13. Department of Clinical Genetics, The Children's Hospital at Westmead, Westmead, Australie
14. Department of Medicine, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, Etats-Unis
15. Department of Human and Molecular Genetics, Virginia Commonwealth University School of Medicine, Richmond, Etats-Unis
16. One Children's Hospital Drive, UPMC Children's Hospital of Pittsburgh, Pittsburgh, Etats-Unis
17. Département de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
18. Institut für Medizinische Physik und Biophysik, Universität Leipzig, Leipzig, Allemagne

Mots clefs : Protéasome, pathologie neurodéveloppementale, PSMC3, PSMC5, études fonctionnelles, modèles animaux

Résumé :

Contexte : La dégradation des protéines par le protéasome est essentielle à la protéostase des cellules eucaryotes. La rareté des variants pathogènes présents dans la cinquantaine de gènes directement impliqués dans la fonction protéasomale suggère qu'ils exercent une pression de sélection négative en compromettant la viabilité cellulaire. Par contraste avec les maladies auto-inflammatoires récessives induites par des altérations de la particule catalytique 20S du protéasome 26S, nous avons récemment décrit une pathologie neurodéveloppementale, le syndrome Stankiewicz-Isidor (MIM : 617516), causée par des variants *de novo* de *PSMD12*, gène de la sous-unité Rpn5 de la particule régulatrice 19S.

Méthodes : Grâce à une collaboration internationale nous avons recruté 21 individus atteints d'un retard du développement et porteurs de 19 variants probablement pathogènes dans deux autres gènes de la particule régulatrice 19S, *PSMC3* et *PSMC5*. Ces derniers codent pour des ATPases impliquées dans le dépliage et la translocation du substrat à dégrader vers le cœur protéolytique de la particule 20S. A partir de lymphocytes T d'individus atteints, nous avons évalué l'effet fonctionnel des variants sur l'activité du protéasome 26S et examiné leur impact possible sur les principales voies du neurodéveloppement. Nous avons enfin eu recours à des modèles *in vivo* murins et de drosophiles pour étudier leurs conséquences sur la fonction neuronale et le comportement.

Résultats : Les 19 variants candidats identifiés chez 21 individus non apparentés se distribuent en : 5 variants *de novo* dans *PSMC3* chez 6 individus et 14 variants (13 *de novo*, un homozygote) dans *PSMC5* chez 15 individus. La majorité des variants est localisée dans le domaine ATPase des deux sous-unités. Les individus porteurs d'un variant dans *PSMC3* présentent un retard de développement et des anomalies fréquentes à l'IRM cérébrale ?, ainsi que des anomalies cardiaques et/ou squelettiques, alors que les individus porteurs d'un variant dans *PSMC5* présentent majoritairement une déficience intellectuelle et des troubles du comportement. Nous avons observé une altération de la fonction du protéasome caractérisée par une diminution significative de son activité de type chymotrypsine, ainsi que par une accumulation de conjugués d'ubiquitine, une activation de la réponse UPR (unfolded protein response) et une altération de l'activité mTOR.

Conclusion : Ces résultats nous permettent d'élargir la liste des gènes codant pour des sous-unités de la particule protéasomique 19S responsables de troubles du neurodéveloppement. Les altérations des gènes *PSMC3* et *PSMC5* perturbent les systèmes de dégradation des protéines ainsi que la voie mTOR. Des analyses protéomiques et l'examen de modèle animaux sont en cours et devraient nous permettre d'approfondir nos connaissances sur cette catégorie, de description très récente et en pleine évolution, de protéasomopathies neurodéveloppementales.

CS52 : Elargissement du spectre phénotypique et des mécanismes physiopathologiques liés aux mutations dans le gène *EIF2S3***Auteurs :**

Stéphanie Moortgat (1)

1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique

Mots clefs : EIF2S3, syndrome MEHMO, poisson-zèbre, CRISPR/Cas9, apoptose cérébrale**Résumé :**

Le syndrome MEHMO (acronyme pour Mental deficiency with epileptic seizures, hypogonadism and hypogenitalism, microcephaly and obesity) est une forme rare de déficience intellectuelle syndromique liée au chromosome X, causée par des mutations hémizygotiques dans le gène *EIF2S3*. Ce gène code pour la sous-unité γ du complexe trimérique eIF2 qui joue un rôle primordial dans l'initiation de la synthèse protéique. Une mutation récurrente dans le gène *EIF2S3* (p.Ile465Serfs*4) entraînant un décalage du cadre de lecture a été identifiée chez des patients sévèrement atteints tandis que les quelques mutations faux-sens rapportées sont plutôt responsables d'un phénotype incomplet de déficience intellectuelle, microcéphalie, retard de croissance et épilepsie. Nous avons identifié une nouvelle mutation faux sens (c.433A > G, p.Met145Val) à l'état hémizygotique chez un sujet masculin présentant une déficience intellectuelle légère, microcéphalie et cryptorchidie. Nous avons choisi le poisson-zèbre comme modèle *in vivo* vertébré pour confirmer la pathogénicité de cette mutation ainsi que de trois autres mutations faux sens décrites dans la littérature. En effet, l'inactivation transitoire du gène *eif2s3* orthologue du poisson-zèbre par injection d'oligonucléotides (morpholinos) entraînait un phénotype de microcéphalie partiellement compensé par la co-injection d'ARN humain EIF2S3 sauvage, et non par celle d'ARN muté. La réalisation de différentes lignées mutantes stables par la technique de CRISPR/Cas9 a complété ces premières expériences et a permis la reproduction de la microcéphalie chez le poisson-zèbre. Des études d'immunofluorescence et d'apoptose au départ de ces différentes lignées ont montré que ce déficit était dû, en partie du moins, à une augmentation de la mort de cellules neuronales à un stade précoce du développement. Au niveau pancréatique, des études d'immunofluorescence et d'hybridation *in situ* ont révélé une diminution du nombre tant des cellules β sécrétrices d'insuline que des progéniteurs pancréatiques, non liée à de l'apoptose. Enfin, des études complémentaires au départ de cultures fibroblastiques de patients avec mutation faux sens ont montré la présence de la protéine eIF2 γ mais aucune apoptose n'a été mise en évidence, ni en condition de base, ni après utilisation d'inducteurs d'apoptose. En conclusion, nous confirmons l'élargissement du spectre phénotypique chez les patients avec mutation faux sens dans le gène *EIF2S3* et nous suggérons que le syndrome MEHMO soit spécifiquement lié à une mutation récurrente (p.Ile465Serfs*4) dans ce gène. Nous décrivons un modèle poisson-zèbre robuste qui récapitule le phénotype humain observé. Outre l'apoptose retrouvée de façon inconstante dans nos expériences, nos études fonctionnelles sur poisson zèbre et sur cultures fibroblastiques amènent de nouvelles perspectives physiopathologiques et suggèrent des défauts précoces de différenciation cellulaire.

CS52 : Elargissement du spectre phénotypique et des mécanismes physiopathologiques liés aux mutations dans le gène EIF2S3

Auteurs :

Stéphanie Moortgat (1), Isabelle Manfroid (2), Hélène Pendeville (3), Stephen Freeman (4), Valérie Benoit (1), Ahmad Merhi (5), Christophe Philippe (6, 7), Laurence Faivre (8, 9), Isabelle Maystadt (1)

1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique
2. Laboratory of Zebrafish Development and Disease Models (ZDDM), , GIGA-Research, Tour B34, Université de Liège, Liège, Belgique
3. Zebrafish Platform, GIGA-Research, Tour B34, Université de Liège, Liège, Belgique
4. Imaging and Flow Cytometry Platform, GIGA-Research, Tour B34, Université de Liège, Liège, Belgique
5. IPG BioBank, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique
6. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental disorders, Université de Bourgogne-Franche Comté, FHU TRANSLAD, Dijon, France
7. Unité Fonctionnelle « Innovation diagnostique dans les maladies rares », laboratoire de génétique moléculaire, plate-forme de biologie hospitalo-universitaire, CHU Dijon, Dijon, France
8. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est », Hôpital d'Enfant, CHU Dijon, Dijon, France
9. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France

Mots clefs : EIF2S3, syndrome MEHMO, poisson-zèbre, CRISPR/Cas9, apoptose cérébrale

Résumé :

Le syndrome MEHMO (acronyme pour Mental deficiency with epileptic seizures, hypogonadism and hypogenitalism, microcephaly and obesity) est une forme rare de déficience intellectuelle syndromique liée au chromosome X, causée par des mutations hémizygotiques dans le gène *EIF2S3*. Ce gène code pour la sous-unité γ du complexe trimérique eIF2 qui joue un rôle primordial dans l'initiation de la synthèse protéique. Une mutation récurrente dans le gène *EIF2S3* (p.Ile465Serfs*4) entraînant un décalage du cadre de lecture a été identifiée chez des patients sévèrement atteints tandis que les quelques mutations faux-sens rapportées sont plutôt responsables d'un phénotype incomplet de déficience intellectuelle, microcéphalie, retard de croissance et épilepsie. Nous avons identifié une nouvelle mutation faux sens (c.433A > G, p.Met145Val) à l'état hémizygotique chez un sujet masculin présentant une déficience intellectuelle légère, microcéphalie et cryptorchidie. Nous avons choisi le poisson-zèbre comme modèle *in vivo* vertébré pour confirmer la pathogénicité de cette mutation ainsi que de trois autres mutations faux sens décrites dans la littérature. En effet, l'inactivation transitoire du gène *elf2s3* orthologue du poisson-zèbre par injection d'oligonucléotides (morpholinos) entraînait un phénotype de microcéphalie partiellement compensé par la co-injection d'ARN humain EIF2S3 sauvage, et non par celle d'ARN muté. La réalisation de différentes lignées mutantes stables par la technique de CRISPR/Cas9 a complété ces premières expériences et a permis la reproduction de la microcéphalie chez le poisson-zèbre. Des études d'immunofluorescence et d'apoptose au départ de ces différentes lignées ont montré que ce déficit était dû, en partie du moins, à une augmentation de la mort de cellules neuronales à un stade précoce du développement. Au niveau pancréatique, des études d'immunofluorescence et d'hybridation *in situ* ont révélé une diminution du nombre tant des cellules β sécrétrices d'insuline que des progéniteurs pancréatiques, non liée à de l'apoptose. Enfin, des études complémentaires au départ de cultures fibroblastiques de patients avec mutation faux sens ont montré la présence de la protéine eIF2 γ mais aucune apoptose n'a été mise en évidence, ni en condition de base, ni après utilisation d'inducteurs d'apoptose. En conclusion, nous confirmons l'élargissement du spectre phénotypique chez les patients avec mutation faux sens dans le gène *EIF2S3* et nous suggérons que le syndrome MEHMO soit spécifiquement lié à une mutation récurrente (p.Ile465Serfs*4) dans ce gène. Nous décrivons un modèle poisson-zèbre robuste qui récapitule le phénotype humain observé. Outre l'apoptose retrouvée de façon inconstante dans nos expériences, nos études fonctionnelles sur poisson zèbre et sur cultures fibroblastiques amènent de nouvelles perspectives physiopathologiques et suggèrent des défauts précoces de différenciation cellulaire.

CS53 : Integration of polygenic scores, copy-number variants, inbreeding and ancestry increases the yield of genetic diagnostics for neurodevelopmental disorders in a large group of >13,000 individuals

Auteurs :

Claire Leblond-Manry (1), Freddy Cliquet (1), Myriam Rachid (2), Alexandre Mathieu (1), Julien Fumey (3), Amaury Vaysse (3), Thomas Rolland (1), David-Alexandre Tregouet (4, 5), Boris Keren (6), Julien Buratti (1), Sandra Chantot-Bastaraud (7), Eva Pipiras (8), Jonathan Lévy (2), Celine Dupont (2), Laurence Perrin (9), Alain Verloes (10), Anna Maruani (11, 1), Delphine Heron (12), Cyril Mignot (13), Brigitte Benzacken (14), Loïc De Pontual (15), Sandra Whalen (16), Jean-Pierre Siffroi (17), David Germanaud (18), Valérie Biran (19), Richard Delorme (20), Thomas Bourgeron (3), Anne-Claude Tabet (21)

1. Unité GHFC, département de neurosciences, Institut Pasteur, paris, France
2. UF de Cytogénétique -Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, paris, France
3. Unité GHFC, département de neurosciences, Institut Pasteur, Paris, France
4. UPMC , Univ. Paris 06, , Paris, France
5. INSERM, UMR S 1166, Team Genomics & Pathophysiology of Cardiovascular Diseases, , APHP, Paris, France
6. génétique chromosomique, Hôpital Pitié Salpêtrière, paris, France
7. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, paris, France
8. Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction,, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Bondy, France
9. Service de génétique clinique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, Paris, France
10. Service de génétique clinique, APHP, Paris, France
11. Service de psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, paris, France
12. Service de génétique clinique, CHU La Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France
13. Service de génétique clinique, CHU La Pitié Salpêtrière, APHP, paris, France
14. UF de Cytogénétique , Hopital Jean-Verdier, Bondy, France
15. Service de pédiatrie, Hôpital Jean Verdier, APHP, Bondy, France
16. Service de génétique clinique, CHU Trousseau, APHP, Paris, France
17. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
18. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
19. Service de néonatalogie, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
20. Département de psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, Hopital Robert Debré, Unité GHFC-Institut Pasteur, paris, France
21. UF de Cytogénétique -Département de Génétique/ Unité GHFC, département de neurosciences, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France/Institut Pasteur, Paris, France, paris, France

Mots clefs : polygenic scores, copy-number variants, ancestry, SNP array, neurodevelopmental disorders

Résumé :

Introduction: We analyzed the largest group to date of individuals from France with neurodevelopmental disorders (NDD) coming from four hospitals of AP-HP, France (Robert Debré, Trousseau, La Pitié Salpêtrière, Jean Verdier). The data from 8,300 patients, 2,000 relatives and 2,955 controls were collected from two Illumina SNP array platforms over 5 years (2013-2017). Patients were grouped according to the biomedicine agency categories: syndromic intellectual disability (S-ID; N=3047), multiple congenital anomalies (N=1025), isolated ID (N=1058), autism (N=1864) and other (N=1742). The CNVs were called using QuantiSNP and PennCNV and then compared to CNV partition, the algorithm used for diagnosis. Genotyping data were also used to estimate the ancestry and to compute the inbreeding coefficient as well as the polygenic score for different traits such as autism and intelligence.

Results: The analysis of this large sample of patients with NDD revealed several important results: First, QuantiSNP and PennCNV outperform CNV partition for the detection of CNVs. The new algorithms could increase the yield of genetic diagnosis (e.g. three patients with SHANK3 deletions were identified). Second, patients with S-ID, ID or autism had a higher burden of CNV affecting genes associated with NDD/autism or expressed in the brain or intolerant for deleterious mutation ($pLI > 0.9$) compared to controls. Interestingly patients with autism had also higher polygenic scores for autism compared to controls ($p < 10^{-22}$) or other diagnostic categories ($p < 10^{-3}$), confirming the strong polygenic contribution to autism. Third, we could find that a high level of inbreeding was a risk for S-ID and ID, but not for autism. Finally, the role of several genes will be discussed such as TRPM1, SHANK3, PTGER3, OTUD7A, MTMR10, PTGER3, SDHA, PIGW, HNF1B, GGNBP2, CCDC127, ACACA, KLF13, VPS37D, SPNS1, RIMBP3, BAZ1B and ATXN2L. These genes might be important to understand the shared and specific mechanisms leading to different clinical trajectories.

Conclusion: Our large-scale French study of NDD, combining new genetic approaches, provides a better yield of genetic diagnostic for NDD. It results from the collaboration between clinicians and quantitative geneticists through data sharing, standardization and multi-level analyses. In order to go further, more data such as whole genome sequencing and standardized clinical data from deep phenotyping will be necessary to provide better diagnostic and prognostic insight. We also observed a very high degree of heterogeneity in the ancestry of the population, which will require match ancestry controls in order to provide diagnostic to all individuals attending to the hospital in France, not only those from European descents for which we have control data.

CS54 : Rendement diagnostique du séquençage d'exome dans le trouble du spectre de l'autisme

Auteurs :

Thomas Husson (1, 2), Lecoquierre François (1), Kevin Cassinari (3), Charbonnier Camille (4), Quenez Olivier (4), Goldenberg Alice (3), Guerrot Anne-Marie (1), Richard Anne-Claire (4), Anne-Claire Brehin (1), Soleimani Maryam (3), Taton Romain (5), Maud Rotharmel (6), Antoine Rosier (5), Pascal Chambon (3), Le Meur Nathalie (3), Joly-Helas Géraldine (3), Saugier-Weber Pascale (3), Anne Boland (7), Deleuze Jean-François (7), Robert Olasso (7), Thierry Frebourg (3), Gael Nicolas (3), Olivier Guillin (4, 2), Dominique Campion (4, 2)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen, CHU de Rouen, ROUEN, France
2. Département de recherche, Centre Hospitalier du Rouvray, SOTTEVILLE-Lès-ROUEN, France
3. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Centre Ressources Autisme Normandie Seine Eure, CH du Rouvray, SOTTEVILLE-Lès-ROUEN, France
6. Département de recherche, CH du Rouvray, SOTTEVILLE-Lès-ROUEN, France
7. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, Evry, France

Mots clés : Trouble du spectre de l'autisme, génétique, séquençage à haut débit

Résumé :

Le TSA (Trouble du Spectre de l'Autisme) est caractérisé par l'apparition précoce de difficultés persistantes dans les interactions sociales associées à un caractère restreint des activités. Le déterminisme génétique du TSA est complexe, incluant de nombreux facteurs génétiques. Ces dernières années, un très important effort de recherche a permis l'identification de plusieurs centaines de facteurs de risque génétique dans le TSA, répartis en 3 grandes catégories : (1) gènes responsables de troubles neurodéveloppementaux monogéniques dont l'autisme est l'une des manifestations possibles, (2) CNVs récurrents associés à l'autisme dans des études cas/témoins et (3) gènes présentant un excès de mutations tronquantes de novo dans les études de trios. Il importe maintenant de retranscrire ces avancées sur le rôle des variants rares de fort impact en des termes directement utilisables par les cliniciens à l'issue de la consultation de génétique recommandée par la HAS pour tout patient avec TSA. Pour cela, nous avons établi des critères stricts pour la classification des gènes à risque ainsi que pour l'interprétation des variants et conduit une étude pilote sur 253 patients adressés à notre consultation suite à un diagnostic établi par notre centre de ressources autisme.

Nous avons séquençé l'exome de ces patients, dont 68 présentaient une déficience intellectuelle comorbide et 90 avaient reçu un diagnostic de syndrome d'Asperger. Notre *pipeline* bio-informatique a permis la détection des variants nucléotidiques et des variations du nombre de copies (*copy-number variation*, CNV). Nous avons utilisé des critères stringents pour la conception d'une liste de 217 gènes associés au TSA de façon certaine ou probable et classé ces gènes dans l'une au moins des trois catégories précédemment décrites. Pour les variants retenus, la transmission a été obtenue par séquençage Sanger des parents.

Nous avons détecté un variant génétique conférant un risque de TSA chez 19,7% des patients (IC95% : [15%-25,2%]), dont 18 sont des CNVs (7,1% [4,3%-11%]) et 32 des variants nucléotidiques (12,6% [8,8%-17,4%]). Lorsque l'échantillon a été séparé en sous-groupes cliniques, les patients avec déficience intellectuelle présentaient le taux de détection de variants pathogènes le plus élevé (30,1% [20,2%-43,2%]). Le groupe de gènes présentant un excès de variations *de novo* tronquantes (n= 81) est le plus fort contributeur de variants à risque chez nos patients. Les récentes grandes études de trio ayant permis leur découverte ont donc un impact majeur pour le diagnostic étiologique du TSA.

Dans la mesure où il n'y a pas actuellement de preuve d'une implication *nécessaire* et *suffisante* de ces gènes dans le TSA, nous recommandons d'éviter le terme « gènes/variants causaux de TSA » lors du rendu diagnostique et de préférer le terme « facteur de risque génétique de TSA ». Les implications de ces résultats en terme de conseil génétique seront discutées.

CS55 : Description de la série française des patients porteurs de variations bialléliques pathogènes du gène *NTHL1* issue des laboratoires du GGC**Auteurs :**

Flavie Boulouard (1), Edwige Kasper (1), Marie-Pierre Buisine (2), Gwendoline Lienard (1), Stéphanie Vasseur (1), Sandrine Manase (1), Michel Bauau (3), Virginie Bubien (4), Florence Coulet (5), Véronica Cusin (6), Marion Dhooge (7), Lisa Golmard (8), Vincent Goussot (9), Nadim Hamzaoui (10), Elodie Lacaze (11), Sophie Lejeune (12), Jacques Mauillon (1), Stéphane Pinson (13), Jean-Marc Rey (14), Camille Tlemsani (15), Christine Toulas (16), Nancy Uhrhammer (17), Gaëlle Bougeard-Denoyelle (1), Thierry Frebourg (1), Claude Houdayer (1), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Les laboratoires du Groupe Génétique et Cancer (GGC) (18)

1. Département de Génétique et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Inserm et Université de Rouen, Rouen, France
2. Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Oncogénétique Moléculaire, CHU de Lille, Inserm UMR-S 1172, Université de Lille, CHU de Lille, Inserm et Université de Lille, Lille, France
3. Département de Biochimie-biologie moléculaire, Pharmacologie, génétique médicale, CHU Henri Mondor, Créteil, France
4. Département de BioPathologie, Unité d'Oncogénétique - Laboratoire de génétique moléculaire, CLCC Institut Bergonié, Bordeaux, France
5. Département de Génétique, CHU Paris - Sorbonne Université - GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Département de Génétique, CHU Paris - Sorbonne Université - GH La Pitié Salpêtrière - Charles Foix - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Service de gastro-entérologie, CHU Paris Centre - Hôpital Cochin, Site Cochin, Paris, France
8. Service de Génétique - Unité de Génétique constitutionnelle, CLCC Institut Curie, PSL Research University, Paris, France
9. Département de biologie et pathologie des tumeurs, CLCC Georges-François Leclerc, Dijon, France
10. Service de génétique et biologie moléculaire - Biologie, Pharmacie, pathologie, CHU Paris Centre - Hôpital Cochin, Site Cochin, Paris, France
11. Service de génétique médicale, GH du Havre - Hôpital Jacques Monod, Le Havre, France
12. Clinique de Génétique, CHU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
13. Service de Génétique Moléculaire et Clinique - Unité Médicale de Génétique des Cancers et des Maladies Multifactorielles, CHU de Lyon HCL - GH Est, Lyon, France
14. Laboratoire de Biologie des Tumeurs Solides - Pôle Biologie Pathologie, CHU de Montpellier - Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
15. Service de Cancérologie, CHU Paris Centre - Hôpital Cochin, Site Cochin, Paris, France
16. Laboratoire d'oncogénétique - laboratoire de Biologie médicale oncologique, Institut Universitaire du Cancer Toulouse - Oncopole, Toulouse, France
17. Laboratoire de Biologie Médicale OncoGènAuvergne - Unité d'Oncogénétique, CLCC Jean Perrin, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
18. Génétique, Unicancer, Paris, France

Mots clefs : *NTHL1*, prédisposition héréditaire, cancer colorectal, polyposé

Résumé :

Les variations pathogènes bialléliques du gène *NTHL1* (Nth Like DNA Glycosylase 1) codant une glycosylase impliquée dans le mécanisme de réparation de l'ADN par excision de base (BER), sont décrites comme responsables d'une prédisposition au cancer colorectal et au développement de polypes adénomateux multiples. Actuellement, seuls 34 patients porteurs de variations pathogènes bialléliques de *NTHL1* appartenant à 22 familles ont été rapportés. Le spectre tumoral des porteurs d'une variation biallélique du gène *NTHL1* est dominé par les cancers colorectaux mais d'autres tumeurs de localisations variées ont été rapportées : cancers du sein, tumeurs cérébrales, cancers urothéliaux, carcinomes basocellulaires, cancers hématologiques et cancers de l'endomètre. Actuellement, le gène *NTHL1* n'est pas analysé au titre du diagnostic en France, même s'il est inclus dans des panels recherche. L'objectif de cette étude nationale consiste à documenter le nombre et le phénotype des patients porteurs d'une variation biallélique du gène *NTHL1* identifiée dans les laboratoires du Groupe Génétique et Cancer. Le gène *NTHL1* est principalement analysé dans un contexte de polyposé ou de cancer colorectal mais aussi dans le cadre d'un panel recherche élargi. Parmi les 10 centres effectuant l'analyse du gène, nous avons recueilli les données de 10 nouveaux patients porteurs de variations bialléliques du gène *NTHL1* issus de 9 familles différentes. Il s'agit de 6 variants distincts rapportés à l'état homozygote ou hétérozygote composite. La plupart des patients ayant bénéficié d'une coloscopie (7/8) ont présenté des polypes adénomateux et/ou hyperplasiques avec un âge moyen au diagnostic de 52 ans [24-63]. Nous rapportons dans cette série un cancer du côlon à 58 ans, un cancer duodénal à 52 ans, un cancer de l'endomètre à 51 ans, un sarcome sinonasal à 46 ans, deux cancers du sein à 42 ans et 47 ans, deux carcinomes basocellulaires à 40 ans et 64 ans, un cancer du pancréas à 54 ans, un cancer de la prostate à 47 ans et un ostéosarcome à 54 ans avec l'existence de 3 cas de tumeurs primitives multiples. Il s'agit de la deuxième série en nombre de patients rapportés. Ce travail national, en augmentant les connaissances sur le spectre phénotypique des porteurs d'altérations

bialléliques du gène *NTHL1*, encouragerait l'inclusion de ce gène dans le panel Tube digestif du Groupe Génétique et Cancer avec recommandations de prise en charge digestive adaptées aux patients à haut risque. En revanche, l'établissement de recommandations de surveillance liée au risque des autres cancers nécessite des études épidémiologiques approfondies.

CS56 : Recommandations nationales du Groupe Génétique et Cancer - Unicancer sur les modalités d'analyses en panels multi-gènes dans les prédispositions héréditaires aux tumeurs du tube digestif**Auteurs :**

Marion DHOOGHE (1), Stéphanie BAERT-DESURMONT (2), Carole CORSINI (3), Nadine ANDRIEU (4), Valérie BONADONA (5), Pascaline BERTHET (6), Bruno BUECHER (7), Olivier CARON (8), Odile COHEN-HAGUENAUER (9), Christine LASSET (5), Capucine DELNATTE (10), Antoine DE PAUW (7), Sophie DUSSART (5), Dominique LEROUX (11), Christine MAUGARD (12), Jessica MORETTA-SERRA (13), Cornel POPOVICI (13), Chrystelle COLAS (7), Catherine NOGUES (13)

1. Gastroentérologie, Hôpital Cochin, Paris, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire - Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
3. Service de Génétique, CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Inserm - Epidémiologie génétique du cancer, Institut Curie, Paris, France
5. Unité Clinique d'Oncologie Génétique, Centre Léon-Berard, Lyon, France
6. Service d'Oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen, France
7. Département d'Oncologie Génétique, Institut Curie, Paris, France
8. Département d'Oncogénétique, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
9. Unité d'Oncogénétique, GH Saint-Louis-Lariboisière-Fernand-Widal, Paris, France
10. Unité d'Oncogénétique, Institut Cancérologique de l'Ouest - René Gauducheau, Nantes, France
11. Département d'Hématologie, Onco-Génétique et Immunologie, CHU de Grenoble - Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
12. Consultation d'oncogénétique, CHU de Strasbourg - Hôpital Civil, Strasbourg, France
13. Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers - Oncogénétique clinique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

Mots clefs : Cancer colorectal, polyposé colique, séquençage NGS, panel

Résumé :**INTRODUCTION**

Face à une suspicion de prédisposition héréditaire aux cancers du tube digestif avec ou sans polyposé, le séquençage de nouvelle génération (NGS) permet d'analyser simultanément un grand nombre de gènes. Des panels de gènes dits «digestifs», ont été récemment mis en place et sont couramment utilisés dans de nombreux laboratoires de génétique moléculaire français. En l'absence de recommandations nationales, il existe des disparités dans la composition de ces panels et dans la prise en charge des patients porteurs de mutations délétères.

MATERIELS ET METHODES

Afin d'harmoniser ces nouveaux panels, le Groupe Génétique et Cancer (GGC)-Unicancer a constitué un groupe de travail de 19 experts (généticistes cliniciens et moléculaires, conseiller en génétique, gastroentérologues et épidémiologistes français) qui ont procédé à une revue de la littérature pour 31 gènes jugés d'intérêt en cas de suspicion de prédisposition héréditaire aux tumeurs gastro-intestinales.

Le groupe a identifié les articles comportant des estimations de risques tumoraux. Leurs résultats et éventuels biais ont été discutés afin de valider une liste des gènes dont le risque estimé semblait suffisamment fiable et élevé pour une utilisation clinique.

En raison de leur statut bien établi, les gènes MMR et APC n'ont pas été évalués. Pour le gène *MUTYH*, seuls les risques associés aux mutations délétères mono alléliques ont été étudiés.

Ont été retenus pour constituer le panel, les gènes dont les mutations sont associées à un risque de tumeurs du tube digestif et / ou à un phénotype digestif bien établis, justifiant une prise en charge spécifique.

RESULTATS

Ce travail a permis de définir un panel de 14 gènes d'intérêt clinique confirmé : *APC*, *BMPR1A*, *CDH1*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH* (mutations bi-allélique), *PMS2*, *POLD1*, *POLE*, *PTEN*, *SMAD4* et *STK11* que le GGC-Unicancer recommande d'utiliser lors d'une suspicion de prédispositions aux cancers du tube

digestif.

Les raisons de l'exclusion des 17 autres gènes ont été argumentées.

L'insuffisance des estimations des risques tumoraux associés a mené à l'exclusion de gènes, en particulier *CTNNA1*, *MSH3* et *NTHL1*, malgré des arguments physiopathologiques très évocateurs comme leur implication dans certaines voies moléculaires.

Les recommandations de dépistage, de prévention et le conseil génétique ont été discutés pour tous les gènes évalués.

CONCLUSION

Face à une suspicion de prédisposition héréditaire aux cancers du tube digestif avec ou sans polypose, le groupe GGC-Unicancer recommande d'utiliser ce panel de 14 gènes d'intérêt clinique établi.

En raison de l'évolution rapide des connaissances, une mise à jour annuelle de la littérature est prévue pour améliorer ce panel en cas de données nouvelles sur des gènes candidats.

Des études génétiques et épidémiologiques sont nécessaires pour mieux estimer les risques associés aux gènes non sélectionnés dans le panel actuel.

CS57 : Développement et validation d'un essai fonctionnel TP53 rapide sur prélèvement sanguin

Auteurs :

Sabine Raad (1), Marion Rolain (2), Sophie Coutant (1), Céline Derambure (1), Raphaël Lanos (1), Emilie Bouvignies (2), Stéphanie Vasseur (2), Edwige Kasper (1), Abdellah Tebani (3), Stéphanie Baert-Desurmont (4), Soumeiya Bekri (3), Gaëlle Bougeard (1), Thierry Frébourg (1), 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 Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
3. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Biochimie Métabolique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, 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 : TP53, p53, test fonctionnel, Li-Fraumeni, cancer, prédisposition génétique

Résumé :

Chez un patient atteint d'un cancer, l'identification d'une variation constitutionnelle pathogène de *TP53* a un impact médical majeur, à la fois pour la prise en charge thérapeutique (chirurgie élargie plutôt que radiothérapie et chimiothérapie complémentaire pour réduire le risque de tumeurs secondaires) et pour son suivi et celui des apparentés porteurs, suivi incluant IRM corps entier, IRM cérébrale et IRM mammaire. Le défi majeur pour les laboratoires diagnostiques est l'interprétation des variations détectées dans ce gène qui sont majoritairement des variations faux-sens. Le nombre de variants de *TP53* à interpréter est en évolution rapide suite à l'intégration récente de ce gène dans les panels élargis tels que ceux dédiés aux prédispositions génétiques aux cancers du sein et de l'ovaire. Notre équipe a développé il y a quelques années un test fonctionnel simple pour évaluer l'impact de variants sur l'activité transcriptionnelle de p53. Ce test réalisé dans le contexte génétique des patients nécessite l'établissement d'une lignée lymphoblastoïde, ce qui n'est pas compatible avec les exigences du diagnostic en termes de délai. Nous avons donc développé un essai fonctionnel réalisé directement sur le sang des patients et permettant d'obtenir rapidement un résultat en 7 jours. Après prélèvement sur tube EDTA, les cellules mononuclées du sang sont isolées et stimulées pendant 48h avec une combinaison de mitogènes, puis exposées pendant 8 heures à la doxorubicine afin d'induire un stress génotoxique. La réponse transcriptionnelle médiée par p53 est évaluée à la fois par RT-QMPSF et RT-MLPA mesurant l'expression de (i) 10 gènes cibles de p53, (ii) de *TP53* lui-même, (iii) de 3 gènes contrôles insensibles au stress génotoxique et (iv) d'un gène marqueur du stress génotoxique. Ce test rapide permet également de révéler de façon simultanée l'impact d'altérations sur les niveaux de transcrite du gène *TP53*. Nous avons à ce jour réalisé cet essai fonctionnel sur près de 80 prélèvements de cas index ou d'apparentés adressés à notre laboratoire pour analyse de *TP53* parmi lesquels 18 étaient porteurs d'un variant de *TP53*. Le test a été réalisé en aveugle en parallèle du criblage mutationnel. Les variants de classe 4 et 5 ont été clairement identifiés dans ce test par un score fonctionnel réduit par rapport aux individus de génotype sauvage. Parmi ces variants, les mutations aboutissant à un codon stop prématuré (mutation frameshift, mutation d'épissage) ont été révélées par une réduction des niveaux de transcrits de p53 par le NMD (*nonsense-mediated mRNA decay*). À l'aide de ce test, nous avons maintenant entrepris d'analyser des variants de signification biologique inconnue de *TP53* et d'évaluer la réponse transcriptionnelle liée à p53 dans les cellules de patients très évocateurs d'un Li-Fraumeni sans mutation détectée des régions codantes de *TP53* afin de démasquer d'éventuelles altérations cryptiques. * S.RAAD et M. ROLAIN contribution égale

CS58 : Ostéosarcome primaire sans rétinoblastome et variant pathogène constitutionnel RB1 à faible pénétrance : une nouvelle entité clinique du syndrome de prédisposition héréditaire lié à RB1?**Auteurs :**

Marion Imbert-Bouteille (1), Marion Gauthier-Villars (2), Dominique Leroux (3), Isabelle Meunier (4), Isabelle Aerts (5), Livia Lumbroso-Le Rouic (6), Sophie Lejeune (7), Capucine Delnatte (8), Caroline Abadie (8), Pascal Pujol (9), Claude Houdayer (10, 11), Carole Corsini (9)

1. Département de génétique médicale, CHU Montpellier, Université Montpellier, Montpellier, France
2. Département de biologie tumorale, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France
3. Département de génétique médicale, CHU Grenoble, Grenoble, France
4. Centre national des maladies rares, Troubles héréditaires de la rétine et du nerf optique, CHU Montpellier, Université Montpellier, Montpellier, France
5. Département d'oncologie pédiatrique, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France
6. Département d'oncologie oculaire, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France
7. Département de génétique médicale, CHRU Lille, Lille, France
8. Oncogénétique, Site de l'Institut de cancérologie de l'Ouest René Gauducheau, Saint-Herblain, France
9. Service de génétique médicale, Unité d'oncogénétique clinique, CHRU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
10. Département de génétique, CHU de Rouen, Université Normandie, Inserm U1245, Rouen, France
11. F76000 et Université Normandie, UNIROUEN, Inserm U1245, Centre de Normandie pour la génomique et la médecine personnalisée, Université et INSERM, Rouen, France

Mots clefs : gène RB1, sarcome, ostéosarcome, mutation à faible pénétrance, dépistage, IRM corps entier, nouvelle entité

Résumé :

Introduction: Le rétinoblastome (Rb) est une tumeur maligne intraoculaire rare de l'enfant dont la survie globale est élevée. La prédisposition au Rb est liée à des mutations constitutionnelles du gène *RB1* avec une forte pénétrance dans la majorité des cas, mais des variants rares de *RB1* à faible pénétrance sont également connus. Les patients avec un antécédent personnel de rétinoblastome ont un sur-risque de développer une tumeur maligne (primitive) secondaire, principalement un ostéosarcome et/ou un sarcome des tissus mous. Néanmoins, le risque de survenue d'ostéosarcome primaire chez les porteurs de mutation germinale *RB1* n'ayant pas développé de rétinoblastome n'a encore jamais été rapporté.

Méthode : Nous décrivons un patient sans Rb qui a développé un ostéosarcome à 17 ans dans un contexte familial de sarcome.

Résultats: De manière inattendue, les analyses génétiques ont identifié une mutation germinale à faible pénétrance du gène *RB1* [NM_000321.2: c.45_76dup; p. (Pro26Leufs*50)]. Huit autres patients porteurs de mutations *RB1* à faible pénétrance, issus de la littérature et de la cohorte française de l'Institut Curie, ont également développé des ostéosarcomes et sarcomes sans Rb au préalable.

Conclusion : Nous proposons que la survenue initiale d'un sarcome ou d'un ostéosarcome primaire pourrait être une nouvelle présentation clinique de la prédisposition héréditaire liée aux variants pathogènes de *RB1* à faible pénétrance. D'une part, une vigilance clinique accrue est nécessaire dans ces familles afin de dépister les tumeurs malignes primaires et secondaires telles que les sarcomes ou les ostéosarcomes. D'autre part, en complément de la surveillance ophtalmologique se discute la réalisation d'une surveillance radiologique par IRM corps entier chez les apparentés asymptomatiques porteurs de la mutation *RB1* de faible pénétrance.

Pièce jointe : abstract assises 2020 Corsini et al définitif.pdf

CS59 : Identification de potentielles séquences régulatrices distantes des gènes de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire.**Auteurs :**

Nicolas GOARDON (1), Agathe RICOU (2), Alexandre ATKINSON (2), Edwige LEMOISSON (3), Marilyne GUILLAMIN (3), Victor BARRAUX (4), Alain BATALLA (4), Germain ROUSSELET (5, 6), Sophie KRIEGER (2), Laurent CASTERA (2), Laurent POULAIN (3), Paul-Henri ROMEO (5, 6), Thierry FREBOURG (7, 8), Dominique VAUR (9)

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. 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. Inserm U1086, CLCC Centre François Baclesse., Caen, France
4. Radiothérapie, CLCC Centre François Baclesse., Caen, France
5. DSV-iRCM-LRTS, CEA, Fontenay aux Roses, France
6. INSERM U967, CEA, Fontenay aux Roses, France
7. INSERM U1245. Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Université de Normandie, Rouen, France
8. Département de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Rouen, France
9. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée., Centre Hospitalier Universitaire, Caen, France

Mots clefs : Prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire, Séquences régulatrices, TAD, Capture-C

Résumé :

Près de 5 % des cancers du sein et de l'ovaire correspondent à des formes familiales liées à une prédisposition génétique. Depuis ces deux dernières décennies, de nombreuses mutations délétères conférant des niveaux de risques variables en fonction du gène affecté ont été décrites. De même, de nombreuses études pangénomiques ont mis en évidence l'existence de SNPs conférant un risque faible. Ces différentes mutations et SNPs ainsi que leur combinaison ne peuvent néanmoins expliquer l'ensemble des situations cliniques évocatrices d'un risque génétique augmenté. Cette hérédité manquante pourrait ainsi être due à des situations multigéniques ou oligogéniques mais aussi à des événements présentant un déterminisme monogénique et affectant les séquences non codantes du génome. En effet, plusieurs études génomiques ont démontré que pour de nombreuses pathologies humaines incluant le cancer, les variants rares ne se cantonnent pas au 2% codant du génome mais qu'une grande majorité se situe dans des régions du génome occupées par des protéines liant l'ADN. Ces variants pourraient dès lors altérer des séquences régulatrices proximale ou distante, et ainsi l'expression des gènes associés. Afin d'identifier les séquences régulatrices à distance des gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C* et *RAD51D*) peu caractérisées, nous avons utilisé la méthode de capture de la conformation des chromosomes « capture-C » qui combine la technologie de capture d'oligonucléotides, la technologie 3C et le séquençage à haut débit permettant ainsi d'interroger à haute résolution dans un seul test les interactions en cis et potentiellement en trans pour des centaines de locus sélectionnés. Dans un premier test, nous avons pu ainsi identifier des régions d'interactions avec les promoteurs de chacun de ces gènes dans des cellules primaires mammaires sauvage ou irradiées afin d'induire des cassures double brin de l'ADN. Ces zones d'interaction se situent entre une dizaine de Kb et jusqu'à 1 Mb en amont ou aval du promoteur des gènes étudiés. De plus, certaines de ces zones d'interaction interagissent de manière différentielle en fonction de l'irradiation ou non des cellules. La comparaison des données de la capture-C avec les données de Hi-C de la littérature montre que certaines interactions ne sont pas comprises dans le domaine d'association topologique (TAD) ou se trouve le gène correspondant et montre ainsi des interactions inter-TADs. Aucune interaction en trans n'a pu être observée dans ces conditions. L'identification des potentielles séquences régulatrices distantes des gènes *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C* et *RAD51D* sera répliquée dans les cellules mammaires puis poursuivie dans des cellules primaires ovariennes et prostatiques afin d'identifier les séquences régulatrices tissu spécifique. L'impact de variants affectant ces séquences sera ensuite étudié dans le cadre de la prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire.

CS60 : Caractérisation de 200 variations hétérozygotes du gène PMS2 identifiées chez 195 patients français présentant un syndrome de Lynch**Auteurs :**

Qing Wang (1), Julie Leclerc (2), Gaëlle Bougeard (3), Sylviane Olschwang (4), Stéphanie Vasseur (5), Kévin Cassinari (3), Denis Boidin (6), Cedrick Lefol (1), Pierre Naïbo (1), Thierry Frebourg (3), Marie-Pierre Buisine (2), Stéphanie Baert-Desurmont (3), (GGC) Le Groupe Génétique et Cancer (7)

1. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle HCL-CLB, Centre Léon Bérard, Lyon, France
2. Institut de Biochimie et Biologie moléculaire, CHU de Lille, et Inserm UMR-S 1172, Centre de Recherche Jean-Pierre Aubert, Université de Lille, Lille, France
3. Département de Génétique et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Inserm et Université de Rouen, Rouen, France
4. Aix Marseille Université, INSERM GMGF UMR 1251; Département de Génétique Médicale, Hôpital Européen & Groupe Ramsay Générale de Santé, Hôpital Clairval, Marseille, France
5. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Institut de Biochimie et Biologie moléculaire, CHU de Lille, Lille, France
7. CRLCC et CHU, Unicancer, Paris, France

Mots clefs : prédisposition héréditaire au cancer, syndrome de Lynch, PMS2, défaillance du système de réparation MMR

Résumé :

Une variation pathogène hétérozygote du gène *PMS2* est identifiée chez environ 5 % des patients présentant un syndrome de Lynch. Cependant cette contribution est probablement sous-estimée et la description du phénotype associée limitée, compte-tenu de la complexité des techniques d'analyse requises, liées à l'existence de nombreux pseudogènes très homologues. Nous rapportons 200 variations hétérozygotes du gène *PMS2*, incluant 112 variations distinctes, identifiées chez 195 patients français, analysés dans les laboratoires de Lille, Lyon et Rouen. Nous avons classé, selon les critères InSiGHT et NGS-Diag adaptés de l'ACMG, 67 % des variations en pathogènes (classe 5), 7 % en probablement pathogènes (classe 4) et 26 % en variations de signification inconnue (classe 3). Les réarrangements génomiques représentaient 18 % des altérations. Nous avons mis en évidence des variations récurrentes, notamment la variation c.137G > T, p.(Ser46Ile) identifiée chez 18 % des patients, et pour laquelle nous avons exploré l'hypothèse d'un effet fondateur. Dans cette série, les 161 patients porteurs d'une variation de classe 4 ou 5 de *PMS2*, ont présenté leur première tumeur à 49 ans en moyenne. Il s'agissait majoritairement d'un cancer colorectal (80 %) ou d'un cancer de l'endomètre (8 %). De manière remarquable, sept patients ont développé un cancer colorectal avant l'âge de 30 ans, le plus jeune à 21 ans. Seuls 6 % des patients porteurs d'une variation pathogène appartenaient à une famille répondant aux critères d'Amsterdam (II). Les tumeurs des patients porteurs de variations pathogènes de *PMS2* présentaient une instabilité microsatellitaire (96 %) et une perte d'expression isolée de la protéine PMS2 en immunohistochimie (76 %), confirmant ainsi la valeur prédictive positive des analyses somatiques. Nous confirmons donc sur cette série de 195 patients français (i) la faible pénétrance globale des variations pathogènes du gène *PMS2*, en soulignant toutefois que cela n'exclut pas la survenue de cas précoces de cancers (5 % avant 30 ans) et donc l'implication de facteurs modificateurs, et (ii) la haute valeur prédictive positive de la perte d'expression isolée de la protéine PMS2, vis-à-vis d'une altération constitutionnelle du gène. Le gène *PMS2*, malgré sa complexité d'analyse spécifique, est désormais inclus dans les panels de gènes de prédisposition au cancer colorectal, mais également au syndrome sein/ovaire, ce qui conduit à l'identification d'un nombre croissant de variations de signification inconnue, dont la présence doit être confirmée par une méthode indépendante du NGS garantissant l'analyse spécifique du gène *PMS2*. Dans ce contexte, cette série de 200 variations interprétées constitue un atout majeur pour harmoniser l'expertise d'interprétation au niveau national et international.

Pièce jointe : Abstract PMS2 assises Tours 2020 VF.docx

CS61 : Impact psychosocial du test génétique prédictif dans les maladies cardiaques héréditaires : étude PREDICT.

Auteurs :

Céline Bordet (1), Sandrine Brice (2), Carole Maupain (1), Estelle Gandjbakhch (3, 1), Bertrand Isidor (4), Aurélien Palmyre (5), Alexandre Moerman (6), Annick Toutain (7), Sylvie Odent (8), Anne Claire Brehin (9), Laurence Olivier Faivre (10), Caroline Rooryck Thambo (11), Elise Schaefer (12), Karine Nguyen (13), Delphine Dupin Deguine (14), Cecile Rouzier (15), Pierre Simon Jouk (16), Marylin Lackmy Port Lis (17), Isabelle Denjoy (18), Stephanie Staraci (1), Rafik Mansouri (1), Amine Bekhechi (1), Ibticem Raji (1), Veronique Fressart (19), Flavie Ader (19), Pascale Richard (19), Sophie Tezenas du Montcel (20), Marcela Gargiulo (21, 22), Philippe Charron (1, 23)

1. Centre de référence des maladies cardiaques héréditaires, service de génétique clinique, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique, F75013, Paris, France
3. Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 6, ICAN, Département de Cardiologie, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Département de génétique clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
5. Département de génétique clinique, CHU Ambroise Paré, Paris, France
6. Département de génétique clinique, CHU de Lille, Lille, France
7. Département de génétique clinique, CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau, Tours, France
8. Département de génétique clinique, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
9. Département de génétique clinique, CHU de Rouen, Rouen, France
10. Département de génétique clinique, CHU Dijon Bourgogne - Hôpital François Mitterrand, Dijon, France
11. Département de génétique clinique, CHU Dijon Bourgogne - Hôpital François Mitterrand, Bordeaux, France
12. Département de génétique clinique, CHU de Strasbourg - Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
13. Département de génétique clinique, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
14. Département de génétique clinique, CHU de Toulouse - Hôpital Purpan, Toulouse, France
15. Département de génétique clinique, CHU de Nice - Hôpital l'Archet 2, Nice, France
16. Département de génétique clinique, CHU de Grenoble site Nord - Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
17. Département de génétique clinique, CHU de Guadeloupe, Pointe à Pitre, France
18. Département de cardiologie, centre de référence des maladies cardiaques héréditaires, CHU Paris Nord-Val de Seine - Hôpital Xavier Bichat-Claude Bernard, Paris, France
19. UF de cardiogénétique et myogénétique moléculaire et cellulaire, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
20. Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique, Département de Santé Publique, F75013, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
21. Institut de Myologie, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
22. Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis de Santé Publique, Medical Information Unit, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
23. Sorbonne Université, INSERM, UMR_S 1166 and ICAN Institute for Cardiometabolism and Nutrition, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : maladies cardiaques héréditaires, test génétique prédictif, impact psychologique.

Résumé :

Les maladies cardiaques héréditaires ont un mode de transmission le plus souvent autosomique dominant. Ces pathologies exposent au risque de troubles du rythme et/ou d'insuffisance cardiaque. L'expression cardiaque est le plus souvent retardée à l'âge adulte et la pénétrance parfois incomplète. Depuis 1999 un test génétique prédictif est disponible pour les apparentés asymptomatiques. Il permet d'identifier ceux qui ne sont pas à risque de développer la maladie et ceux qui nécessitent un suivi médical spécifique. L'impact psycho-social du test génétique prédictif est cependant mal connu dans ces pathologies.

L'objectif est d'évaluer l'impact psychologique et socio-professionnel de la révélation du statut génétique sur des consultants adultes ayant réalisé un test génétique prédictif pour une maladie cardiaque héréditaire.

Il s'agit d'une étude multicentrique (20 centres en France). L'avis et le vécu des consultants a été recueilli via des auto-questionnaires comprenant : échelle d'anxiété STAI, échelle d'impact de l'évènement (IES), évaluation du protocole de la consultation, de l'impact socio-professionnel, des modifications des relations familiales. Dans l'étude prospective, trois auto-questionnaires ont été remplis à différents moments et dans l'étude rétrospective un seul à distance du rendu de résultat.

Un total de 517 consultants (42.3 ± 16.7 ans, 60.6% femmes) ont été inclus (prospectif N=264 ; rétrospectif N=253). Les principales motivations pour réaliser le test étaient : 65.3% « pour lever le doute », 64.0%, « pour les enfants », 34.9% « pour bénéficier d'une surveillance médicale ». La majorité des consultants n'ont pas exprimé de regret à l'issue du test (2.3% ont regretté). Le résultat n'a pas entraîné de changement socioprofessionnel ni de changement dans les relations familiales dans 60,7% des cas (étude prospective). L'étude rétrospective met en évidence plus de changements dans le statut socioprofessionnel et/ou dans les relations familiales (changements perçus comme favorables ou défavorables) chez les porteurs de mutations ($p < 0,0001$). Le niveau d'anxiété (STAI) augmente avant le résultat du test et diminue pour revenir au niveau de base. Les sujets initialement anxieux sont plus susceptibles d'être anxieux après le résultat du test ($p < 0,0001$), quel que soit le résultat du test (étude prospective). Les sujets ayant des antécédents de dépression étaient plus susceptibles de développer de l'anxiété ($p=0,004$), quel que soit le résultat du test (étude rétrospective).

Nos résultats montrent que contrairement à l'idée reçue, le bénéfice médical n'est pas la motivation première des consultants réalisant un test génétique prédictif en cardiogénétique. La révélation du statut génétique n'entraîne pas ou peu d'impact négatif au niveau psychologique et socio-professionnel, lorsque la démarche est réalisée au sein d'une équipe ayant une expertise en médecine prédictive.

CS62 : Les attitudes de populations françaises envers l'annonce de la découverte d'anomalies génétiques non sollicitées

Auteurs :

Marion Rosier (1), Myriam Guedj (1), Patrick Calvas (2, 3), Sophie Julia (2, 4), Christelle Garnier (2), Anne Cambon-Thomsen (4), Maria Teresa Muñoz Sastre (1)

1. Laboratoire CERPPS, Université Toulouse - Jean Jaurès, Toulouse, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse, France
3. U563, CHU Purpan, Toulouse, France
4. U1027, Université Toulouse III - Paul Sabatier, Toulouse, France

Mots clefs : Génétique médicale, Découverte non sollicitée, NGS, Annonce au patient, Ethique biomédicale

Résumé :

L'utilisation des techniques de séquençage nouvelle-génération permet de détecter un nombre croissant d'anomalies génétiques non sollicitées. La découverte de ces informations soulève des questions éthiques concernant le retour de ces données au patient. Le but de notre étude était de mettre en évidence les points de vue des personnes issues du grand public, des patients suivis en service de génétique médicale, et des professionnels de santé concernant l'acceptabilité de l'annonce, à un patient, de la découverte d'une anomalie non sollicitée dans diverses situations. Nous avons interrogé 449 participants afin qu'ils évaluent si la décision du médecin concernant l'annonce de résultats non sollicités leur semble appropriée. Pour ce faire, deux jeux de 36 scénarios ont été présentés aux participants. Ces deux jeux diffèrent sur la pénétrance de la maladie (multifactorielle ou monogénique) et ont été créés à l'aide de toutes les combinaisons possibles de trois facteurs (l'information et le consentement du patient sur la découverte d'une anomalie non sollicitée ; la prévention et le traitement de la maladie non sollicitée ; la décision du médecin pour annoncer les résultats non sollicités). Les profils de réponses ont été regroupés en six clusters différents. Les résultats montrent que les patients, les personnes issues du grand public et les professionnels de santé prennent tous en considération les aspects éthiques, mais les professionnels de santé prennent en considération les aspects médicaux dans une plus large mesure que les deux autres populations dans l'acceptabilité de l'annonce des découvertes non sollicitées.

Pièce jointe : Résumé assises génétique médicale - Tours 2020.docx

CS63 : Les tests génétiques vus par les médecins non généticiens : Une collaboration à amplifier avec les généticiens.

Auteurs :

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

1. Service de Génétique Clinique et Centre Référence "Déficiences Intellectuelles de causes rares" (CRDI), Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
2. INSERM U1086, Anticipe, Normandie Université, Caen, France
3. Département de sociologie, IMTA, Nantes, France
4. Faculté de Droit, Université Rennes 1, Rennes, France
5. Service de Génétique Clinique, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
6. Pôle de santé publique, CHU Rennes, Rennes, France
7. , Alliance Maladies Rares, Rennes, France
8. Service de génétique clinique, CLAD Ouest, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
9. Espace régional de réflexion Ethique Normandie - Médecine légale et Droit de la santé, CHU Caen, Caen, France

Mots clefs : Examen des caractéristiques génétiques d'une personne, bonnes pratiques

Résumé :

Faisant le constat d'une prescription massive d'un examen des caractéristiques génétiques d'une personne (ECGP) dans toutes les disciplines médicales et à tous les âges de la vie, la génétique est devenue une étape courante et indispensable de la prise en charge des patients. Pourtant, ces pratiques sont caractérisées par une incertitude entre l'essor technologique de la connaissance du génome et les applications pour le diagnostic, les soins, et la prévention.

Par ailleurs, de par ses spécificités en termes d'interprétations, de risque héréditaire ou de tests présymptomatiques, l'ECGP fait l'objet d'un encadrement juridique contraignant ainsi que de recommandations de bonnes pratiques. Cet essor de données réglementaires autour des droits des personnes (notamment en termes d'information individuelle et à la parentèle, de formalisation du consentement et de protection de la personne) et un décalage avec les pratiques caractérisent également ce domaine médical.

Il nous est apparu indispensable d'explorer ces pratiques auprès des médecins **non** généticiens, qui sont et deviendront de plus en plus premiers acteurs de cette prescription. En effet des questions majeures accompagnent la prescription et le retour de résultats dans les années à venir et les équipes n'ont pas à ce jour de réponses ni de référentiels toujours clairs. Ces situations peuvent générer de grandes incertitudes et disparité de pratiques.

Nous avons donc conçu une étude qualitative selon une méthodologie de nature sociologique avec des entretiens de médecins prescripteurs inclus dans des focus groups. Une grille d'entretiens a été élaborée après une étude exploratoire. Le champ d'études a été restreint à 4 régions administratives (Bretagne, Pays de Loire, Centre et Normandie) et à deux disciplines médicales complémentaires et emblématiques de l'utilisation courante des tests génétiques selon des capacités différentes de traitement et de prévention : l'oncologie et la neurologie. Nous avons ainsi pu mener 6 focus groups réunissant 22 médecins issus des 2 spécialités de neurologie et onco-endocrinologie au cours de l'année 2018 (Angers, Caen, Nantes, Orléans, Rennes et Tours).

Après accord des participants, ces entretiens ont fait l'objet d'un enregistrement et d'une retranscription pour réaliser une analyse de contenu ayant pour but de documenter les divers registres et critères auxquels se réfèrent spontanément les professionnels pour apprécier les modalités de recours à cet examen, sa justification, son organisation, ses effets voulus et non-voulus.

Les points saillants de ces analyses de contenu seront présentés. En particulier, les tensions générées par cet ECGP et les vacillements professionnels induits conduisent à une demande de renforcements des

collaborations entre généticiens et non-généticiens.

CS64 : Tests génétiques préconceptionnels : résultats d'une première enquête française

Auteurs :

Valérie Bonneau (1, 2), Mathilde Nizon (3), Xénia Latypova (4, 5), Aurélie Gaultier (6), Eugénie Hoarau (1, 2), Stéphane Bézieau (7), Guy Minguet (8), Mauro Turrini (9), Maud Jourdain (1, 2), Bertrand Isidor (7, 10)

1. Département de Médecine Générale, Université de Nantes, Nantes, France
2. USR 3491, Maison des Sciences de l'Homme Ange Guepin, Nantes, France
3. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
5. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
6. Plateforme de Méthodologie et de Biostatistique, CHU Nantes, Nantes, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
8. , Ecole des Mines, Nantes, France
9. Droit et Changement Social UMR 6297, Maison des Sciences de l'Homme Ange Guépin, Université de Nantes, Nantes, France
10. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France

Mots clefs : dépistage génétique préconceptionnel, pathologie génétique récessive, médecine de la reproduction

Résumé :

Introduction

Les tests génétiques préconceptionnels ont jusqu'à très récemment uniquement concerné certaines communautés, ethnies, ou familles pour lesquelles un surrisque de maladie génétique était identifié. Un nouveau type de test préconceptionnel pourrait maintenant être proposé à la population générale. Ce test permet d'évaluer le risque pour un couple d'avoir un enfant atteint de certaines maladies génétiques rares, autosomiques récessives ou liées à l'X. Accessible à l'étranger, il n'est pas encore autorisé en France. L'objectif de notre étude était d'évaluer l'opinion de la population française concernant l'utilisation de ce type de tests.

Matériel et méthodes

L'étude repose sur un questionnaire, disponible en version imprimée et sur le logiciel de sondage en ligne Sphinx®, du 10 novembre 2017 au 05 mars 2018. Il a été proposé à la population générale *via* des *mailing-lists* personnelles et d'associations, ainsi que sur des réseaux sociaux et au sein de cabinets médicaux. Une analyse descriptive a été réalisée et complétée par une analyse multivariée, par régression logistique, avec comme variable à expliquer l'opinion favorable à l'accès au test en France.

Résultats

Mille cinq cent soixante-huit personnes ont participé à l'étude, 91 % sont favorables à l'accès à ce type de test en France et 57 % réaliseraient le test en cas de projet parental. Soixante-treize pour cent sont favorables à un test accessible sous prescription médicale et 78 % sont en faveur d'un remboursement par la sécurité sociale. Dix-neuf pour cent ne souhaiteraient pas recourir à ce test. Les principaux arguments avancés par les opposants au test sont les convictions éthiques et morales, l'inquiétude que ce test pourrait engendrer et la possible remise en question du projet parental. La majorité des participants estime que ce test est une véritable avancée médicale, mais qu'il peut également engendrer un risque de surmédicalisation de la grossesse et une dérive eugéniste.

Discussion

Notre étude rapporte une opinion largement favorable à l'accès au test en France, prescrit par un médecin, ainsi qu'à son remboursement. Cependant, chez les sujets ayant un projet parental et bien qu'ils soient directement concernés par cet examen, nous mettons en évidence une tendance moins favorable à l'accès au test en France. Bien que le test soit considéré comme une avancée médicale qui permettrait de diminuer le risque de handicap pour la descendance, les risques de dérive eugéniste et d'inquiétude générée par ces tests sont également évoqués par la majorité des participants. Le parcours de soins des futurs utilisateurs de ce test est un des enjeux de la diffusion du dépistage génétique préconceptionnel, puisque les informations dont ils disposeront et la réalisation éventuelle du test dépendront des ressources des professionnels de santé consultés

Pièce jointe : Tests génétiques préconceptionnels_résultats d'une première enquête française.docx

**CS65 : Tests génétiques par les sociétés « DTC » : mise en garde sur des pratiques dangereuses et rappel des fondamentaux
requis avant tout test génétique « prédictif »**

Auteurs :

Antoine DE PAUW (1), Mathias SCHWARTZ (1), Chrystelle COLAS (1), Lisa GOLMARD (1), Dominique STOPPA-LYONNET (1, 2)

1. Service de génétique, Institut Curie, Paris, France

2. INSERM U830 - Université Paris Descartes, Institut Curie - Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : Test génétique, conseil génétique, médecine prédictive, société DTC, WGS

Résumé :

Alors qu'il est aujourd'hui interdit en France de pratiquer des tests génétiques en dehors d'une prescription médicale ou d'une décision de justice, de plus en plus de nos concitoyens peuvent avoir accès à des données concernant leur génome en passant par des sociétés privées étrangères travaillant, *via* internet, en Direct To Consumer (DTC). Ces sociétés proposent, pour quelques centaines d'euros, un séquençage du génome (WGS : Whole Genome Sequencing) qui leur permet d'estimer les risques de développer un certain nombre de maladies génétiques mendéliennes ou multifactorielles.

Sous couvert d'une meilleure connaissance des risques et de la possibilité d'agir sur son mode de vie, voire de mettre en place une surveillance adaptée, et arguant de l'autonomie de décision de chacun, ces sociétés « DTC » vendent ces tests sans engager leur responsabilité en expliquant qu'elles ne fournissent aucun conseil médical. Par ailleurs, les offres commerciales proposées sont contraires aux principes fondamentaux qui régissent la réalisation des tests génétiques en France : nécessité d'une information claire et loyale avant la réalisation d'un test, nécessité de recueillir le consentement basé sur un choix éclairé de la personne, dispositif permettant des tests de qualité (autorisation des laboratoires, agrément des généticiens moléculaires), et restitution du résultat lors d'une consultation médicale pour transmettre des recommandations de prise en charge pour la personne et ses apparentés.

Les pratiques de ces sociétés « DTC » seront illustrées avec le cas d'un homme asymptomatique de 33 ans qui a sollicité en urgence la consultation de génétique de l'Institut Curie après avoir réalisé un WGS *via* internet et avoir été informé par e-mail de l'identification de deux variants pathogènes, l'un du gène *TP53* responsable du syndrome de Li-Fraumeni et l'autre du gène *APC* responsable de la polypose adénomateuse familiale. Aucun des principes fondamentaux de la pratique de génétique médicale rappelés plus haut n'a été respecté et la qualité du test génétique s'est avérée désastreuse puisqu'il s'agissait, après vérification, de deux faux positifs. Nous montrerons que ce test, en plus d'avoir généré une anxiété majeure, a conduit à la réalisation d'examens de dépistage invasifs et a généré des dépenses de santé inutiles.

Alors que la révision de la loi de bioéthique est examinée au Parlement et que certains plaident pour une libéralisation de l'accès des tests *via* internet, il nous apparaît indispensable de défendre les principes d'encadrement des tests génétiques mis en œuvre dès la loi de 1994 et de poursuivre les développements technologiques et de recherche qui permettent d'aller vers des estimations individuelles de risque les plus précises possible. Il nous revient également de communiquer clairement auprès de la population et de nos collègues non généticiens sur le caractère dangereux que peuvent avoir ces tests s'ils ne sont pas réalisés dans un cadre strict.

Pièce jointe : Abstract Assises Tours - Séquençage du génome entier par les sociétés DTC V3.docx

CS66 : La maladie génétique s'invite dans la famille, conséquences pour la fratrie

Auteurs :

Eva TOUSSAINT (1)

1. génétique médicale, chu Pellegrin, Bordeaux, France

Mots clefs : psychologie, fratrie, maladie génétique, systémie

Résumé :

En systémie on sait bien qu'« il est impossible de ne pas communiquer » , dans ma pratique de psychologue dans un service de génétique médicale, il m'est impossible de ne pas prendre en compte la famille lorsque je rencontre quelqu'un porteur d'une maladie génétique.

Si cela concerne un enfant alors immédiatement la question des parents et de leur souffrance s'impose et souvent on est attentif à la souffrance de la fratrie que dans un second temps.

Il sera question dans cette présentation de voir comment la fratrie vit l'intrusion de la maladie génétique et du handicap qui en découle le plus souvent. Que la fratrie naisse "avec ça" ou que cela vienne faire interruption au cours de la vie. Ce tiers, non invité, va être support de changement, de représentations, de fantasmes. il peut construire ou détruire la fratrie. En tout cas il interroge l'individu sur les liens fraternels.

Notre propos prendra en compte les spécificités liées à la composante génétique de la maldie qui soulèvent de nombreuses questions pour la fratrie:

aQu'est-ce que cela représente pour un enfant d'entendre parler de maladie « génétique » ?

aUne maladie rare est ce que cela veut dire que l'on est exceptionnel ou seul ?

aPeut-on avoir une maladie qui n'a pas de nom ?

aY a-t-il dans le groupe famille des sous-groupes : malade/pas malade ? porteur/pas porteur ?

aA qui ressemble mon frère/ma sœur ? A nous ? A ceux avec la même maladie ?

aPourquoi il n'y a pas de médicament si on connaît la maladie ?

CS67 : Analyse par séquençage à haut débit ciblé d'une cohorte de 352 patients porteurs de malformations congénitales des membres

Auteurs :

Fabienne ESCANDE (1, 2), Anne-Sophie JOURDAIN (1, 2), Malika BALDUYCK (1, 2), Perrine BRUNELLE (1, 3), William DUFOUR (3), Elise BRISCHOUX-BOUCHER (4), Cindy COLSON (5), Anne DIEUX (3), Marion GERARD (5), Jamal GHOMID (3, 2), Fabienne GIULIANO (6), Alice GOLDENBERG (7), Philippe KHAU VAN KIEN (8), Daphné LEHALLE (9), Gilles MORIN (10), Sébastien MOUTTON (9), Thomas SMOL (11, 2), Clémence VANLERBERGHE (3), Florence PETIT (3, 2), Sylvie MANOUVRIER-HANU (3, 2)

1. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
2. EA7364 RADEME, Université Lille, Lille, France
3. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHU Lille, Lille, France
4. Centre de Génétique Humaine, CHU Besançon, Besançon, France
5. Centre de Génétique, CHU Caen, Caen, France
6. Service de Médecine Génétique, CHUV Lausanne, Lausanne, Suisse
7. Service de Génétique Médicale, CHU rouen, Rouen, France
8. UF de Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU Nîmes, Nîmes, France
9. Centre de Référence pour les Anomalies du développement, Département de Génétique Médicale, CHU Dijon, Dijon, France
10. Centre d'activité de Génétique et d'Oncogénétique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
11. Institut de Génétique Médicale, CHU Lille, Lille, France

Mots clefs : Malformations des membres, NGS, panel ciblé

Résumé :

Les syndromes malformatifs touchant les membres constituent un groupe de pathologies cliniquement et génétiquement hétérogènes. Plus de 150 gènes et de nombreux remaniements génomiques impliqués dans des formes syndromiques ou non syndromiques d'anomalies des membres ont été décrits en pathologie humaine. En raison de cette importante hétérogénéité génétique, une proportion élevée de patients reste sans diagnostic moléculaire. Depuis 2002, notre équipe s'est impliquée dans le diagnostic génotypique de ces pathologies avec la mise en place progressive de l'analyse de gènes impliqués dans le développement des membres. Au cours de ces dernières années, les avancées en matière de séquençage à haut débit ont permis la mise en place de nouvelles stratégies diagnostiques. Nous rapportons, ici, la première grande série de patients atteints de syndromes malformatifs touchant les membres analysés par séquençage à haut débit ciblé.

Le recrutement a été réalisé sur une période de 3 ans. Trois cent cinquante patients, cas index, ont été inclus et classés en 7 grandes catégories phénotypiques après évaluation clinique centralisée : anomalies radiales, ectrodactylies, autres anomalies réductionnelles, brachydactylies, polydactylies, anomalies de fusion et hypo/aplasies patellaires. Quarante-trois à 52 gènes ou séquences régulatrices ont été étudiés par une technologie à haut débit par capture permettant la détection des variations ponctuelles (SNP) et des variations du nombre de copies (CNV).

Au total, 134 SNP et 26 CNV ont été identifiés chez 152 patients. Soixante-douze de ces variants n'avaient encore jamais été rapportés dans la littérature. Cent trente variants ont été classés comme pathogènes ou probablement pathogènes permettant une confirmation diagnostique chez 124 patients, soit un rendement diagnostique moyen de 35,2%. Ce taux est meilleur dans les formes syndromiques (43%) que dans les formes isolées (26%). Une analyse de la cohorte en fonction des différentes catégories phénotypiques montre que le rendement varie de 9,5% dans le groupe des anomalies réductionnelles à 95% dans le groupe des hypo/aplasies patellaires, confirmant qu'une évaluation clinique minutieuse des patients est indispensable.

Les résultats de cette étude montrent également que, pour le diagnostic moléculaire de ces pathologies, l'approche par séquençage à haut débit de cibles bien choisies constitue un outil efficace et rentable en pratique clinique puisqu'il nous a permis d'améliorer notre rendement diagnostique de 7.7%. Sept pour cent des altérations identifiées dans la cohorte correspondant à des CNV, il est aujourd'hui indispensable d'inclure la détection de ce type d'altérations dès les premières investigations moléculaires.

Pièce jointe : Résumé Assises 2020 Escande F.doc

CS68 : Expérience du Fast-Exome en moins de 16 jours en réanimation néonatale : projet REUNIR

Auteurs :

Marjolaine WILLEMS (1), Guilaine Boursier (2), Kevin YAUY (3), Deborah MECHIN (4), Nathalie RUIZ-PALLARES (5), Christine Coubes (6), Lucile PINSON (3), Constance WELLS (3), Patricia BLANCHET (3), Marion IMBERT-BOUETILLE (3), Thomas GUIGNARD (5), Jacques PUECHBERTY (3), Emmanuelle HAQUET (3), Odile PIDOUX (7), Sabine DURAND (8), Mahlia BADR (8), Christophe MILESI (7), Julien BALEINE (8), Gilles CAMBONIE (8), Floriane HEMERY (8), Maelle DEREURE (9), Olivier ARDOUIN (4), Marie-Christine PICOT (10), Renaud MESNAGE (8), Florence MASSON (8), Valentin RUAULT (3), Lucile MAZIERES (3), Isabelle TOUITOU (5), David Geneviève (6), Mouna BARAT-HOUARI (5)

1. Génétique Médicale, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France
3. Service de Génétique Médicale, hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France
4. Département de génétique moléculaire, pôle de biologie pathologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
5. Laboratoire des maladies rares et auto-inflammatoires, CHU de Montpellier, Montpellier, France
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France
7. Service de réanimation néonatale et soins intensifs de néonatalogie, Service de Génétique Médicale, hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
8. Service de réanimation néonatale et soins intensifs de néonatalogie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
9. Département d'Informatique Médicale, hôpital la Colombière, CHU de Montpellier, Montpellier, France
10. Unité de Recherche Clinique, hôpital La Colombière, CHU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : fast-exome, néonatalogie, réanimation

Résumé :

L'établissement du diagnostic étiologique d'une pathologie congénitale à révélation néonatale est une étape indispensable pour guider la prise en charge des patients et proposer un conseil génétique adapté. L'apparition des nouveaux outils de génétique pangénomiques a permis de raccourcir drastiquement les délais et d'augmenter considérablement les performances diagnostiques.

Dans le cadre de l'étude montpellieraine REUNIR (Rapide Exome en Unité de Néonatalogie soins Intensifs Réanimation) financée par un appel d'offre interne, nous avons proposé d'évaluer la faisabilité et l'efficacité de la mise en place d'un circuit « d'urgence », afin de réduire le temps de production d'un exome-trio avec résultat définitif dans un délai maximum de 16 jours. L'étude a prévu l'inclusion de 10 enfants, âgés de 0 à 12 mois, hospitalisés en réanimation, présentant un syndrome malformatif et/ou une détresse neurologique pour lesquels une origine génétique est suspectée, sans orientation diagnostique certaine.

A l'heure actuelle, nous avons inclus 6 enfants, âgés de 8 à 60 jours, présentant une hypotonie (5/6), des convulsions (2/6), une malformation cardiaque (2/6), des anomalies cranio-faciales (2/6), une insuffisance rénale (1/6).

Les librairies ont été préparées par SureSelect QXT Human All Exon V7 (Agilent), puis séquencées par NextSeq® 500/550 Mid Output Kit v2, Illumina. L'analyse et l'interprétation de l'exome en RCP post-test ont pu être réalisées en moyenne en 12 jours (8-14).

Le rendu de résultats aux parents a pu être effectué en moins de 16 jours pour tous les patients. Le résultat était positif chez 3 patients avec identification de mutation dans les gènes *NSD1* (n=1), *MTM1* (n=1), *KCNQ2* (n=1). Le résultat a modifié la prise en charge pour ces patients : il a permis de surseoir à la réalisation de biopsie musculaire (n=1), ponction lombaire (n=1), bilan métabolique (n=3), d'adapter le traitement épileptique spécifiquement chez le patient présentant une mutation *KCNQ2*, d'orienter le patient présentant une mutation *MTM1* vers un protocole thérapeutique. Deux patients sont décédés (âges de décès : 6 et 113 jours). L'identification de la mutation *MTM1*, héritée, a permis de proposer un conseil génétique adapté pour les apparentés concernés, incluant plusieurs femmes avec projet parental.

Le nombre de patients inclus est faible mais ces résultats préliminaires semblent néanmoins similaires à ceux rapportés au sein des séries les plus récentes (Wu et al. 2019). Au total, à l'heure actuelle, nous confirmons la faisabilité au sein d'un CHU français et l'intérêt du fast-exome chez des nourrissons dans des situations d'urgence en réanimation, permettant d'épargner des examens invasifs et/ou coûteux, d'identifier un diagnostic dans la moitié des cas, et d'améliorer spécifiquement la prise en charge. Ce projet nous a amené à réfléchir aux modalités d'organisation des différentes équipes protagonistes afin de réduire les délais de rendu de résultat aux familles.

Pièce jointe : Abstract_Fastexome-AssisesMW1910.docx

CS69 : Intérêt du séquençage de l'exome en "solo" dans les néphropathies indéterminées des jeunes adultes dans le contexte du Plan France Médecine Génomique 2025

Auteurs :

Alice Doreille (1), Laure Raymond (2), Anne-Sophie Lebre (3), Laurent Mesnard (1)

1. Urgences Néphrologiques et Transplantation Rénale, Tenon, Paris, France
2. Laboratoire de génétique, Eurofins Biomnis, Lyon, France
3. département de Génétique, La Pitié Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : néphrologie, adulte, exome, plan france médecine génomique 2025

Résumé :

Introduction

En néphrologie adulte, les examens de génétique sont rarement prescrits et le plus souvent dans des cas archétypaux avec histoire familiale. En France, les tests génétiques habituellement réalisés sont des panels de gènes, sélectionnés au mieux selon le phénotype du patient. Depuis un an, nous avons mis en place une approche par séquençage de l'exome en première intention chez les adultes jeunes avec néphropathie d'origine indéterminée. Nous avons évalué le rendement diagnostique et les répercussions cliniques de cette approche, ceci dans le contexte des pré-indications du plan France Médecine Génomique 2025 (PFMG2025).

Patients & Méthodes

Dans le cadre du soin courant, depuis septembre 2018, les patients incidents de moins de 45 ans, avec une néphropathie d'origine indéterminée, ont été prélevés pour un séquençage d'exome. Les patients atteints d'une polykystose dominante étaient exclus de l'étude. L'ADN génomique a été extrait, les régions codantes de l'exome (33 mégabases) ont été enrichies avec le kit Twist Human Core Exome, puis séquencées en paired-end sur NextSeq500 (Illumina). La ségrégation des variants a été étudiée par séquençage Sanger ciblé chez les apparentés, le cas échéant.

Résultats

Cent patients non apparentés ont été séquencés en 12 mois. Le séquençage de l'exome a permis de poser un diagnostic de certitude chez 33 patients, soit un **rendement diagnostique de 33%**.

La majorité des patients ont été **analysés en exome « solo »**, les deux parents n'étant disponibles pour un trio que dans 13 cas (dont 3 ayant abouti à un diagnostic de certitude).

Les principaux diagnostics génétiques étaient des basalopathies (n=10, 30 %) et des ciliopathies (n=9, 27%). **Ces résultats étaient le plus souvent inattendus**, avec des phénotypes relativement pauvres ou peu typiques. Dans tous les cas, après « reverse phenotyping », le diagnostic génétique a eu des conséquences : nouvelle perspective clinique, conseil génétique, aide pour la sélection des donneurs en cas de don vivant apparenté.

Parmi les 100 patients séquencés, **seuls 21 patients auraient éligibles pour le PFMG2025**, dont 3 ont abouti à un diagnostic.

Conclusion

Avec un rendement diagnostique important, des conséquences cliniques et thérapeutiques majeures et un coût mesuré, notre étude montre l'intérêt du séquençage de l'exome « solo » en 1ère intention dans les néphropathies indéterminées des jeunes adultes. Le critère obligatoire de l'étude en « trio » pour l'accès des patients au PFMG2025 est a posteriori restrictif en regard de notre expérience. Les diagnostics posés ont souvent été inattendus, validant l'intérêt d'une approche pangénomique d'emblée. En complément de cette étude, 4 patients avec trio ont été inclus dans le cadre du PFMG2025. L'analyse bioinformatique des séquences des génomes en trio est en cours et nous permettra de comparer les stratégies diagnostiques.

Pièce jointe : Table1_WES.pdf

CS70 : 5 années d'expérience diagnostique du séquençage haut débit de l'exome : des anomalies du développement à la médecine génomique des maladies rares

Auteurs :

Christel THAUVIN (1, 2), Ange-Line BRUEL (1), Antonio VITOBBELLO (1, 3), Frédéric TRAN MAU-THEM (1, 3), Arthur SORLIN (1, 4), Anne-Sophie DENOMME-PICHON (1, 4), Sophie NAMBOT (1, 2), Julien THEVENON (1, 5), Paul KUENTZ (1), Virginie QUERE (1, 6), Julian DELANNE (1, 5), Sébastien MOUTTON (1, 5), Daphné LEHALLE (1, 5), Nolwenn JEAN-MARCAIS (1, 5), Pierre VABRES (1, 6), Physician's Group Orphanomix (7), Martin CHEVARIN (1, 4), Charlotte POE (1, 4), Anne-Laure MOSCA-BOIDRON (1, 8), Patrick CALLIER (1, 8), Emilie TISSERAND (1), Yannis DUFFOURD (1, 4), Christophe PHILIPPE (1, 4), Laurence FAIVRE (1, 5)

1. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental disorders, Université de Bourgogne-Franche Comté, FHU TRANSLAD, Dijon, France
2. Centre de Référence Maladies Rares "Déficiences Intellectuelles de causes rares", FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Unité Fonctionnelle «Innovation diagnostique dans les maladies rares », laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
4. Unité Fonctionnelle «Innovation diagnostique dans les maladies rares », laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
5. Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement et syndromes maformatifs", FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Centre de Référence Maladies Dermatologiques en Mosaïques MAGEC, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
7. Le groupe des généticiens cliniciens Orphanomix inclut Alain Verloes (CHU Paris, France), Alexandra Karsenti (CHU Paris-Est, France), Alice Goldenberg (CHU Rouen, France), Aurélie Jacquette (CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, France), Béatrice Jouret (CHU Toulouse, France), Béatrice Laudier (CHU Orléans, France), Christine Coubes (CHU Montpellier, France), Christine Francannet (CHU Clermont-Fd, France), Daphné Lehalle (CHU Créteil, France), David Geneviève (CHU Montpellier, France), Delphine Heron (CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, France), Didier Lacombe (CHU Bordeaux, France), Elise Schaefer (CHU Strasbourg, France), Elodie Lacaze (CH Le Havre, France), Emmanuel Jacquemin (CHU Paris-Sud, France), Fabienne Prieur (CHU St-Etienne), Fanny Laffarge (CHU Clermont-Fd, France), Florence Petit (CHRU Lille, France), François Feillet (CHU Nancy, France), Gilles Morin (CHU Amiens, France), Gwenaëlle Diene (CHU Toulouse, France), James Lespinasse (CH Chambéry, France), Jeanne Amiel (CHU Paris, France), Judith Melki (CHU Paris-Sud, France), Laëtizia Lambert (CHU Nancy, France), Laurence Perrin (CHU Paris, France), Lucile Pinson (CHU Montpellier, France), Marie-Line Jacquemont (CHU Réunion, France), Marie-Pierre Cordier-Alex (CHU Lyon, France), Marine Lebrun (CHU St-Etienne, France), Marion Gérard-Blanluet (CHU Caen, France), Marjolaine Willems (CHU Montpellier, France), Massimiliano Rossi (CHU Lyon, France), Nicolas Chassaing (CHU Toulouse, France), Nicole Philip (CHU Marseille, France), Renaud Touraine (CHU St-Etienne, France), Salima El-Chehadeh (CHU Strasbourg, France), Séverine Audebert-Bellanger (CHU Brest, France), Sophie Blesson (CHU Tours, France), Yline Capri (CHU Paris, France), CHU, Dijon, France
8. Laboratoire de cytogénétique et génétique moléculaire, FHU TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : séquençage haut débit, exome, anomalies du développement, médecine génomique

Résumé :

Le diagnostic étiologique des patients atteints de maladies rares (MR) est un véritable enjeu de santé publique. En France, elles affectent plus de 6 millions de personnes, dont la moitié demeure actuellement sans cause génétique identifiée. La grande hétérogénéité clinique et génétique des MR est un véritable défi diagnostique pour le généticien. Depuis une dizaine d'années, la génétique médicale connaît un véritable bouleversement technologique avec le développement des techniques de séquençage à haut débit, permettant l'analyse de panels de gènes ciblés, de l'exome (ES) et du génome (GS).

Pionnière dans le domaine en France, notre équipe a réalisé depuis 2014 un ES diagnostique chez 1592 atteints de MR (515 positifs (33%) et 153 non concluants (10%)). Initialement, l'ES (gènes OMIM) était effectué en solo pour des raisons économiques chez les patients atteints d'anomalies du développement et/ou déficience intellectuelle (AD/DI) après ACPA normale, avec un diagnostic positif chez environ 25%. Au fil des années, nous avons développé une stratégie d'optimisation de l'analyse bioinformatique (détection des CNV +2% et des mutations de l'ADN mitochondrial +0,3%) et de l'interprétation des données (augmentation du nombre de bases de données interrogées dans le pipeline bioinformatique, RCP hebdomadaire, double lecture et pools parentaux). Une réanalyse annuelle des données, qui permet en moyenne de conclure chez 7% des patients négatifs, est également disponible à la demande des patients/cliniciens. Actuellement, le rendement diagnostique de l'ES avec pools parentaux chez les patients atteints de AD/DI sans diagnostic clinique évident s'élève à 37%. Fort de cette expérience, l'analyse d'ES a progressivement été étendue à d'autres MR telles que les maladies neurogénétiques/musculaires (77 patients), avec un taux diagnostique de 33% et la nécessité de développer de nouvelles expertises clinico-biologiques et des liens avec les réseaux de laboratoires experts. Nous avons également mis en place un circuit d'urgence pour la réanimation néonatale et le diagnostic prénatal. Par ailleurs, une réanalyse des données en recherche translationnelle (extension aux gènes non-OMIM) s'est avérée très performante avec l'identification d'environ 90 nouveaux gènes causaux, grâce à une interrogation systématique de l'ensemble de nos données et un partage de données des variations candidates sur des plateformes dédiées (GeneMatcher, DECIPHER, PhenomeCentral), qui pourront être complétées par le projet Solve-RD. Une projection de l'analyse systématique des données secondaires (différentes listes de gènes) a permis d'en évaluer les difficultés, les verrous à lever et les conséquences sur l'organisation des soins.

Notre expérience confirme la faisabilité et l'intérêt majeur d'implanter le SHD pangénomique en diagnostic de 1^{ère} intention et de poursuivre l'analyse des données en recherche translationnelle afin de lutter contre l'impasse diagnostique dans les MR.

CS71 : Identification et caractérisation de deux nouveaux sites d'expansions TTTTA/TTTCA responsables d'épilepsie myoclonique familiale.

Auteurs :

Christel Depienne (1), Rahel T. Florian (2), Florian Kraft (3), Elsa Leita (2), Sabine Kaya (2), Stephan Klebe (4), Eloi Magnin (5), Anne-Fleur van Rootselaar (6), Julien Buratti (7), Sebastian Giesselmann (3), Nikolai Tschernoster (8), Janine Altmueller (8), Anaide Lamiral (5), Lionel Thivard (9), Felix Rosenow (10), Karl Martin Klein (10), Mark Bennett (11), Eric LeGuern (7), Pierre Labauge (12), Melanie Bahlo (11), Tijssen Marina A.J. (13), van den Maagdenberg Arn M.J.M. (14), Mark Corbett (15), Jozef Gecz (15), consortium FAME (16)

1. Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen, Essen, Allemagne
2. Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, Essen, Allemagne
3. Institut für Humangenetik, Medical Faculty, RWTH Aachen University, Aachen, Allemagne
4. Department of Neurology, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, Essen, Allemagne
5. Département de neurologie, CHU Jean Minjoz, Besançon, France
6. the Departments of Neurology and Clinical Neurophysiology, Academic Medical Centre, Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
7. Département de génétique, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Cologne Center for Genomics, Center for Molecular Medicine Cologne (CMMC), University of Cologne, Cologne, Allemagne
9. Département de neurologie, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
10. Department of Neurology, Epilepsy Center Frankfurt Rhine-Main, Goethe University, Frankfurt, Allemagne
11. Population Health and Immunity Division, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne, Australie
12. Department of Neurology, Gui de Chauliac University Hospital, Montpellier, France
13. University Medical Centre Groningen, University of Groningen, Groningen, Pays-Bas
14. Department of Neurology and Department of Human Genetics, Leiden University Medical Centre, Leiden, Pays-Bas
15. School of Biological Sciences, School of Medicine, Robinson Research Institute, and South Australian Health and Medical Research Institute, The University of Adelaide, Adelaide, Australie
16. , The University of Adelaide, Adelaide, Australie

Mots clefs : expansion, répétition, microsatellite, pentamères, réarrangement génomiques, séquençage de génome, séquençage nanopore, peignage moléculaire, épilepsie, tremblement cortical, myoclonus

Résumé :

L'épilepsie myoclonique adulte familiale (Familial Adult Myoclonic Epilepsy ou FAME) est une maladie autosomique dominante caractérisée par un tremblement cortical ou myoclonique, fréquemment associé à des crises d'épilepsie. Plusieurs loci sur les chromosomes 8, 2 et 5 avaient été identifiés dans les années 1999-2009 mais la cause de la maladie est restée inconnue pendant près de 20 ans. En 2018, des expansions de pentamères TTTTA/TTTCA ont été identifiées dans un intron du gène *SAMD12* sur le chromosome 8 dans des familles d'origine japonaise. En 2017, nous avons séquençé le génome et le transcriptome de 6 membres atteints et deux membres non atteints de deux grandes familles liées respectivement aux chromosomes 2 et 5 sans trouver de variants ponctuels ou variants de structure altérant des régions codantes. La recherche d'expansion dans ces familles a permis d'identifier deux nouveaux sites de l'expansion de TTTTA/TTTCA dans les gènes *STARD7* et *MARCH6* qui ont été confirmés par RP-PCR (repeat-primed PCR). Nous avons utilisé le séquençage par nanopores et la technique de peignage moléculaire pour caractériser la longueur et la structure des expansions chez plusieurs membres atteints de deux familles françaises avec expansions dans le gène *MARCH6*. Ces analyses ont montré que les expansions ont une taille moyenne comprise entre 4 et 13 kb, avec un nombre de répétitions total supérieur à 800. Nous avons également observé une variabilité très importante de la taille et de la structure des expansions dans les cellules du sang périphérique. Chez les individus porteurs d'une très grande expansion (> 10 kb), des microréarrangements complexes au site de l'expansion représentant jusqu'à 20% des allèles pathogènes ont été détectés, suggérant que ces expansions riches en AT sont très instables et que cette instabilité peut s'accompagner de réarrangements génomiques. L'étude de l'expression de *MARCH6* et *STARD7* dans le sang et les fibroblastes n'a pas permis de montrer d'impact de la présence des expansions sur l'expression des gènes dans lesquelles elles se situent. Ces résultats confirment que l'épilepsie de type FAME est liée à des expansions pentamériques introniques identiques dans gènes distincts localisés sur différents chromosomes. Mis à part leur expression cérébrale, ces gènes ne semblent pas avoir de lien fonctionnel entre eux, suggérant que l'expansion est pathogène indépendamment du gène récipient. Nous apportons pour la première fois la preuve de la grande instabilité de ces expansions et de l'existence de microréarrangements au site de l'expansion.

CS72 : La dérégulation de FOXP1 peut en partie expliquer les caractéristiques cliniques observées chez les patients ARX

Auteurs :

Gaëlle Friocourt (1), Marc Kéruzoré (2), Delphine Héron (3), Sophie Bertrand (4), Fanny Rochefort (4), Anne Reboul (5), Tatjana Nazir (5), Amandine Brun (5), Anne Cheylus (5), Cyril Mignot (3), Boris Keren (3), Bénédicte Gérard (6), Gérald Bussy (5), Yves Paulignan (5), Annick Toutain (7), Isabelle Mortemousque (7), Brigitte Gilbert-Dussardier (8), Fabienne Prieur (9), Renaud Touraine (9), Nouchine Hadjikhani (10), Randy Gollub (10), Isabelle Bobillier-Chaumont (4), Vincent des Portes (11), Aurore Curie (11)

1. UMR1078, Inserm, Brest, France
2. INSERM UMR1078, Brest University, Brest, France
3. génétique médicale, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Institut des Sciences Cognitives, UMR 5304, CNRS, Lyon, France
5. L2C2, ISC, CNRS UMR5304, CNRS, Lyon, France
6. laboratoire de diagnostic génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
7. service de génétique, CHU Tours, Tours, France
8. service de génétique, CHU Poitiers, Poitiers, France
9. service de génétique, CHU Saint Etienne, Saint Etienne, France
10. Martinos Center for Biomedical Imaging, , MGH/Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
11. neuropédiatrie, HFME, HCL, Lyon, France

Mots clefs : ARX, FOXP1, striatum, modèle souris, medium spiny neurons

Résumé :

ARX code pour un facteur de transcription, dont les mutations ont été associées à différents syndromes allant de défauts de migration neuronale sévères (lissencéphalie), à des formes plus modérées de déficience intellectuelle (DI) liée à l'X, apparemment sans anomalie cérébrale associée. La mutation d'ARX la plus fréquente (c.429_452dup24) constitue un syndrome clinique reconnaissable, que nous avons décrit en détail il y a quelques années. Les patients ARX présentent une DI associée à une apraxie cinétique des membres supérieurs, et à une préhension tout à fait caractéristique. Par ailleurs, on observe également une atteinte du langage, ainsi qu'une diminution significative du volume de plusieurs structures cérébrales incluant notamment le striatum (et plus particulièrement le noyau caudé), l'hippocampe, le thalamus, ainsi que l'épaisseur corticale du gyrus précentral. De façon tout à fait intéressante, une corrélation significative a été mise en évidence entre la diminution de volume du noyau caudé et la sévérité de la gêne motrice, quantifiée par l'étude cinématique d'un mouvement de préhension.

Nous avons récemment développé un modèle souris pour la mutation dup24 du gène ARX et avons pu démontrer que les souris avaient un phénotype qui était très similaire aux caractéristiques cliniques des patients présentant la même mutation, incluant des difficultés dans la motricité fine avec altération de la préhension. Nous démontrons ici qu'ARX régule l'expression du gène FOXP1 et que l'expression de foxp1 est diminuée dans le modèle souris de mutation dup24 du gène arx, altérant le développement de certaines sous-populations de neurones striataux.

Le but de notre étude est de comparer les caractéristiques cliniques des patients présentant une mutation dup24 du gène ARX avec celles des patients présentant une mutation du gène FOXP1, incluant profil neuropsychologique, atteinte motrice et langagière, afin de définir combien les caractéristiques cliniques présentées par les patients ARX dup 24 trouvent leur origine dans la dérégulation de FOXP1. De plus, nous avons mis en évidence le fait qu'ARX active au cours du développement l'expression de FOXP1, régulant ainsi la différenciation des neurones GABA du striatum et que la duplication de 24 paires de bases d'ARX diminue l'activation de FOXP1, altérant le développement des neurones Drd1+ et le fonctionnement de la voie dite *directe* ou striatonigrale du striatum. Ces résultats mettent donc en évidence une voie commune entre les gènes ARX et FOXP1, qui permettrait de mieux comprendre l'origine des défauts de motricité fine et de langage observés chez les patients ARX dup24.

CS73 : Les mutations du gène SMARCA2 sont responsables d'un nouveau syndrome reconnaissable distinct du syndrome de Nicolaïdes-Baraitser.

Auteurs :

Pauline Le Tanno (1), Gerarda Cappuccio (2, 3), Camille Sayou (4), Emilie Tisserant (5), Sergio Sousa (6), Marketa Havlovicova (7), Evan E Eichler (8), Françoise Devillard (9), Sebastien Moutton (10, 11), Julien Van-Gils (10), Christele Dubourg (12), Sylvie Odent (13), Amélie Piton (14), Yamamoto Toshiyuki (15, 16), Nobuhiko Okamoto (17), Helen Firth (18), Kay Metcalfe (19), Anna Moh (20), Kimberly Chapman (20), Annalaura Torella (3, 21), Vincenzo Nigro (3, 22), Laurence Perrin (23), Juliette Piard (24), Gwenaél Le Guyader (25), Thibaud Jouan (5), Christel Thauvin-Robinet (26, 27), Jérôme Govin (28), Yannis Duffourd (5), Raoul CM Hennekam (29), Antonio Vitobello (5), Julien Thevenon (9), Nicola Brunetti Pierri (2, 3)

1. Département de Génétique, Génomique et Procréation, CHU Grenoble-Alpes, GRENOBLE, France
2. Department of Translational Medicine, Federico II University, Naples, Italie
3. Telethon Institute of Genetics and Medicine, Pozzuoli, Naples, Italie
4. CEA, INSERM, BIG-BGE, Université Grenoble-Alpes, GRENOBLE, France
5. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental Disorders, Université de Bourgogne-Franche Comté, FHU TRANSLAD, Dijon, France
6. Serviço de Genética Médica, Hospital pediátrico de Coimbra, Coimbra, Portugal
7. Department of Biology and Medical Genetics, Charles University Prague-2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, République tchèque
8. Department of Genome Sciences, University of Washington School of Medicine, Seattle, Etats-Unis
9. Département de Génétique, Génomique et Procréation, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France
10. Reference Center for Developmental Anomalies, Department of Medical Genetics, Bordeaux University Hospital, Bordeaux, France
11. INSERM, Burgundy University, Dijon, France
12. Service de Génétique moléculaire et Génomique, BMT-HC "Jean Dausset", Rennes, France
13. Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR), Univ Rennes, Rennes, France
14. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Illkirch, France
15. Institute of Medical Genetics, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japon
16. Institute of Integrated Medical Sciences, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japon
17. Department of Medical Genetics, Osaka Women's and Children's Hospital, Izumi, Japon
18. Cambridge Biomedical Campus, Cambridge University Hospitals NHS Foundation Trust, Cambridge, Royaume Uni
19. Manchester Center for Genomic Medicine, St Mary's Hospital, Manchester, Royaume Uni
20. Department of Genetics and Metabolism, Children's National Medical Center, Washington, Etats-Unis
21. Department of Precision Medicine, University of Campania "Luigi Vanvitelli", Naples, Italie
22. Department of Precision Medicine, University of Campania, Naples, Italie
23. Department of Genetics, Robert Debré Hospital, AP-HP, Paris, France
24. Centre de Génétique humaine, Université de Franche-Comté, Besançon, France
25. Department of Medical Genetics, Poitiers University Hospital, Poitiers, France
26. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
27. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement de l'Inter Région Est", Hôpital D'enfants, CHU Dijon-Bourgogne, Dijon, France
28. CEA, INSERM, BIG-BGE, Université Grenoble-Alpes, Grenoble, France
29. Department of Pediatrics and Translational Genetics, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas

Mots clefs : SMARCA2, syndrome de Nicolaïdes-Baraitser syndrome, BISS, Reverse Phenotyping, Déficience intellectuelle

Résumé :

Le gène *SMARCA2* (MIM#600014) code pour l'une des sous-unités catalytiques du complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF. Les variants hétérozygotes non tronquants survenant dans les domaines hélicase de la région ATPase de ce gène sont responsables du syndrome de Nicolaïdes Baraitser (NCBRS) (MIM#601358), un syndrome reconnaissable se caractérisant par une déficience intellectuelle sévère et des malformations congénitales multiples. Dans cette étude nous décrivons un nouveau phénotype reconnaissable en lien avec des mutations *de novo* de *SMARCA2*.

Grâce à une collaboration multicentrique internationale, nous avons identifié 17 individus appartenant à 14 familles présentant un trouble du neurodéveloppement syndromique distinct du NCBRS et pour lesquels les études génétiques de séquençage nouvelle génération retrouvaient un variant *SMARCA2* comme seul candidat. Afin de progresser dans l'interprétation de ces variants, nous avons répertorié les données cliniques détaillées des patients, collecté leurs échantillons sanguins pour effectuer du RNA-seq et introduit leurs variants dans un modèle levure.

Parmi les 17 individus, dix présentaient un phénotype reconnaissable distinct du NCBRS. Les signes récurrents chez ces patients incluaient un blepharophimosis et un épicanthus, associés à une déficience intellectuelle de degré variable et à des troubles gastro-intestinaux. Les variations étaient toutes situées en dehors des domaines hélicases classiquement impliqués dans le NCBRS. Les sept autres individus présentaient des symptômes variables qui ne pouvaient être rapprochés ni du NCBRS ni de ce nouveau phénotype. Nos résultats de RNA-seq ont mis en évidence des signatures transcriptomiques distinctes entre les patients NCBRS, ceux présentant un phénotype commun reconnaissable et les patients aspécifiques. Le profil de croissance des levures était différent entre les souches mutantes NCBRS et les autres souches portant des variants non NCBRS, faisant évoquer l'hypothèse de mécanismes moléculaires distincts.

En conclusion nous avons montré qu'en plus du NCBRS, les variants hétérozygotes *de novo* non tronquants de *SMARCA2* sont associés à un nouveau syndrome reconnaissable que nous avons appelé BISS, pour Blepharophimosis Intellectual disability *SMARCA2* Syndrome.

CS74 : Des variants frameshifts dans le gène codant le facteur d'épissage neuronal NOVA2 conduisent à l'apparition d'une partie C-terminale anormale et provoquent une forme sévère de déficience intellectuelle avec traits autistiques.

Auteurs :

Francesca Mattioli (1), gaelle Hayot (2), Bertrand Isidor (3), Frederic Tran Mau Them (4), Nathalie Drouot (2), jérémy courraud (5), Chantal Sellier (2), Nolwenn Jean (6), Sophie Nambot (7), Sebastien Moutton (6), Jamel Chelly (8), Aida Telegrafi (9), christelle golzio (2), Nicolas Charlet-Berguerand (2), Jean-Louis Mandel (8), Amélie Piton (8)

1. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Strasbourg, France
2. Département de neurogénétique, IGBMC, Illkirch, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France, , Nantes, France
4. laboratoire de génétique moléculaire, hopitaux universitaires de strasbourg, strasbourg, France
5. , IGBMC, Illkirch, 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. Centre de Génétique et Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, illkirch, France
8. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Illkirch, France
9. genedx, genedx, Gaithersburg,, Etats-Unis

Mots clefs : NOVA2, épissage, déficience intellectuelle, RNA-Seq, croissance axonale, frameshift

Résumé :

Les formes monogéniques de déficience intellectuelle (DI) sont caractérisées par une extrême hétérogénéité, impliquant plus de 1 000 gènes. Environ un quart de ces gènes codent pour des protéines jouant un rôle dans la maturation et la régulation des ARN messagers, épissage, exportation, dégradation, régulation de la traduction, etc. Nous rapportons l'identification de six individus avec insertions/deletions de novo dans le gène NOVA2, précédemment associé à une autre affection neurologique, l'ataxie paraneoplasique opsoclonus-myoclonus (POMA). Les six variants sont survenus dans une région riche en GC de l'exon 4 du gène, pauvrement couverte par les analyses d'exome. Ils conduisent tous à un même décalage du cadre de lecture, à partir des acides aminés 237 à 261, entraînant l'apparition d'une partie C-terminale commune de 133 acides aminés. Les tests de surexpression dans les cellules HeLa ont montré que la protéine mutante Val261Glyfs* (Mut1), identifiée chez le premier patient de la cohorte, est exprimée de manière stable et ne présente pas d'anomalie de localisation cellulaire. NOVA2 code pour une protéine de liaison à l'ARN qui régule les événements d'épissage alternatif au cours du développement du cerveau. Des études antérieures ayant inactivé ce gène chez la souris ont révélé que NOVA2 contrôlait spécifiquement, entre autres, l'expression de transcrits alternatifs dans des gènes impliqués dans la guidance axonale (Saito et al. 2016) et dans la formation des synapses (Saito et al., 2019). Pour identifier les cibles de NOVA2 chez l'homme, nous avons effectué des études transcriptomiques sur les cellules souches neurales humaines (hNSC) où NOVA2 a été inactivé par siRNA. Nous avons identifié quarante gènes dont l'épissage alternatif était altéré après inactivation de NOVA2, codant pour des protéines impliquées dans la transduction du signal, le remodelage du cytosquelette et la projection de neurones / la formation de dendrite. En utilisant des tests de surexpression dans des cellules HeLa, nous avons pu confirmer l'implication de NOVA2 dans la régulation de l'épissage alternative de certains de ces gènes (SGCE, SORBS1, NEO1, etc). La variation Mut1 altère cette fonction de régulation de l'épissage, ainsi que la capacité de NOVA2 à lier l'ARNm. Enfin, en utilisant un modèle de poisson-zèbre, nous avons montré que l'inactivation de l'orthologue de NOVA2 chez le poisson entraînait une diminution du nombre d'axones reliant les tectas optiques du poisson et que ce phénotype était sauvé par l'expression de l'ARNm humain NOVA2 sauvage mais pas de l'ARNm muté Mut1. Globalement, notre étude montre que des variations frameshift de novo localisées dans l'exon 4 de NOVA2 conduisent à un trouble du neurodéveloppement avec DI sévère, des traits autistiques et autres manifestations cliniques ressemblant au syndrome d'Angelman. Ces résultats soulignent l'importance de la régulation de l'épissage alternatif lors du développement du cerveau.

CS75 : Variants synonymes et le biais d'usage de codons : impact sur Sonic Hedgehog dans l'holoprosencéphalie

Auteurs :

Artem Kim (1), Jerome Le Douce (2), Farah Diab (2), Christèle Dubourg (3), Sylvie Odent (4, 5), Valérie Dupé (1), Véronique David (1), Luis Diambra (6), Erwan Watrin (2), Marie de Tayrac (1)

1. Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR), Université Rennes 1, Rennes, France
2. IGDR UMR6290 CNRS, Université Rennes 1, Rennes, France
3. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
5. Centre de référence "Maladies Rares" CLAD-Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
6. CREG, CONICET, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentine

Mots clefs : codon, variant synonyme, traduction, Sonic Hedgehog

Résumé :

Des variations synonymes du génome sont aujourd'hui connues pour leurs implications dans certaines maladies génétiques du fait de leur impact possible sur l'épissage ou le repliement de l'ARNm, mais également sur la régulation de l'expression des gènes par les micro-ARN. La connaissance de leurs effets sur l'usage des codons synonymes et sur la traduction dans un contexte clinique reste cependant parcellaire.

Dans cette étude, nous explorons l'impact fonctionnel de variants synonymes dans le gène Sonic Hedgehog (*SHH*), identifiés chez des patients atteints d'holoprosencéphalie, - une anomalie cérébrale congénitale résultant d'un clivage incomplet du cerveau antérieur.

L'analyse rétrospective de données de séquençage de 931 patients atteints d'holoprosencéphalie a permis d'identifier huit variants synonymes dans le gène *SHH* chez 21 de ces patients. L'analyse de populations contrôles (gnomAD, FReX, GoNL) a mis en évidence l'existence d'un enrichissement significatif de variants synonymes dans le gène *SHH* dans notre cohorte de patients atteints d'holoprosencéphalie, suggérant un rôle dans l'étiologie de cette maladie.

Nous avons évalué de façon systématique l'impact de ces variants sur la transcription et la traduction du gène *SHH* par des approches computationnelles et par des validations *in vitro*. Ces analyses ont démontré que les variants synonymes identifiés n'entraînaient pas de défaut d'épissage de l'ARNm ou de fixation de micro-ARN, ni même de modification de la structure prédite de l'ARNm. Elles ont cependant indiqué un effet hautement probable de cinq de ces variants sur la dynamique de la traduction du gène *SHH*. Introduisant des codons synonymes possédant les propriétés biochimiques différentes, ces variants synonymes modifieraient la vitesse de la traduction et la capacité de la protéine à se replier correctement. Les expériences réalisées *in vitro* ont démontré que ces cinq variants synonymes sont en effet associés à une réduction significative de la quantité de la protéine produite, réduction allant de 5 % à 23 %. En inhibant le protéasome, nous avons pu restaurer les quantités protéiques pour quatre de ces cinq variants synonymes, confirmant ainsi leur impact sur la stabilité et le repliement de la protéine SHH. De plus, nous avons pu montrer une corrélation significative entre les valeurs de réduction protéique évaluées expérimentalement et les mesures computationnelles d'usage de codons ($R^2=0.83$; $P=0.0016$), soulignant ainsi la pertinence de certains modèles permettant de prédire l'impact des variants synonymes sur la traduction.

Considérant le rôle critique de SHH dans le développement cérébral, nos résultats indiquent l'importance des variants synonymes dans l'holoprosencéphalie et soulignent que les variants synonymes peuvent avoir un rôle majeur dans les pathologies génétiques, indépendamment d'une possible altération de l'épissage des ARNm.

CS76 : Differences in the genetic background contribute to risk and resilience to autism

Auteurs :

Thomas Rolland (1), Freddy Cliquet (1), Alexandre Mathieu (1), Amaury Vaysse (1), Claire Leblond (1), Frederique Amsellem (2), Anna Maruani (2), Richard Delorme (2), Thomas Bourgeron (1)

1. Neuroscience, Institut Pasteur, PARIS, France
2. , Hopital Robert Debré APHP, PARIS, France

Mots clefs : autism, resilience, penetrance

Résumé :

Background: In the last 20 years, there was a tremendous progress in identifying genes associated to autism spectrum disorders (ASD). The genetic architecture of ASD is complex, ranging from apparently monogenic forms of the disorder to highly polygenic forms. However, if rare deleterious mutations affecting approximately 100 genes are now well accepted as risk factors for ASD, the role of the genetic background on their variable penetrance remains poorly understood.

Objectives: To identify resilient individuals, carrying rare deleterious mutations in ASD susceptibility genes without being diagnosed with the condition, and study the genetic factors influencing their clinical trajectories.

Methods: We designed a framework to assess the risk associated to > 11,000 rare deleterious mutations in parents and children of 1,786 quadruplet families with one affected and one unaffected child of the Simons Simplex Collection. We investigated hallmarks of mutation intolerance (haploinsufficiency, probability of loss-of-function mutation intolerance, z-score for missense mutation or deletion intolerance) to discriminate mutations likely to affect gene function. We also used clinical records available for each family to focus on mutations identified in children displaying a clear discordance in ASD phenotype (SRS and VABS-II scores).

Results: The fraction of resilient individuals among siblings and parents was surprisingly high, with approximately 7% of individuals carrying rare deleterious mutations in ASD-associated genes without displaying ASD symptoms. By stratifying resilient children from other unaffected children, we confirm a significant role of polygenic risk in ASD etiology. In addition, we observe significant differences in polygenic risk between affected and unaffected children who inherited the same rare deleterious mutations and between affected children with rare inherited deleterious mutations and affected children without.

Conclusion: The genetic background significantly influences the clinical trajectory of siblings carrying similar deleterious mutations in ASD-associated genes. Our results highlight the importance of investigating rare deleterious mutations in ASD susceptibility genes in the context of the genetic background, as well as the clinical heterogeneity of both diagnosed and undiagnosed individuals. Understanding the genetic factors contributing to resilience for ASD provides new insights into the molecular mechanisms of ASD, ultimately allowing the development of novel therapeutic strategies.

CS77 : Outils d'aide à l'interprétation de données issues du séquençage haut débit pangénomique : révolution ou déception ?

Auteurs :

Yannis Duffourd (1, 2), Aurore Garde (1, 3), Caroline Racine (1, 3), Frédéric Tran Mau-Them (1, 2), Ange-Line Bruel (1, 2), Garret Philippine (1, 4), Arthur Sorlin (1, 2), Virginie Quéré-Carmignac (1, 2), Anne-Laure Mosca-Boidron (1, 2), Patrick Callier (1, 2), Anne-Sophie Denommé-Pichon (1, 2), Laurence Faivre (1, 3), Antonio Vitobello (1, 3), Christophe Philippe (1, 2), Christel Thauvin-Robinet (1, 5)

1. , U1231 GAD, Inserm – University of Burgundy-Franche Comté, DIJON, France
2. , Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France
3. , Centre de Référence maladies rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France
4. , Laboratoire Cerba, St Ouen L'aumône, France
5. , Centre de Référence maladies rares « Déficience Intellectuelle de causes rares », FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France

Mots clefs : séquençage haut -débit , interprétation, bioinformatique

Résumé :

La démocratisation du séquençage haut débit (SHD) pangénomique met en évidence des besoins importants en terme d'experts biologistes pour interpréter la quantité importante de données génomiques générées par cette technologie. Il est en effet nécessaire d'acquérir une réelle expertise pour interpréter ces données et retenir les variations susceptibles d'expliquer le phénotype du patient qui a bénéficié de cet examen. De nombreuses solutions logicielles commencent ainsi à voir le jour, allant pour certaines jusqu'à affirmer qu'elles peuvent remplacer le biologiste, ou pour d'autres, plus humbles, déclarer être une simple aide à l'interprétation de ces données.

Nous proposons de faire un tour d'horizon non-exhaustif de ces solutions informatiques afin d'évaluer leur apport dans l'interprétation de données de SHD pangénomique. Différents logiciels sont testés, incluant des solutions académiques populaires ou industrielles telles que Exomiser, GADO, Mutation Distiller ou SeqOne. Bien que ces solutions informatiques soient toutes différentes dans leurs conceptions, il s'avère qu'elles nécessitent toutes la même base d'information : les traits phénotypiques du patient codés sous le format d'entrée de la base HPO, ainsi que le VCF résultant de l'analyse bioinformatique des données de l'examen. Les tests sont réalisés sur un nombre important d'individus: 350 patients ayant bénéficié d'un SHD d'exome, répartis en 3 groupes : 154 positifs (confirmés par séquençage Sanger), 100 candidats, 96 négatifs.

Les résultats préliminaires indiquent que ces solutions informatiques sont très loin d'être capables de remplacer des experts biologistes pour interpréter ce type de données. En effet, dans les cas les plus simples comme les positifs de notre cohorte, les logiciels trouvent la même réponse que le biologiste dans les 5 premiers résultats de son analyse dans 75% des cas. Lorsqu'un cas est plus complexe (hétérozygotes composites, présence de CNVs, ségrégation familiale complexe, candidats), les logiciels ne sont pas capables de rapporter prioritairement les variations rapportées par les biologistes. Il faut noter cependant que certains cas négatifs ont été résolus grâce à cette approche (5%). Cela s'explique par l'ancienneté de l'examen réalisé et par l'évolution des connaissances scientifiques, qui à l'époque de l'examen ne permettait pas de mettre en évidence la pathogénicité de variations qui aujourd'hui sont connues comme pathogènes.

Ainsi, la révolution annoncée de ces solutions logicielles n'est pas encore réelle. Cependant, ces approches apparaissent intéressantes pour gagner un temps non négligeable dans l'interprétation de données de SHD. Leur vérification par un expert biologiste semble évidemment encore nécessaire et inconditionnelle. L'évolution des technologies et des algorithmes, notamment dans le domaine de l'intelligence artificielle, permettra probablement d'améliorer ces méthodes et de les rendre de plus en plus pertinentes et performantes.

Pièce jointe : outils_de_predictions_resultats_wes_YD.v2.doc

CS78 : Estimation des performances diagnostiques d'un workflow d'analyse pour la détection des variations du nombre de copie issues de données de panels NGS et d'exomes

Auteurs :

Olivier Quenez (1), Kevin Cassinari (1), Sophie Coutant (2), François Lecoquierre (3), Kilan Le Guennec (1), Stéphane Rousseau (1), Anne-Claire Richard (1), Stéphanie Vasseur (2), Emilie Bouvignies (2), Jacqueline Bou (2), Gwendoline Lienard (2), Sandrine Manase (2), Steeve Fourneaux (2), Nathalie Drouot (2), Virginie Nguyen-viet (2), Myriam Vezain (2), Pascal Chambon (3), Géraldine Joly-Helas (3), Nathalie Le Meur (3), Mathieu Castelain (2), Anne Boland (4), Jean-François Deleuze (4), Isabelle Tournier (2), Françoise Charbonnier (2), Edwige Kasper (2), Thierry Frébourg (2), Pascale Saugier-Weber (3), Stéphanie Baert-Desurmont (2), Dominique Campion (1, 5), Anne Rovelet-Lecrux (1), Gaël Nicolas (1)

1. 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
2. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
3. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
4. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, Centre François Jacob, université Paris-Saclay, Evry, France
5. Département de Recherche, Centre Hospitalier du Rouvray, Sotteville-lès-Rouen, France

Mots clefs : CNV, exome, panel, diagnostic, performance

Résumé :

La détection de variations du nombre de copie (CNV) à partir de données de séquençage à haut débit est actuellement sous exploitée malgré la disponibilité de nombreux outils. Les études évaluant les performances de ces outils en conditions réelles sont rares.

Nous avons mis en place un workflow d'analyse basé sur CANOES, un outil bioinformatique exploitant la profondeur de lecture relative. Afin d'estimer les performances de ce workflow, nous l'avons appliqué à des données issues de séquençage de panels de gènes et d'exomes et réalisé des comparaisons en 2 étapes : (1) comparaison à une référence standard, (2) évaluation complémentaire de la valeur prédictive positive (VPP).

Concernant les données de séquençage de panels, nous avons d'abord comparé 465 échantillons avec à la fois des données d'un panel de 4 gènes (60 exons) et de QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent fragments) exhaustive (un amplicon par exon). Notre workflow a détecté l'ensemble des 14 CNVs identifiés en QMPSF sans faux positifs, obtenant ainsi une sensibilité et une spécificité de 100 %. Nous avons complété cette étude en appliquant notre workflow sur les données issues de 3311 patients supplémentaires (3 panels), puis validé les CNV candidats par QMPSF ou digital droplet PCR (ddPCR). Sur 101 CNV candidats, 87 ont été confirmés (86,13%). Les faux positifs étaient dans des régions de faible complexité ou correspondaient à des pseudogènes.

Concernant les exomes, nous avons analysé 137 individus pour lesquels nous avons des données de CGH array et d'exome. Après avoir limité notre analyse aux CNV potentiellement détectables pour l'une ou l'autre des techniques, nous avons obtenu une sensibilité de 87,25 % (89/102 CNVs) et une VPP de 85,2 % (190/223 CNVs). Nous avons ensuite appliqué notre workflow à 1056 exomes supplémentaires pour lesquels nous n'avions pas de données de CGH array associées. Après avoir sélectionné les événements affectant une liste de gènes d'intérêt, nous avons validé par QMPSF 108 des 122 CNV candidats détectés par notre workflow (VPP=88,52%). L'exome permettait de détecter des événements de toute taille, donc certains sont indétectable par CGH array.

En conclusion, le passage au criblage de CNVs par NGS seul est associé à : (1) une réduction importante des coûts, (2) un taux de faux positifs faible limitant le nombre de confirmations moléculaires par une technique indépendante, et (3) des rendements diagnostiques probablement stables en approche pangénomique, car les exomes permettent de détecter des événements non détectables en CGH array malgré une sensibilité non parfaite de l'exome, confirmant qu'il n'existe pas de réel gold standard, dans l'attente que les performances des outils de détection à partir de génomes entiers soient optimisées.

Pièce jointe : Abstract_assise_OQ.docx

CS79 : Caractérisation des remaniements chromosomiques équilibrés en WGS : comment gérer les échecs de la stratégie short-read ?

Auteurs :

Caroline Schluth-Bolard (1, 2), Marion Beaumont (1, 3), Laïla El-Khattabi (4, 5), Nicolas Reynaud (1, 6), Kevin Uguen (1, 7), Flavie Diguët (1), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (8), Alexandra Afenjar (9), Florence Amblard (10), Jeanne Amiel (11), Sophie Christin-Maitre (12), Françoise Devillard (10), Mélanie Fradin (13), Bertrand Isidor (14), Dominique Martin-Coignard (15), Robert Olaso (16), Massimiliano Rossi (1, 17), Jean-Pierre Siffroi (18), Damien Sanlaville (1, 2)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Equipe Métabolisme énergétique et développement neuronal, Institut NeuroMyoGène CNRS UMR 5310, INSERM U1217, Université Lyon 1, Lyon, France
3. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
4. Laboratoire de Cytogénétique, APHP Hôpital Cochin, Paris, France
5. Institut Cochin U1016, Université Paris Descartes, Paris, France
6. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
7. Service de Génétique Médicale, CHRU Brest, Brest, France
8. Cellule bio-informatique de la plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
9. Département de Génétique et Embryologie Médicale, APHP -Sorbonne Université - Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
10. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France
11. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
12. Service d'Endocrinologie, APHP Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
13. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
14. Service de génétique médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
15. Service de Génétique Médicale, CH Le Mans, Le Mans, France
16. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), CEA, Evry, France
17. GENDEV Team, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, CNRS UMR5292, UCBL1, Lyon, France
18. Service de Génétique et Embryologie Médicale, APHP -Sorbonne Université - Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Mots clefs : Remaniements chromosomiques, Whole genome sequencing, short-read, PacBio, Bionano, 10XGenomics, éléments répétés

Résumé :

Le séquençage génome entier (ou Whole Genome sequencing, WGS) en short-read a offert la possibilité de caractériser de façon rapide et précise les points de cassure des remaniements de structure chromosomique au niveau moléculaire. Cependant, dans 9 à 11% des cas, il ne permet pas d'identifier le remaniement.

Nous avons recueilli 10 cas non caractérisés après alignement en hg38 parmi 86 remaniements de structure chromosomique étudiés en WGS (11,6%) afin d'identifier les raisons de ces échecs. Parmi ces dix translocations réciproques, 8 impliquaient sur le caryotype des régions chromosomiques hautement répétées telles que l'hétérochromatine constitutive des chromosomes 1,9 ou 16 (5 cas), les bras courts d'acrocentriques (2 cas) ou les régions péricentromériques (1 cas). Neuf de ces cas ont pu bénéficier d'analyses complémentaires, soit de façon isolée, soit combinée, par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) (7 cas), séquençage linked-reads (10X Genomics) (1 cas), séquençage long-reads (PacBio) (2 cas) ou cartographie optique (Bionano) (5 cas). Les points de cassure ont été identifiés pour 8/9 cas, dont 5 confirmés par séquençage Sanger. Dans tous les cas, au moins un point de cassure impliquait un élément répété (LINE, alpha-satellites), une duplication segmentaire ou une région de séquençage difficile. Les données de WGS short-reads ont été ré-analysées secondairement de façon ciblée sur les points de cassure à l'aide du logiciel IGV. Pour 3/8 cas, les points de cassure n'étaient pas visibles à partir des données short-reads. Pour 5/8 cas, les points de cassure étaient visibles a posteriori, mais impliquaient des localisations chromosomiques multiples ou erronées pour un partenaire du remaniement. Enfin, cette étude a permis de poser un diagnostic pour 4/8 patients soit par interruption de gène (*NLGN4*, *DYRK1A*, *CLCN5*) ou par effet de position (*BMP2*).

En conclusion, les échecs de caractérisation par short-read sont liés à l'implication de régions génomiques hautement répétées, soit absentes du génome de référence, soit ne pouvant pas être attribuées à une position génomique unique lors de l'alignement. L'approche par FISH avec ré-analyse des données de WGS est efficace et facile à mettre en œuvre comparée aux nouvelles technologies de type long-reads, encore difficiles d'accès. La résolution de ces échecs est primordiale pour la prise en charge des patients puisqu'un remaniement pathogène a été identifié pour 40% des patients dans cette étude.

Pièce jointe : Abstract-echecs-vfinale.docx

CS80 : SPiP: a Splicing Prediction Pipeline addressing the diversity of splice alterations, validated on a curated diagnostic set of 2,784 exonic and intronic variants.

Auteurs :

Raphael LEMAN (1, 2), Béatrice PARFAIT (3), Dominique VIDAUD (3), Emmanuelle GIRODON (3), Laurence PACOT (3), Gérald LE GAC (4), Chandran KA (4), Claude FEREC (4), Yann FICHO (4), Céline QUESNELLE (1), Etienne MULLER (1), Dominique VAUR (5), Laurent CASTERA (1), Agathe RICO (1), Hélène TUBEUF (2), Omar SOUKARIEH (2), Pascaline GAILDRAT (2), Thierry FREBOURG (2), Florence RIA (6), Marine GUILLAUD BATAILLE (7), Sandrine CAPUTO (8), Virginie CAUX MONCOUTIER (8), Nadia BOUTRY-KRYZA (9), Françoise BONNET-DORION (10), Ines SCHULTZ (11), Maria ROSSING (12), Michael PARSONS (13), Amanda SPURDLE (13), Alexandra MARTINS (2), Claude HOUDAYER (2), Sophie KRIEGER (1, 14)

1. Laboratoire de biologie et génétique du cancer, Centre François Baclesse, Caen, France
2. Inserm U1245, Genomics and Personalized Medicine in Cancer and Neurological Disorders, Normandy University, Rouen, France
3. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, APHP, HUPC, Hôpital Cochin, Paris, France
4. Inserm UMR1078, Genetics, Functional Genomics and Biotechnology, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
5. Laboratoire de biologie et génétique du cancer, Centre François Baclesse, D.VAUR@baclesse.unicancer.fr, France
6. Laboratoire de Génétique, AP-HP, GH Saint-Louis-Lariboisière-Fernand Widal, Paris, France
7. Département de Biopathologie, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Villejuif, France
8. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
9. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
10. INSERM U1218 Département de Biopathologie Unité de Génétique Constitutionnelle, Institut Bergonie, Bordeaux, France
11. Laboratoire d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
12. Centre for Genomic Medicine, Rigshospitalet, University of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
13. Department of Genetics and Computational Biology, QIMR Berghofer Medical Research Institute, Herston, Australie
14. Inserm U1245, Genomics and Personalized Medicine in Cancer and Neurological Disorders, Normandy University, Caen, France

Mots clefs : RNA, variants, splicing predictions, SPiP.

Résumé :

Prédire avec un même outil l'effet sur l'épissage d'une variation nucléotidique quelle que soit sa position dans le génome est un véritable défi. En effet, chaque modification nucléotidique peut impacter l'épissage *via* la destruction/création des sites 5'/3' d'épissage (5'ss/3'ss), des points de branchement (BPs) ou des ESRs (*exonic splicing regulators*). Ainsi, nous avons développé l'outil SPiP (*Splicing Prediction Pipeline*) qui permet la détection de variants splicéogéniques indépendamment de la position et du motif affecté. SPiP est un algorithme décisionnel intégrant des outils sélectionnés pour chaque motif d'épissage ainsi qu'un nouvel outil détectant soit un renforcement d'un site cryptique soit l'apparition d'un site d'épissage *de novo* AG/GT.

SPiP a été évalué sur 2 784 variants avec études ARN *in vitro*, obtenues grâce à un recueil de la littérature, au consortium ENIGMA, au réseau épissage du Groupe Génétique et Cancer et aux partenaires de l'ANPGM. Parmi ces variants, 47 % (1 294/2 784) impactent l'épissage. SPiP a atteint une exactitude de 80.76 %, une sensibilité de 90.96 % et une spécificité de 70.87 %. Comparativement, les outils récemment développés SPANR et SpliceAI (récemment publié par Illumina®) présentent, respectivement, une sensibilité de 78.37 % et 70.71 % et une spécificité de 72.37 % et 98.26 % sur le même jeu de données expérimentales.

Pour aider le biologiste à retenir ou non un variant pour étude ARN, SPiP fournit directement la probabilité d'altération de l'épissage pour le variant testé. Ainsi, si SPiP prédit une altération, alors ces probabilités correspondent aux valeurs prédictives positives (VPP) de l'outil. En absence d'altération prédite, une probabilité résiduelle d'altération est fournie par SPiP correspondant à 1-VPN (Valeur Prédictive Négative). Pour estimer ces VPP et VPN, deux étapes ont été nécessaires : (i) estimation de la proportion de variants splicéogéniques dans notre génome par approche bayésienne (2.69 %) ; (ii) création d'un jeu de variants en accord avec cette proportion (47 784 variants). SPiP présente des VPP optimales pour les sites d'épissage 5'et 3', les points de branchement et les éléments régulateurs, mais plus faible pour les sites *de novo* en raison du nombre conséquent de variants pouvant créer un nouveau site. Par ailleurs les VPN de SPiP sont toutes supérieures à 90 %.

Utilisable sous Windows (<https://sourceforge.net/projects/splicing-prediction-pipeline/>) mais également en haut débit sous Linux (<https://github.com/raphaelleman/SPiP>), SPiP est donc un outil de prédiction adapté à la médecine génomique.

Pièce jointe : abstractAssisesv2.docx

CS81 : Evaluation de la détection de variants structuraux par séquençage Nanopore dans un contexte de routine diagnostique

Auteurs :

Quentin Testard (1, 2), Luc Druart (3), Benoit Quilichini (4), Marie Naud (5), Marc Nouchy (3), Pascal Mouty (5), Laure Raymond (6), Francis Rousseau (7), Mohamed Taoudi (7), Sylvie Tapia (3), Julien Thévenon (2), Jean-François Taly (1)

1. Unité de Bioinformatique, Eurofins Biomnis, Lyon, France
2. Département de Génétique et Procréation, Hôpital Couple-Enfant, Université de Grenoble, CHU de Grenoble, Grenoble, France
3. Unité de Cytogénétique, Eurofins Biomnis, Paris, France
4. Unité d'Oncohématologie, Eurofins Biomnis, Lyon, France
5. Unité de Génétique, Eurofins Biomnis, Lyon, France
6. Unité de génétique, Eurofins-Biomnis, Lyon, France
7. Unité de Génétique, Eurofins-Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : bioinformatique, variants structuraux, long read, NGS, diagnostic

Résumé :

Le séquençage dit de seconde génération (NGS) est devenu une pratique courante dans les laboratoires de génétique car la qualité du séquençage permet de détecter avec précision un grand nombre de variations génomiques. Cependant, la petite taille (centaines de bases) des lectures générées par le NGS est un inconvénient lors de la recherche de variants structuraux ou d'expansions de triplets. Les réarrangements structuraux (ou SV pour structural variant), regroupent les anomalies chromosomiques telles que les variations de nombre de copie (ou CNV pour copy-number variants), les insertions, les inversions et les translocations équilibrées. Leur détection par le biais de séquençage reste moins démocratisée que celle des variations d'un seul nucléotide (ou SNV pour single nucleotide variant). L'avènement des technologies dites de troisième génération (TGS) promet à l'aide de ses lectures plus longues (N50 ~ 15-25kb) de détecter l'ensemble de ces anomalies en une seule technique.

Dans le cadre de cette étude, nous avons évalué la capacité du séquençage « long read » de la société Oxford Nanopore Technologies à détecter des SV et expansions de triplets issus de notre routine diagnostique. Nous avons donc sélectionné plusieurs échantillons présentant des anomalies, de taille et de complexité variables, détectées par le biais de techniques diverses (caryotype, ACPA, exome, FISH) et provenant de différentes matrices (Sang EDTA, culture de liquide amniotique, lymphocytes fixés). Pour respecter les contraintes d'une routine optimisée, nous avons réalisé des séquençages de génomes complets à faible profondeur.

Nos expériences ont montré que la préparation des librairies et le séquençage sur l'automate GridION sont relativement aisés. Il est par contre rapidement apparu important d'optimiser les protocoles d'extraction et de purification des ADNs afin d'obtenir un équilibre entre rendement et taille des lectures. Nous avons pu en effet observer que i) la sensibilité des pores aux contaminants chimiques rend certaines méthodes d'extraction incompatibles, ii) il est nécessaire de charger des librairies dont les fragments ont une taille homogène, iii) les long fragments peuvent bloquer les pores et donc réduire le rendement.

Le traitement bioinformatique des données est actuellement un challenge car nous n'avons pas le même recul que pour les technologies short-reads. De plus, beaucoup de connaissances, que ce soit les bases de données ou les génomes de référence, ont été construites sur la base des technologies short-reads et demeurent au mieux incomplètes. Dans cette première approche, nous nous sommes donc limités à déterminer bioinformatiquement les paramètres optimaux permettant de reproduire nos diagnostics. Nous présenterons également une analyse détaillée des limites de l'utilisation de cette technologie dans le contexte d'un laboratoire de routine (optimisation de la cible diagnostique, des délais et des coûts).

CS82 : Les variants du site 5' d'épissage GC>GT se comportent différemment des variants GT>GC en termes de leurs effets fonctionnels sur l'épissage

Auteurs :

Jin-Huan Lin (1, 2), Emmanuelle Masson (3, 4), Matthew Hayden (5), David Cooper (6), Zhuan Liao (2), Claude Férec (7), Jian-Min Chen (7)

1. EFS, Univ Brest, Inserm, UMR 1078, GGB, F-29200, Brest, France
2. Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, Shanghai, Chine
3. EFS, Univ Brest, Inserm, UMR 1078, GGB, F-29200, Brest, France
4. Service de Génétique, CHRU Brest, Brest, France
5. Institute of Medical Genetics, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, Royaume Uni
6. Institute of Medical Genetics, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, United Kingdom, , Cardiff, Royaume Uni
7. INSERM U1078; EFS - Bretagne; UBO, Brest, France, , Brest, France

Mots clefs : épissage, site d'épissage, variants d'épissage, analyse fonctionnelle

Résumé :

In the human genome, the vast majority (> 99%) of introns are of the U2 type. The vast majority (~99%) of these employ the canonical 5' splice site (5'SS) GT dinucleotide whilst a minority (~1%) use the non-canonical 5'SS GC. 5'SS GT > GC or +2T > C variants have been frequently described to cause human genetic disease and are routinely scored as splicing mutations. However, we have recently provided evidence that such variants in human disease genes may not invariably be pathogenic. Specifically, combining data derived from a meta-analysis of 45 human disease-causing GT > GC variants and a cell culture-based full-length gene splicing assay of 103 GT > GC substitutions, we estimated that ~15-18% of GT > GC variants generate between 1 and 84% normal transcripts. By contrast, we know very little about the functional effect and pathogenic relevance of 5' splice site GC > GT or +2C > T variants. Herein, we aimed at bridging this gap by performing a meta-analysis of clinically identified GC > GT variants and a functional analysis of engineered GC > GT substitutions. Our meta-analysis revealed that none of the clinically identified GC > GT variants could be confidently interpreted to be pathogenic. We then analyzed the functional effects of engineered GC > GT substitutions in the same manner as we have done for GT > GC substitutions. Thus, we firstly selected 42 genes whose genomic sizes did not exceed 8 kb (from the translation initiation codon to the translation termination codon) and which contained at least one 5'SS GC site, for the construction of full-length gene expression vectors; we then screened those genes, which had yielded the expected transcript size by means of RT-PCR analysis of transfected HEK293T cells, for subsequent mutagenesis of available 5'SS GCs to GTs in the construct. In the end, we succeeded in functionally analyzing 15 GC > GT substitutions from 15 different genes. In sharp contrast with 5'SS GT > GC variants, all the 15 5'SS GC > GT substitutions generated wild-type transcripts; and most of them generated an equal or even higher level of normal transcripts as compared to their corresponding GC wild-type alleles. These findings are largely consistent with the fact that GC > GT will render the 9-bp consensus sequence for the U2-type 5'SS more complementary to the 3'-GUCCAUUCA-5' sequence at the 5' end of U1 snRNA. Nonetheless, some 5'SS GC > GT substitutions generated a much lower level of normal transcripts as compared to the GC wild-type alleles, highlighting the involvement of sequence determinants for splicing beyond the short 9-bp consensus sequence motif. Our findings will not only have immediate implications for interpreting the clinical relevance of 5'SS GC > GT variants but should also help us to understand the switching between 5'SS GT and 5'SS GC sites in the human genome.

Pièce jointe : Chen_2019 French Genetics Meeting-new.docx

CS83 : Les gènes BMP10 et KDR : nouveaux venus dans l'architecture génétique de l'hypertension artérielle pulmonaire héréditaire.

Auteurs :

Mélanie EYRIES (1), David MONTANI (2), Barbara GIRERD (3), Sophie NADAUD (4), Marie-Christine WAILL (1), Florence COULET (1), Marc HUMBERT (2), Florent SOUBRIER (1)

1. Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Centre de référence de l'hypertension artérielle sévère, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. , Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
4. UMR-S1166, INSERM_Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

Mots clefs : HTAP, BMP10, KDR, NGS ciblé, BMPR2, TBX4, BMP9

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 l'architecture génétique de l'hypertension pulmonaire dans une cohorte de patients français grâce à une approche de NGS ciblé en utilisant un panel incluant les gènes validés pour le diagnostic moléculaire ainsi que des gènes de recherche.

Méthodes: Analyse prospective de 506 cas index atteints d'HTAP ou de MVO. Screening moléculaire par un panel de capture ciblé comprenant les gènes (*BMPR2*, *TBX4*, *EIF2AK4*, *CAV1*, *KCNK3*, *SMAD9*, *ACVRL1*, *ENG*, *BMP9*). Le gène *BMP10* un paralogue de *BMP9* et le gène KDR codant pour le récepteur de type 2 du VEGF sont également inclus dans le design comme gène de recherche. Parmi ces patients 243 ont été testés avec une évolution du panel incluant trois nouveaux gènes validés pour le diagnostic moléculaire (*SOX17*, *ATP13A3* et *AQP1*)

Résultats: Un variant pathogène a été identifié chez 91 des 506 patients analysés (18.3 % chez des HTAP sporadiques, 61.1 % chez des HTAP familiales et 13,1% chez des MVO. *BMPR2* reste le gène le plus fréquemment muté, suivi de *TBX4* et *BMP9* (respectivement 62,6%, 7,7% et 6,6% des mutations identifiées). Les mutations dans le gène *SOX17* ont été trouvées chez 3 patients parmi les 243 testés. Les mutations bi-allèles *EIF2AK4* signent la MVO parfois confondue cliniquement avec une HTAP. Une mutation tronquante et un variant très probablement pathogène ont été identifiés dans le gène *BMP10* chez deux patients atteints de formes sévères d'HTAP. Enfin deux mutations tronquantes ont été identifiées dans le gène KDR. L'une dans une forme familiale et l'autre dans une forme sporadique d'HTAP.

Conclusions : L'approche de NGS ciblé est un outil efficace pour améliorer la connaissance de l'architecture génétique de l'hypertension pulmonaire et confirmer la responsabilité de nouveaux gènes. Dans notre cohorte, le gène majeur reste *BMPR2*, mais d'autres gènes émergent tels que *BMP9* et *TBX4*. En particulier pour ce dernier des mutations sont identifiées dans les HTAP adultes, alors que ce gène a été initialement décrit comme un gène majeur dans les HTAP pédiatriques. Nos résultats révèlent également *BMP10* et *KDR* comme nouveaux gènes de l'HTAP.

**CS84 : Délétions intergéniques en 4q25 et perturbation de la structure de la chromatine à l'origine d'une forme familiale de
dysfonction sinusale**

Auteurs :

Jean-Jacques Schott (1), Julien Barc (1), Hiroshige Murata (1), Estelle Baron (1), Pierre Lindenbaum (1), Manon Baudic (1), Adrien Foucal (1), Karim Si-Tayeb (1), Le Marec Hervé (1), Vincent Probst (1), Jean-François Deleuze (2), Claude Vieyres (3), Richard Redon (1), Solena Le Scouarnec (1)

1. l'institut du thorax, Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291, Nantes, France

2. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Paris, France

3. , Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291, Angoulême, France

Mots clefs : Séquençage de génome, chromatine, maladie mendélienne, cardiologie

Résumé :

Sinus node dysfunction (SND) refers to several conditions causing physiologically inappropriate atrial rates. Genetics of human SND remains poorly understood with few genes identified (*HCN4*, *SCN5A*, *GJA5*, *KCNQ1*, *MYH6* and *ANK2*) and further genetic heterogeneity. Here we report two families with SND segregating with an intergenic deletion associated with long-range *cis*-regulatory elements (CREs) of *PITX2*. We first applied exome sequencing to a 4-generation family presenting 16 patients with SND, atrial fibrillation and/or repolarization abnormalities that did not allow to identify the disease-causing gene within a 16.5-cM linkage interval ($Z_{\max}=5.9$, $q=0$) on chr.4q25 although immunoblot of a muscle biopsy revealed a striking decrease in ANK-B expression. We then applied 30x whole genome sequencing (WGS) in 2 patients and identified 72 rare ($< 0.1\%$) SNVs and a 15-Kb deletion using LUMPY in the candidate interval. This intergenic deletion, which was located between *PITX2* and *ANK2* and contained a CTCF motif, was segregating in all patients and was not found in 855 French control genomes. We also applied WGS on a second family presenting 5 patients with SND and negative for all SND genes and identified a 91-Kb deletion overlapping the initial deletion. CTCF functions as a genome organizer mediating genomic interactions between genes and CREs. To clarify a possible regulatory function of the 1.5-Mb intergenic region containing the deletion, we interrogated 3 epigenetic databases. High-throughput chromosome conformation capture (Hi-C) data (1) revealed that this intergenic region was placed in a topologically associating domain (TAD) containing *PITX2*. Chromatin interaction analysis by paired-end tag (ChIA-PET) data of CTCF in MCF-7 (2) suggested several possible functional chromatin loops in the TAD. Of them, a CTCF-mediated chromatin loop corresponding to a 300-Kb genomic region was clarified as a possible CRE using histone modification data from Roadmap. The region ranging between the intra-deletion CTCF motif and another distal motif was repressed in H3K27me3 profiles of fetal heart and H1 ESC-derived mesenchymal stem cells, while the region was activated in H3K27ac profiles of H1 ESC-derived mesoderm cells. Thus, this CRE may regulate expression of *PITX2* and/or *ANK2* in pacemaker cell differentiation. Ongoing experiments on patient's iPSC-derived cardiomyocytes will further characterize the disease mechanism.

(1) Leung *et al.* Nature, 2015; (2) Li *et al.* Cell, 2011

Pièce jointe : Assise 2020 abstract_SCHOTT.docx

CS85 : The spectrum of Fetal Cardiomyopathies; pathological and genetic analysis allowed identifying the etiology and propose an accurate genetic counseling

Auteurs :

Eva KOHAUT (1), Flavie ADER (2), Caroline ROORYCK-THAMBO (3), Fanny PELLUARD (4), Maryse BONNIERE (5), Gwenaëlle ANDRE (4), Fanny SAUVESTRE (4), Lionel VAN MALDERGEM (6), Philippe ROTH (7), Diala KRHAICHE (8), Bettina BESSIERES (5), Tania ATTIE-BITACH (9), Pascale RICHARD (2)

1. Service de Génétique Clinique, , HU-Necker Enfants Malades, Paris, France
2. UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, (F-75013), France, Hôpitaux Universitaires de la Pitié- Salpêtrière- Charles Foix, , Paris, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
4. Service de Pathologie, Groupe Hospitalier Pellegrin, , Bordeaux, France
5. Service Histologie embryologie cytogénétique,, HU-Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Centre de Génétique Humaine , CHRU de Besançon - Hôpital Saint-Jacques, BESANCON, France
7. Service de Gynécologie Obstétrique, HU-Necker Enfants Malades, Paris, France
8. Service de cardiopédiatrie, Hôpital Universitaire Necker Enfants Malades, PARIS, France
9. Service de Génétique Clinique, , HU-Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : Cardiomyopathy, antenatal, genetics

Résumé :

Cardiomyopathies are diseases of the heart muscle with variable clinical appearance, onset of symptoms and severity. Most of forms are inherited as dominant trait and may stay asymptomatic and undiagnosed until adulthood. Severe forms of cardiomyopathies may be observed during the antenatal period with a pejorative issue leading to fetal death or therapeutic premature interruption of pregnancy. Variable phenotypes as well as genetic heterogeneity make etiologic identification difficult.

We report the histological and genetic analysis of 16 antenatal forms of cardiomyopathies from 11 families. 14 fetuses underwent an autopsy and 13 a genetic analysis. All of them showed a dilated or hypertrophic cardiomyopathy, complicated by hydrops fetalis in 6 of them. Six of the fetuses died *in utero*. In the 7 others, a termination of the pregnancy was performed on parental request, between 22 and 26 gestational weeks in 4, at 34 gw in two and 37.5 gw in one. Three children were born and died at first hour, 35 days and 16 months of life respectively.

Methods:

During autopsy, detailed morphological and histological examinations of hearts were implemented then DNAs were sequenced by a targeted NGS panel of 52 cardiomyopathy genes. This strategy allowed the identification of the genetic cause in 9/11 families.

Results:

In this study, despite a variability of histological and pathological findings, a common morphotype could emerged : There was a uni- or biventricular cardiac dilatation (n=12), a ventricular hypertrophy (n=2), three cases of left ventricle non-compaction, a sub-endocardial fibroelastosis (n=8). Other cardiac malformations (3 valves anomalies, 1 foramen ovale, 1 abnormal coronary implantation, 1 case of Ebstein's disease and a false tendon between the left ventricle and the septum) could also be observed. Complex forms of cardiomyopathy with coexistence of different major sub-forms were possible with a rapid evolution towards a dilated cardiomyopathy.

As well, a huge variability of genetic situations was observed with two fetuses carrying heterozygous compound mutations in dominant adulthood cardiomyopathy genes, unique *de novo* mutations in four, a germline mosaicism in one family and codominance/digenism in 2 families. The parents were subsequently genetically tested to diagnose mutation carriers and to drive them to cardiological surveillance and to propose a genetic counseling.

Conclusion:

This study highlights the great diagnostic value of the genetic testing of severe cardiomyopathies for accurate genetic counseling, and follow- up of family members carrying mutations. A molecular prenatal diagnosis can be offered in the recessive forms.

CS86 : Les variants du moteur kinésine-2 KIF3B sont responsables d' une ciliopathie autosomique dominante

Auteurs :

Benjamin Cogné (1), Xénia Latypova (2, 3), Lokuliyana Dona Samudita Senaratne (3), Ludovic Martin (4), Daniel C. Koboldt (5), Georgios Kellaris (6), Guylène Le Meur (7), Dominique Caldari (8), Dominique Debray (9), Mathilde Nizon (10), Eirik Frengen (11), Sara J. Bowne (12), 99 Lives Consortium (13), Elizabeth L. Cadena (14), Stephen P. Daiger (12, 15), Kinga Bujakowska (16), Eric Pierce (17), Michael Gorin (18), Nicholas Katsanis (3), Stéphane Bézieau (19), Simon M. Petersen-Jones (20), Laurence Occelli (20), Leslie Lyons (13), Laurence Legeai-Mallet (21), Lori S. Sullivan (12), Erica E. Davis (3), Bertrand Isidor (19, 22)

1. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
3. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
4. Inserm U1163, Institut Imagine,, Université de Paris, Paris, France
5. The Institute for Genomic Medicine , Nationwide Children's Hospital, Columbus, Etats-Unis
6. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, France
7. Service d'Ophtalmologie, CHU Nantes, Nantes, France
8. Service de Pédiatrie, CHU Nantes, Nantes, France
9. Unité d'Hépatologie pédiatrique, Centre de référence de l'atrésie des voies biliaires et des cholestases génétiques , Hôpital NECKER, Paris, France
10. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
11. Department of Medical Genetics, Oslo University Hospital and University of Oslo, Oslo, Norvège
12. Human Genetics Center, School of Public Health, Univ. of TX Health Science Center at Houston, Houston, France
13. Department of Veterinary Medicine and Surgery, College of Veterinary Medicine, University of Missouri, Columbia, Etats-Unis
14. Ruiz Dept. of Ophthalmology and Visual Science, Univ. of TX Health Science Center at Houston, Houston, Etats-Unis
15. Ruiz Dept. of Ophthalmology and Visual Science, Univ. of TX Health Science Center at Houston, Houston, France
16. Ocular Genomics Institute, Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, Etats-Unis
17. Ocular Genomics Institute, Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, France
18. Jules Stein Eye Institute and Dept. of Ophthalmology, Univ. of California Los Angeles, Los Angeles, Etats-Unis
19. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
20. Department of Small Animal Clinical Studies, College of Veterinary Medicine, Michigan State University, East Lansing, Etats-Unis
21. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital NECKER, Paris, France
22. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France

Mots clefs : KIF3B, cil primaire, retinopathie, fibrose hépatique, kinésine, séquençage d'exome, poisson zèbre, génétique du chat

Résumé :

La kinésine-2, moteur intraflagellaire antérograde, permet l'assemblage et le fonctionnement du cil primaire en transportant des cargos protéiques du corps basal au sommet du cil. L'activité de moteur moléculaire est assurée par un complexe hétérotrimérique composé de KIF3A, KIF3B ou KIF3C, ainsi que d'une sous-unité non motrice, KIFAP3. Suite au séquençage de l'exome nous avons identifié deux variants hétérozygotes de *KIF3B* dans deux familles non apparentées, ayant des phénotypes caractéristiques de ciliopathie. Dans la première famille, le cas index présentait une fibrose hépatique congénitale, une rétinite pigmentaire et une polydactylie postaxiale. Ce patient est porteur d'un variant 748G > C, p.Glu250Gln, affectant un acide aminé conservé dans le domaine moteur de la kinésine codé par *KIF3B*. La seconde famille est une large famille avec des sujets atteints de rétinite pigmentaire, une polydactylie postaxiale ainsi qu'une insuffisance rénale ségrégeant selon un mode de transmission autosomique dominant. Les individus atteints sont porteurs du variant c.1568T > C, p.Leu523Pro hétérozygote de *KIF3B*. Nous avons mis en évidence une augmentation significative de la longueur des cils primaires dans les fibroblastes primaires chez un patient atteint, suggérant une atteinte de l'activité motrice de la kinésine-2. Enfin, nous avons évalué les effets de la surexpression de l'ARNm variant *KIF3B* dans la rétine chez la larve de poisson zèbre. Pour les deux variants non synonymes, une séquestration de la rhodopsine possiblement en lien avec un transport défectueux à travers le cil connecteur a été mise en évidence. Indépendamment, lors de l'étude des bases moléculaires d'une dégénérescence rétinienne progressive autosomique récessive chez le chat Bengale, nous avons identifié un variant de *Kif3b* ségrégeant avec la pathologie, par étude d'association pangénomique et séquençage du génome entier. La localisation anormale de la rhodopsine a également été mise en évidence dans le contexte de cette rétinite. Au total, grâce à ces données génétiques ainsi qu'aux expériences de modélisation *in vivo* et *in vitro*, nous décrivons une nouvelle ciliopathie de transmission autosomique dominante en lien avec une altération du transport antérograde ciliaire médié par la kinésine.

CS87 : Les pathologies létales du développement pulmonaire impliquant la voie TBX-FGF: un modèle d'hérédité complexe.

Auteurs :

Marie Vincent (1, 2), Justyna Karolak (3), Gail Deutsch (4), Tomasz Gambin (5), Benjamin Cogné (1, 6), Olivier Pichon (1), Heather Mefford (7), Megan Dishop (8), Thomas Besnard (1, 6), Florence Petit (9), Marie Denis-Musquer (10), Madeleine Joubert (10), Jelena Martinovic (11), Claire Beneteau (1), Arnaud Molin (12), Dominique Carles (13), Gwenaelle André (13), Eric Bieth (14), Nicolas Chassaing (14), Louise Devisme (15), Lara Chalabreysse (16), Laurent Pasquier (17), Véronique Secq (18), Chantal Missirian (19), Jérémie Mortreux (19), Damien Sanlaville (20), Linda Pons (20), Sébastien Küry (1, 2), Stéphane Bézieau (1, 2), Jean-Michel Liet (21), Nicolas Joram (21), Tiphaine Bihouée (22), Edwina Popek (23), James Lupski (3), Przemyslaw Szafranski (3), Bertrand Isidor (1, 2), Cédric Le Caignec (1), Pawel Stankiewicz (3)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Inserm, CNRS, Univ Nantes, l'institut du thorax, Nantes, France
3. Department of Molecular & Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
4. Department of Pathology, Seattle Children's Hospital, Seattle, Etats-Unis
5. Department of Medical Genetics, Institute of Mother and Child, Warsaw, Pologne
6. Inserm, CNRS, Univ Nantes, l'institut du thorax, Nantes, France
7. Department of Pediatrics, Division of Genetic Medicine, University of Washington, Washington, Etats-Unis
8. Pathology and Laboratory Medicine, Phoenix Children's Hospital, Phoenix, Etats-Unis
9. Service de Génétique Clinique, CHRU Lille, Lille, France
10. Service d'anatomo-pathologie, CHU Nantes, Nantes, France
11. Unit of Fetal Pathology, AP-HP, Antoine Beclere Hospital, Paris, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU Caen, Caen, France
13. Service d'anatomo-pathologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
14. Service de Génétique Médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France
15. Institut d'anatomo-pathologie, CHU Lille, Lille, France
16. Service d'anatomo-pathologie, CHU Lyon, Lyon, France
17. Service de Génétique Médicale, CHU Rennes, Rennes, France
18. Service d'anatomo-pathologie, Aix Marseille Univ, APMH, Hôpital Nord, Marseille, France
19. Aix Marseille Univ, APMH, INSERM, MMG, Timone Hospital, Marseille, France
20. Service de Génétique Médicale, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
21. Service de réanimation pédiatrique, CHU Nantes, Nantes, France
22. Service de maladies chroniques de l'enfant, CHU Nantes, Nantes, France
23. Department of Pathology and Immunology, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis

Mots clefs : dysplasie acineuse, dysplasie alvéolo-capillaire, développement pulmonaire, TBX4, FGF10

Résumé :

Les pathologies du développement pulmonaire sont rares et conduisent à un décès précoce du nouveau-né dans les premières heures ou semaines de vie. Trois entités sont distinguées : la dysplasie alvéolo-capillaire avec défaut d'alignement des veines pulmonaires (ACDMPV, MIM# 265380), la dysplasie acineuse (AcDys) et la dysplasie alvéolaire congénitale (CAD). L'ACDMPV a été caractérisée sur le plan moléculaire avec l'implication du gène *FOXF1*, mais les causes génétiques de l'AcDys et de la CAD étaient jusqu'alors inconnues, bien qu'une transmission autosomique récessive ait été évoquée.

Grâce à un travail collaboratif international, nous avons rassemblé une cohorte unique de 26 patients atteints de pathologies létales pulmonaires. Cette étude a permis de les caractériser sur le plan clinique, histologique et moléculaire. Les patients nous ont été adressés suite au diagnostic initial d'AcDys. Après relecture par un anatomopathologiste référent, 14 individus ont été classés « AcDys », 2 « CAD » et 10 « hypoplasie pulmonaire létale aspécifique ».

Sur le plan moléculaire, nous avons utilisé les techniques d'analyse chromosomique par puces à ADN (SNP ou CGH array), de whole exome sequencing (WES) et de whole genome sequencing (WGS).

Sept patients sont porteurs d'une délétion récurrente d'environ 2Mb, responsable du syndrome de microdélétion 17q23.1q23.2 (MIM# 613355), emportant le gène *TBX4* ; deux ont des variants rares *de novo* dans le même codon de l'exon 2 de *TBX4* ; et au sein d'une fratrie, deux ont une délétion intragénique des exons 3 et 4 retrouvée par WGS. Par ailleurs, deux patients sont porteurs de délétions chevauchantes d'environ 2Mb en 5p12, emportant le gène *FGF10* et deux autres ont un variant rare dans *FGF10*. Certaines de ces variations rares sont héritées d'un parent sain, confortant l'hypothèse initiale d'une pathologie récessive. Néanmoins dans tous les cas, il n'a pas été retrouvé de mutations délétères sur le second allèle. Les analyses de WGS chez les individus porteurs d'un variant dans *TBX4* n'ont pas révélé d'haplotype commun au locus 17q23, mais ils étaient tous porteurs d'au moins un variant non codant, non retrouvé chez les individus contrôles, et localisé au niveau des régions activatrices du gène *TBX4*. Chez la majorité des individus atteints (mutés ou non), nous avons également observé un enrichissement en variants non codants dans ces mêmes régions.

Ce travail collaboratif a permis de confirmer l'implication de la voie de signalisation TBX4-FGF10 dans le développement pulmonaire humain et pour la première fois de mettre en évidence un déterminisme génétique complexe pour ces pathologies rares et létales du développement en lien avec la présence de variants codants et non codants dans les gènes *TBX4* et *FGF10*.

CS88 : Modélisation et caractérisation des mutations ABCA3

Auteurs :

Alix de Becdelievre (1, 2), Marion Onnée (2), Stéphanie Simon (2), Adeline Henry (3), Anne Hulin (4), Claire Szczepaniak (5), Xavier Decrouy (6), Ralph Epaud (7, 2), Isabelle Callebaut (8), Pascale Fanen (1, 9)

1. Département de Génétique, AP-HP, GH Mondor-A. Chenevier, Créteil, France
2. Equipe 05, IMRB, Inserm U955, Créteil, France
3. Plateforme de Cytométrie en flux, IMRB, Inserm U955, Créteil, France
4. Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie, APHP, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
5. Centre Imagerie Cellulaire Santé, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France
6. Plateforme d'imagerie, IMRB, Inserm U955, Créteil, France
7. Service de Pédiatrie, CHI de Créteil, Créteil, France
8. UMR7590, Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie, CNRS-SorbonneUniversité, Paris, France
9. Inserm, U955, Equipe 5, IMRB, Créteil, France

Mots clefs : surfactant, ABCA3, pneumologie, test fonctionnel

Résumé :

La protéine ABCA3 est un transporteur de phospholipides indispensable à la biosynthèse du surfactant dans les corps lamellaires des cellules alvéolaires de type 2. Les pathologies liées à ABCA3 sont de transmission récessive, et couvrent un large spectre phénotypique, de la détresse respiratoire néonatale à la pneumopathie interstitielle de l'adulte.

Ce large spectre clinique s'explique en partie par les types de mutations affectant ABCA3, grossièrement classées en mutations de maturation et mutations de fonction. Toutefois, afin de mieux comprendre/prédire le phénotype, une classification plus fine est nécessaire.

Forts de notre expérience dans le domaine d'un autre ABC transporteur, CFTR, nous avons développé différents outils pour évaluer la pathogénicité des variants ABCA3 *in vitro* par expression hétérologue dans des cellules A549 (pneumocyte de type II) et HEK. Nous étudions la maturation, la localisation subcellulaire, le transport intracellulaire de doxorubicine et l'ultrastructure des corps lamellaires en microscopie électronique. Nous participons également à la modélisation *in silico* très précise de la protéine ABCA3, par comparaison notamment avec ABCA1 dont la structure a été étudiée en cryo-microscopie électronique, afin de mieux prédire l'effet des variants. Cette stratégie nous permettra de repérer les mutations faux-sens qui pourrait générer une grande variabilité phénotypique par défaut partiel d'activité et les nouveaux-nés dont le pronostic sera plus favorable.

De plus, dans un contexte où des multitudes de données de génétiques sont générées grâce au NGS, il devient important de disposer de tests accessibles, tels que nous les proposons, afin d'étudier la pathogénicité des nouveaux variants. Comprendre le mécanisme pathogène des différentes mutations ABCA3 est également un enjeu, pour pouvoir proposer une thérapie ciblée en fonction de l'anomalie, comme cela est fait pour CFTR.

CS89 : Le phénotype squelettique de l'hypochondroplasie revisité avec le modèle murin

Auteurs :

Léa Loisy (1), Davide Komla Ebri (2), Nabil Kaci (1), Morad Bensidhoum (3), Graham R Williams (2), J.H. Duncan Bassett (2), Yann Heuzé (4), Laurence Legeai-Mallet (1)

1. U1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Molecular Endocrinology Laboratory, Department of Medicine, Imperial College London, London, Royaume Uni
3. Laboratoire de Bioingénierie et Biomécanique Ostéo-Articulaires (B2OA - UMR CNRS 7052), Université Paris Diderot, Paris, France
4. CNRS, Univ. Bordeaux, MCC, PACEA, UMR5199, Pessac, France

Mots clefs : génétique, FGFR3, os, cartilage

Résumé :

L'hypochondroplasie (HCH) est un nanisme rhizomélisque, des mutations localisées dans le gène *FGFR3* (fibroblast growth factor receptor 3) sont responsables de l'HCH. La mutation faux sens la plus fréquemment retrouvée (p.Asn540Lys) est localisée dans le domaine tyrosine kinase I. Pour mieux comprendre l'impact de la mutation *FGFR3*Asn540Lys sur le développement squelettique, nous avons établi le 1er modèle murin *Hch* (*Fgfr3*^{Asn534Lys/+}). Les souris *Hch* expriment de façon ubiquitaire à l'état hétérozygote la mutation *Asn534Lys*. L'étude du phénotype squelettique de ces souris a montré une inflexion de la courbe de croissance, visible comme chez l'homme après la naissance. La taille naso-anal est réduite à partir de 1 semaine (-2%) et s'accroît dans le temps atteignant -9% à 6 mois. L'inflexion de la courbe de croissance est corrélée avec la diminution de taille des os long (ulna-15%, humerus-15%, radius-15 %, fémur-21%, tibia-25% à 6 mois).

L'analyse du squelette appendiculaire par microtomographie à rayons X (μCT) des souris adultes *Hch* montre une diminution de la densité osseuse avec une réduction du nombre et de la taille des travées dans l'os trabéculaire des fémurs et tibias. De façon surprenante, la densité osseuse de l'os cortical est augmentée chez le fémur. L'étude de la plaque de croissance des fémurs montre que les chondrocytes sont légèrement désorganisés, la prolifération n'est pas perturbée (BRDU), en revanche, la différenciation (ColX) est altérée. Ce résultat inattendu montre que la mutation Asn540Lys perturbe principalement la différenciation cellulaire.

L'analyse du squelette axial par μCT chez des souris *Hch* adultes montre une diminution de la taille des travées de l'os trabéculaire et de la densité osseuse des vertèbres. Le disque intervertébral est lui aussi affecté par la mutation *Fgfr3*, la forme, la taille et la structure sont modifiées

Enfin, nous avons analysé le squelette craniofacial des souris *Hch*, la largeur du crâne est augmentée alors que de la longueur est diminuée en comparaison avec les contrôles. Nous avons également observé à la base du crâne, une fusion prématurée des synchondroses sphéno-occipitale et inter-sphénoïdienne chez les souris *Hch*. Ces résultats ont été confirmés en histologie et immunohistologie, nous avons pu noter une diminution significative de la taille des synchondroses et du nombre de chondrocytes hypertrophiques.

L'analyse de ce modèle murin d'hypochondroplasie a permis de révéler certains aspects phénotypiques de la maladie peu ou pas étudiés. La mutation *Fgfr3* perturbe la croissance osseuse et la densité osseuse des os longs mais également les synchondroses de la base du crâne. Chez les animaux *Hch* adultes, la densité osseuse des vertèbres est diminuée et la structure du disque intervertébral est très modifiée. Cette étude montre que l'impact de la mutation gain de fonction *fgfr3* ne limitent pas qu'au cartilage de croissance.

Pièce jointe : assises2020 LeaLoisy.docx

CS90 : Syndrome TAR : caractérisation clinique et moléculaire d'une cohorte de 22 patients permettant l'identification de nouveaux variants non codants du gène RBM8A.

Auteurs :

Simon BOUSSION (1, 2), Fabienne ESCANDE (3, 1), Anne-Sophie JOURDAIN (4), Thomas SMOL (1, 5), Yves ALEMBIK (6), Tania ATTIE-BITACH (7), Geneviève BAUJAT (7), Anne BAZIN (8), Maryse BONNIERE (9), Philippe CARASSOU (10), Dominique CARLES (11), Louise DEVISME (12, 1), Cyril GOIZET (13), Alice GOLDENBERG (14), Sarah GROTTTO (15), Agnès GUICHET (16), Pierre-Simon JOUK (17), Laurence LOEUILLET (18), Charlotte MECHLER (9), Caroline MICHOT (7), Fanny PELLUARD (19, 20), Audrey PUTOUX (21), Sandra WHALEN (22), Sylvie MANOUVRIER-HANU (2, 1), Florence PETIT (2, 1)

1. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
2. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CLAD Nord Ouest, ERN-ITHACA, CHU Lille, Lille, France
3. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
4. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, Etats-Unis
5. Institut de Génétique Médicale, CHU Lille, Lille, France
6. Service de génétique médicale, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
7. Département de Génétique, Hôpital Necker - Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
8. Service de Diagnostic Anténatal, Hôpital René Dubois, Pontoise, France
9. Département d'Histologie Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Necker - Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
10. Service d'Hématologie, CHR Metz-Thionville, Metz, France
11. Service d'Anatomo-Pathologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
12. Institut de Pathologie, CHU Lille, Lille, France
13. Service de génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
14. Service de génétique médicale, CHU Rouen, Rouen, France
15. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France
16. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France
17. Département de Génétique, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France
18. Service d'Anatomo-Cytopathologie, Hôpital Cochin - APHP, Paris, France
19. Unité de Foetopathologie, Service de pathologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
20. INSERM U1053-UMR BaRITOn, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
21. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
22. Service de Génétique Clinique, Hôpital Armand Trousseau, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : syndrome TAR, RBM8A, variants de signification indéterminée, éléments régulateurs

Résumé :

Le syndrome TAR (*Thrombocytopenia Absent Radius*, MIM#274000) est une pathologie malformative due à la présence de variants pathogènes bi-alléliques dans le gène *RBM8A* (MIM#605313), situé en 1q21.1. Sa prévalence est comprise entre 1/10000 et 1/200000. Sur le plan clinique, il est caractérisé principalement par une aplasie radiale bilatérale avec conservation constante des pouces et une thrombocytopénie néonatale. Le gène *RBM8A* code la protéine Y14, qui appartient à l'*Exon Junction Complex*, un complexe protéique intervenant dans de nombreuses étapes de la maturation des ARN messagers : régulation de l'épissage, export des transcrits vers le cytoplasme, recrutement du système NMD... L'hérédité du syndrome TAR suit le mode autosomique récessif mais nécessite la présence d'un allèle nul (délétion 1q21.1 dans la très grande majorité des cas ou rares variants tronquants), associé *en trans* à un allèle hypomorphe. A ce jour, seuls deux allèles hypomorphes, situés dans des régions non-codantes de *RBM8A*, sont connus.

Nous rapportons ici une cohorte de 22 patients présentant un tableau clinique de syndrome TAR et ayant bénéficié d'une analyse moléculaire du gène *RBM8A*. Douze de ces patients (55%) sont porteurs de la délétion 1q21.1 associée *en trans* à l'un ou l'autre des deux variants hypomorphes connus. Quatre variants de signification indéterminée (VSI) situés dans les régions non codantes ont été identifiés chez les 10 autres patients, et ont fait l'objet d'analyses fonctionnelles. Deux variants localisés en 5'UTR et 3'UTR sont responsables *in vitro* d'une diminution d'expression du gène rapporteur tandis que deux variants introniques sont responsables d'une altération de l'épissage.

En conclusion, nous avons mis au point des modèles expérimentaux permettant de caractériser *in vitro* des VSI des régions non codantes de *RBM8A*. A partir d'une série de patients, nous avons identifié et caractérisé fonctionnellement 2 nouveaux allèles nuls et 2 nouveaux allèles hypomorphes responsables de syndrome TAR. Ces résultats apportent de nouvelles connaissances moléculaires dans cette affection rare et permettent de préciser le conseil génétique aux familles.

CS91 : Caractérisation clinique et moléculaires d'une cohorte de 362 patients présentant un syndrome des mains et pieds fendus

Auteurs :

Perrine Brunelle (1, 2), Anne-Sophie Jourdain (1, 2), Florence Petit (3, 2), Muriel Holder (4), Laurence Olivier-Faivre (5), Valérie Cormier-Daire (6, 7), Sylvie Odent (8), Alain Verloes (9), David Geneviève (10), Nicole Philip (11), Charles-Patrick Edery (12), Annick Toutain (13), Tania Attie-Bitach (14), Albert David (15), Anne-Marie Guerrot (16), Bertrand Isidor (17), Didier Lacombe (18), Pierre-Simon Jouk (19), Laurent Pasquier (8), Fabienne Escande (1, 2), Sylvie Manouvrier-Hanu (20, 2)

1. Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Secteur Malformation des membres, Centre de Biologie et Pathologie, CHU de Lille, Lille, France
2. EA7364-RADEME, Université de Lille, Lille, France
3. Clinique de Génétique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU de Lille, Lille, France
4. Clinicals Genetics Service, Guy's Hospital, London, Royaume Uni
5. Centre de Génétique, Hôpital d'enfants, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Service de Génétique Médicale et Clinique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
7. Centre de Référence MOC, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
8. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
9. UF de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
10. Maladies Génétiques de l'Enfant et de l'Adulte, CHU de Montpellier, Montpellier, France
11. Unité de Génétique Clinique, CHU de Marseille Hôpital la Timone, Marseille, France
12. Service de Génétique, CHU de Lyon HCL, Bron, France
13. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
14. Service d'Histologie - Embryologie - Cytogénétique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
15. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
16. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
17. Service de Génétique Médicale et Clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
18. Service de Génétique Médicale et Clinique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
19. Unité de Génétique Clinique, CHU de Grenoble Site Nord, Grenoble, France
20. Clinique de Génétique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU de Lille, LILLE, France

Mots clefs : Mains et pieds fendus, ectrodactylies, séquençage haut débit, panel ciblé, TP63, duplication 10q24, duplication BHLHA9

Résumé :

Le syndrome des mains et pieds fendus (SHFM, split hand/foot malformation ou ectrodactylie) est une malformation rare touchant les rayons centraux des extrémités. Elle est caractérisée par une grande variabilité clinique (atteinte d'une ou plusieurs extrémités, sévérité variable, depuis la syndactylie des rayons externes jusqu'à la monodactylie, syndromique ou non) et une grande hétérogénéité génétique (plus de 7 *loci*/gènes décrits, divers mécanismes et modes de transmission). Notamment, les SHFM peuvent être liées à des remaniements génomiques, des variations ponctuelles et des remaniements équilibrés perturbant les interactions entre gènes et éléments régulateurs. Ainsi, malgré les récents progrès techniques, aucune analyse unique ne permet actuellement d'explorer les différentes causes moléculaires de SHFM ; il reste donc important de pouvoir orienter les investigations en fonction d'une hypothèse clinique. L'objectif de ce travail était, à partir de l'analyse de la plus grande cohorte de patients atteints de SHFM jamais décrite à notre connaissance, de préciser les corrélations génotype-phénotype afin d'aboutir à une proposition de chemin diagnostique, orientant les investigations moléculaires. Nous avons étudié rétrospectivement une cohorte de 362 cas de SHFM sur les plans clinique et moléculaire. La cause a pu être identifiée chez 47% d'entre eux. Il s'agissait le plus souvent de duplications 10q24 (17%) ou de variations ponctuelles du gène *TP63* (14%), avec, cependant, des différences selon que les SHFM étaient isolées ou s'intégraient dans un cadre syndromique, selon l'association ou non à une atteinte des os longs et selon le nombre d'extrémités affectées. Cette étude confirme aussi certaines associations (monodactylies et duplications 10q24 ($p < 0,0001$), dysplasies ectodermiques, fentes labio-palatines et anomalies de *TP63* ($p < 0,0001$)). Elle a également permis de pointer certaines associations encore non décrites à notre connaissance, telles que l'atteinte préférentielle des membres inférieurs dans les SHFM de type 1, ou encore de remettre en cause certaines pratiques usuelles diagnostiques, telles que la limitation des analyses à la recherche de la duplication du gène *BHLHA9* en cas de SHFM n'affectant qu'une seule extrémité. Nous concluons ce travail par la proposition d'un chemin diagnostique devant une SHFM.

Pièce jointe : résumé Assises SHFM.docx

CS92 : Histoire naturelle et corrélation génotype-phénotype des dysplasies acromicrique et gélophysique

Auteurs :

Pauline Marzin (1, 2), Briac Thierry (3, 4), Andrea Dancasius (1, 2), Caroline Michot (1, 2), Sophie Rondeau (1, 2), Genevieve Baujat (1, 2), Gilles Phan (5), Muriel Le Bourgeois (6), Diala Khraiche (7), Damien Bonnet (7), Christophe Delacourt (6), Valerie Cormier-Daire (1, 2)

1. Fédération de Génétique et Institut Imagine, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, F-75015 Paris, France, Paris, France
2. Université de Paris, UMR1163, INSERM, F-75 015, Paris, France, Paris, France
3. Service d'ORL pédiatrique, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, F-75015 Paris, France, Paris, France
4. Université de Paris, UMR976, INSERM, F-75 010, Paris, France, Paris, France
5. Université de Paris, CiTCoM (Cibles Thérapeutiques et Conception de Médicaments), UMR8038, CNRS, , Faculté de Pharmacie, 4 Avenue de l'Observatoire, F-75006 Paris, France, Paris, France
6. Service de Pneumologie et Allergologie Pédiatriques, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, F-75015 Paris, France, Paris, France
7. Unité Médico-Chirurgicale de Cardiologie Congénital et Pédiatrique, , AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, F-75015 Paris, France, Paris, France

Mots clefs : Dysplasie acromicrique ; Dysplasie gélophysique ; réseau microfibrillaire ; TGF-beta ; valvulopathie, Syndrome interstitiel, Voies respiratoires

Résumé :

Introduction : La dysplasie gélophysique (DG) et la dysplasie acromicrique (DA) font partie des dysplasies acroméliques. Ces entités cliniques partagent des caractéristiques communes dont un retard de croissance sévère, des extrémités brèves et un enraidissement articulaire progressif. La DG se manifeste par des atteintes cardiorespiratoires responsables d'un pronostic défavorable. Des mutations dominantes dans les gènes *FBN1* et *LTPB3* sont associées à la DA et à la DG tandis que des mutations dans *ADAMTSL2* sont responsables d'une forme récessive de DG. Ces trois gènes codent pour des protéines du réseau microfibrillaire, réservoir du facteur de croissance TGF-beta.

Objectif : Description de l'histoire naturelle de la DG et la DA afin de mettre en place une prise en charge spécifique et d'établir des corrélations génotype-phénotype.

Matériels et méthodes : Etude rétrospective monocentrique. Critères d'inclusion : diagnostic moléculaire de DG ou de DA. Le recueil de données a été fait à partir des dossiers médicaux par un questionnaire systématisé. Les patients ont bénéficié d'un bilan systématique avec échocardiographie, explorations fonctionnelles respiratoires, scanner thoracique, consultation ORL, consultation ophtalmologique et IRM cérébrale à l'hôpital Necker-Enfant Malades (Paris) quand cela était possible.

Résultats : 38 patients d'une moyenne d'âge de 17 ans (1 mois à 71 ans) ont été inclus dont 20 DG et 18 DA. Parmi eux, 23 avaient une mutation dans *FBN1* (8DG, 15DA), 12 dans *ADAMTSL2* (10DG, 2DA) et 3 dans *LTPB3* (2DG, 1DA). Neuf patients étaient décédés. 45% des patients présentaient une valvulopathie, évolutive dans la moitié des cas. En cas de valvulopathie mitrale sévère, les patients présentaient un syndrome restrictif avec hypertension pulmonaire. Un tiers des patients avait un syndrome restrictif sans valvulopathie associée. Quatre patients ont présenté des épisodes de décompensations respiratoires mal compris, déclenchés par des événements infectieux ou un stress mécanique, compliqués d'hypertension pulmonaire et associé à un pronostic défavorable. Par ailleurs, 18% des patients avaient une atteinte des voies respiratoires qui avait la caractéristique rare d'être évolutive. Les patients présentant un phénotype cardiorespiratoire sévère (dysplasie gélophysique) sont porteurs soit de mutations d'*ADAMTSL2* soit d'une mutation de *FBN1* impliquant un résidu cystéine.

Discussion et conclusion : Les patients gélophysiques (*ADAMTSL2* ou *FBN1* impliquant un résidu Cysteine) ont une susceptibilité cardiorespiratoire accrue mettant en jeu le pronostic vital. Ces atteintes sont pour la plupart évolutives et semblent déclenchées ou aggravées par des facteurs extérieurs. Le gène muté et/ou le type de mutations permet de prédire l'évolution de ces dysplasies, permettant d'adapter le suivi des patients dans le cadre d'une médecine personnalisée.

Pièce jointe : Abstract assises_acromelique_final.docx

CS93 : Inactivation bi allélique du gène NF1 dans la pseudarthrose congénitale de la jambe chez les patients atteints de neurofibromatose de type 1

Auteurs :

Béatrice PARFAIT (1, 2), Simon PERRIN (3), Ingrid LAURENDEAU (1), Oriane DUCHAMP DE LAGENESTE (3), Laurence PACOT (1, 2), Stéphanie PANNIER (4), Philippe WICART (4), Smail HADJ-RABIA (5), Michel VIDAUD (1, 2), Eric PASMANT (1, 2), Dominique VIDAUD (1, 2), Céline COLNOT (3)

1. , INSERM UMR S1016, Institut Cochin & Université de Paris, PARIS, France
2. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, AP-HP. Centre – Université de Paris, PARIS, France
3. , INSERM UMR1163, Institut Imagine & Université de Paris, PARIS, France
4. Service Chirurgie Orthopédique et Traumatologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP. Centre – Université de Paris, PARIS, France
5. Service de Dermatologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP. Centre – Université de Paris, PARIS, France

Mots clefs : Neurofibromatose de type 1, NF1, Pseudarthrose congénitale du tibia

Résumé :

La NF1 est l'une des maladies génétiques à transmission autosomique dominante les plus fréquentes chez l'homme avec une prévalence estimée à 1/3500 naissances. Elle résulte de la perte de fonction du gène suppresseur de tumeur *NF1* codant la neurofibromine, régulateur négatif de la voie RAS-MAPK. La NF1 est caractérisée essentiellement par la présence d'atteintes dermatologiques telles que des taches café au lait et des neurofibromes. En accord avec le modèle de Knudson, les tumeurs observées dans la NF1 se développent quand une mutation somatique inactive l'allèle sauvage du gène *NF1* au sein des cellules de Schwann, aboutissant à la perte fonctionnelle totale de la neurofibromine et ainsi à l'hyperactivation des protéines RAS responsables entre autres de la prolifération cellulaire. Des altérations osseuses telles que des scolioses et des dysplasies osseuses sont également observées dans cette maladie sans que les conséquences des mutations du gène *NF1* dans ces atteintes ne soient clairement établies. Dans 5% des cas les patients présentent une pseudarthrose, généralement congénitale, des os longs et plus particulièrement du tibia. La pseudarthrose congénitale de la jambe (PCJ) est une condition orthopédique pédiatrique sévère diagnostiquée dans plus de 50% des cas chez des patients NF1. La PCJ est caractérisée par des déformations et des fragilités osseuses conduisant à des fractures spontanées associées à une absence de régénération. Plusieurs interventions sont souvent nécessaires avec un risque d'amputation possible après plusieurs récidives.

Nous avons réalisé l'étude moléculaire du gène *NF1* dans le sang, la peau, le muscle et dans différents tissus osseux, normaux et pathologiques de patients atteints ou non de NF1. Les échantillons ont été prélevés au cours des chirurgies réalisées dans l'objectif de corriger la pseudarthrose dans le Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologie Pédiatrique de l'hôpital Necker Enfants Malades. A l'image de l'hypothèse de Knudson dans les cellules tumorales, nous montrons que l'inactivation bi-allélique du gène *NF1* est présente dans le tissu pseudarthrosique ainsi que dans le périoste et les cellules dérivées de ce tissu connu pour ses rôles dans l'ostéogénèse au niveau du développement et au niveau post-natal lors de la réparation. Les premiers tests de différenciation *in vitro* montrent des défauts de minéralisation pour les cellules du périoste du site de pseudarthrose. Ces défauts ne sont pas observés au niveau des cellules souches de la moelle provenant des mêmes patients, suggérant que cette déficience est spécifique des cellules du périoste. La caractérisation fine du lignage cellulaire concerné par l'inactivation bi-allélique du gène *NF1* reste à définir. Complétés par l'étude de la réparation osseuse dans des modèles murins, nos travaux visent à comprendre le rôle du gène *NF1* dans la physiopathologie de la PCJ pour envisager de nouvelles approches thérapeutiques pharmacologiques ou cellulaires.

CS94 : Identification de modules d'autorégulation de *LMX1B* spécifiques du membre dont l'altération est responsable de syndrome Nail-Patella

Auteurs :

Endika HARO (1, 2), Florence PETIT (3, 4), Charmaine PIRA (1), Conor SPADY (1), Lauren IVEY (1), Austin GRAY (1), Fabienne ESCANDE (5, 4), Anne-Sophie JOURDAIN (6), Andy NGUYEN (1), Florence FELLMANN (7), Jean-Marc GOOD (7), Christine FRANCANET (8), Sylvie MANOUVRIER-HANU (3, 4), Marian ROS (2), Kerby OBERG (1)

1. Department of Pathology and Human Anatomy, Loma Linda University School of Medicine, Loma Linda, Etats-Unis
2. Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Universidad de Cantabria, Santander, Espagne
3. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CLAD Nord Ouest, ERN-ITHACA, CHU Lille, Lille, France
4. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
5. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
6. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, Etats-Unis
7. Service de Médecine Génétique, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse
8. Service de génétique médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : développement du membre, dorsalisation du membre, autorégulation, syndrome Nail-Patella, *LMX1B*

Résumé :

Le syndrome Nail Patella (NPS, MIM 161200) est une affection autosomique dominante caractérisée par une dysplasie unguéale, une hypo/aplasie patellaire, une néphropathie glomérulaire et un glaucome. Une anomalie moléculaire de *LMX1B* responsable d'haploinsuffisance est identifiée chez près de 90% des patients. Chez la souris, *Lmx1b* joue un rôle crucial dans le développement du membre, rénal et oculaire. Les modèles murins knock-out pour *Lmx1b* présentent un phénotype double-ventral des membres, associé à des anomalies rénales, oculaires et du cervelet. Nous décrivons deux éléments non codants conservés constituant des modules d'autorégulation de *Lmx1b* (*Lmx1b*-associated *cis*-regulatory modules, *LARM1* et *LARM2*). *Lmx1b* se fixe directement sur ces éléments pour amplifier son expression dans le membre, ces modules étant nécessaires à la dorsalisation. Leur invalidation chez la souris est responsable d'anomalies squelettiques isolées. L'étude des *LARMs* chez 11 familles de syndrome Nail-Patella sans anomalie de *LMX1B* a permis d'identifier d'une part une délétion hétérozygote, et d'autre part un variant rare homozygote de *LARM2*. Les anomalies moléculaires identifiées sont responsables d'une perte de l'activité de *LARM2*. Nous démontrons que dans ces deux familles, la perte de fonction d'un module d'autorégulation de *LMX1B* est responsable d'un syndrome Nail-Patella avec une atteinte isolée des membres, de transmission autosomique dominante ou récessive. Il s'agit d'un nouvel exemple d'affection malformative liée à l'anomalie d'un élément régulateur, confirmant l'implication particulière de ce mécanisme moléculaire dans les malformations isolées des membres.

CO01 : Enrichissement de mutations pathogènes du diabète monogénique parmi les patients diabétiques de type 2 commun : vers une médecine personnalisée des diabètes**Auteurs :**

philippe froguel (1), michel marre (2), amelie Bonnefond (1), mathisle Boissel (1)

1. , CHU de Lille, Lille, France

2. , CHU de Lille, Paris, France

Mots clefs : monogénique, diabète de type 2, médecine personnalisée

Résumé :

Les études d'association pangénomique ont identifié 250 loci indépendants associés au risque de diabète de type 2 (DT2) qui touche 4 millions de personnes en France. Malgré ce succès, la translation de ces découvertes vers des avancées en médecine de précision a été modeste. A contrario, l'investigation génétique des formes monogéniques de diabète a révélé plusieurs régulateurs clés de la sécrétion d'insuline, conduisant à des cas d'école en médecine génomique de précision. En effet, les patients diabétiques avec une mutation pathogène dans *HNFI1A* sont traités de manière optimale avec des sulfamides hypoglycémisants oraux et les patients porteurs de mutation pathogène dans *GCK* ne requièrent aucun traitement médicamenteux malgré leur hyperglycémie chronique. La place de ces formes de diabète monogénique dans le DT2 commun est inconnue. Nous avons mesuré la prévalence de mutations pathogènes parmi 33 gènes impliqués dans le diabète monogénique chez des patients avec une forme commune de DT2, comparée à une population contrôle normoglycémique. Via un séquençage de nouvelle génération (NGS), les gènes ont été séquencés dans une étude cas-témoins incluant 6 348 individus. Comme le séquençage NGS ciblé de l'ADN ne conduit pas à une couverture parfaite de tous les gènes, nous avons appliqué des contrôles qualité stricts avant les analyses. La pathogénicité des variants a été mesurée via les critères ACMG. Parmi les 6 348 individus, nous avons identifiés 168 mutations pathogènes ou probablement pathogènes, incluant 35% de mutations tronquantes. En utilisant la méthode MiST ajustée à l'âge, au sexe, à l'indice de masse corporelle et à l'ethnie, nous avons identifié une association significative entre les variants pathogènes ou probablement pathogènes et une augmentation du risque de DT2 ($p < 0.001$; avec 5.6% porteurs parmi les cas vs 2.7% porteurs parmi les contrôles). Nous avons trouvé que cette association significative est surtout expliquée par les mutations identifiées dans *GCK* ($p < 0.001$) et *HNFI1A* ($p < 0.001$) ; c'est-à-dire les gènes les plus fréquemment mutés dans le diabète monogénique. Parmi les patients avec un DT2, nous avons trouvé que les porteurs de mutation pathogène étaient légèrement plus minces avec un diabète diagnostiqué un peu plus précocement, mais les médicaments anti-diabétiques et l'histoire familiale n'étaient pas différentes entre les porteurs et les non-porteurs. En conclusion, nous avons trouvé une prévalence élevée de mutations pathogènes parmi les gènes du diabète monogénique chez les patients avec un DT2 commun, qui pourtant ne présentaient pas les caractéristiques cliniques d'un diabète monogénique (comme le MODY) et donc qui ne pouvaient pas être identifiés cliniquement avant le criblage génique. Ces résultats ouvrent des perspectives nouvelles vers une médecine personnalisée du diabète commun, plus économe en coûts de santé grâce au criblage génétique peu onéreux (50€) des patients diabétiques nouvellement diagnostiqués.

CO02 : Découverte d'anomalies constitutionnelles lors d'analyse génomique tumorale : Retour d'expérience**Auteurs :**

Benjamin Verret (1), Patrick Benusiglio (2), Veronica Goldbarg (1), Christophe Massard (3), Benjamin Besse (1), Yohann Lorient (1), Claudio Nicotra (3), Maud Ngo-Camus (3), Marina Di Maria (1), Sophie Villebasse (1), Delphine Wehrer (1), Brigitte Bressac de Paillerets (4), Alice Fievet (5), Odile Cabaret (4), Marine Guillaud-Bataille (4), Ludovic Lacroix (4), Etienne Rouleau (4), Olivier Caron (1)

1. Département de médecine oncologique, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Oncogénétique, APHP/Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. DITEP, Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Département de Biologie et pathologie médicales, Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Département de Biologie et pathologie médicales, Curie, Paris, France

Mots clefs : Médecine personnalisée, Analyse somatique, Mutation Germinale, Oncogénétique

Résumé :

Le but de la médecine de précision est l'identification dans le génome tumoral de potentielles cibles de traitement. Au cours de cette analyse, des variants pathogènes dans des gènes connus pour leur implication dans des prédispositions au cancer (VP) peuvent être identifiés. Certains de ces VP sont présents constitutionnellement. Dans les 4 dernières années, des VP de gènes de prédisposition ont été identifiés dans les tumeurs de 19 pts inclus dans des programmes de médecine de précision de notre institution (MOSCATO, MATCHR) (âge médian 52ans [21-72ans] ; 5 cancers pulmonaires, 3 cancers de la prostate, 4 cancers du sein, un cancer de la vessie, un cancer du côlon, un corticosurrénalome, un cancer ORL, un cancer de l'ovaire, un phéochromocytome, une double localisation pancréas/poumon). Les VP concernaient BRCA2 (n=10), BRCA1 (n=5), PALB2 (n=1), MSH2 (n=1), TP53 (n=1), VHL (n=1). Suite à la réunion pluridisciplinaire (RCP) moléculaire, ces pts ont été invités à consulter en oncogénétique, malgré l'absence d'histoire familiale évocatrice de prédisposition pour 17 pts d'entre eux. Douze pts ont été reçus en consultation et ont réalisé un test ciblé. Huit n'ont jamais donné suite, bien que 3 d'entre eux aient été adressés vers un centre d'oncogénétique plus proche de leur lieu de résidence. Parmi les 12 pts testés, 9 étaient porteurs constitutionnels du VP, 3 étaient non porteurs (VHL, BRCA1, BRCA2). Des tests ciblés chez des apparentés ont été réalisés secondairement dans 4 familles et la prise en charge usuelle a été appliquée pour les porteurs.

Ces résultats montrent que l'acceptation d'un test constitutionnel après analyse tumorale est grande, la non-réalisation de la consultation de génétique dans notre série étant souvent en lien avec une altération de l'état général. Les VP tumoraux sont le plus fréquemment constitutionnels (9/12), même si le cancer ne fait pas partie du spectre habituel de la prédisposition. La prise en charge des apparentés porteurs est par ailleurs questionnable. Elle est peut-être excessive dans la mesure où les risques réels sont mal connus et possiblement plus faibles qu'en situation évocatrice de prédisposition.

Cette expérience révèle l'importance d'anticiper l'identification de ces VP lors des analyses tumorales. Dans nos protocoles de recherche en médecine personnalisée, tous les pts consentent initialement à une éventuelle exploration constitutionnelle. Dans tous les autres contextes, il est nécessaire d'avoir des dispositifs d'oncogénétique garantissant un minimum d'information préalable et une prise en charge organisée en aval du test tumoral, intégrant une RCP moléculaire et une consultation de génétique. Il est également indispensable d'améliorer l'évaluation des risques de cancer dans ces situations d'histoire familiale peu évocatrice. La multiplication des portraits moléculaires tumoraux sans cet accompagnement soulèverait une question éthique et de responsabilité vis-à-vis des patients et de leur famille.

CO03 : Point sur les épimutations constitutionnelles responsables de syndrome de Lynch**Auteurs :**

Julie LECLERC (1, 2), Cathy FLAMENT (1), Tonio LOVECCHIO (1), Lucie DELATTRE (1), Emilie AIT YAHYA (3), Catherine VERMAUT (1), Stéphanie BAERT-DESURMONT (4, 5), Nelly BURNICHON (6, 7), Myriam BRONNER (8), Odile CABARET (9), Sylviane OLSCHWANG (10), Sophie LEJEUNE (11), Afane BRAHIMI (11), Stéphane CATTAN (11), Nelly PASZ (11), Rosine GUIMBAUD (12), Gilles MORIN (13), Jacques MAUILLON (4), Philippe JONVEAUX (8, 14), Paul GESTA (15), Chrystelle COLAS (16), Jeanne NETTER (17), Jessica MORETTA (18), Philippe DENIZEAU (19), Pierre LAURENT-PUIG (20), Thierry FREBOURG (4, 21), Marie-Pierre BUISINE (1, 2)

1. Oncologie et Génétique Moléculaires, Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, CHU Lille, Lille, France
2. Inserm UMR-S 1172, JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, Université de Lille, Lille, France
3. Equipe Bioinformatique, Plateau commun de Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, CHU Lille, Lille, France
4. Département de Génétique, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Université, Rouen, France
6. Laboratoire de Génétique, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, , Paris, France
7. PARCC, INSERM, Equipe Labellisée par la Ligue contre le Cancer, Université Paris, Paris, France
8. Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France
9. Département de Biologie et de Pathologie, Gustave Roussy, Villejuif, France
10. Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France
11. Clinique de Génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU Lille, Lille, France
12. Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, IUCT-Oncopôle, Toulouse, France
13. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
14. INSERM U954, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France
15. Service d'Oncogénétique, CH de Niort, Niort, France
16. Département de Génétique, Université de Recherche Paris Sciences et Lettres, Institut Curie, Paris, France
17. Consultation d'Oncogénétique, Service de Chirurgie Digestive, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
18. Oncogénétique, Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
19. Service de Génétique Médicale, Unité Oncogénétique, CHU de Rennes, Rennes, France
20. Département de Biologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, , Paris, France
21. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Normandie Université, Rouen, France

Mots clefs : syndrome de Lynch, épimutation constitutionnelle, épigénétique

Résumé :

Les épimutations représentent un mécanisme alternatif aux mutations génétiques dans l'étiologie de certaines maladies génétiques. C'est le cas dans le syndrome de Lynch, syndrome de prédisposition héréditaire au cancer (principalement du côlon et de l'endomètre) lié à une altération génétique constitutionnelle d'un des gènes codant les protéines impliquées dans la réparation des mésappariements de l'ADN (système Mismatch Repair). Pour quelques patients, l'altération constitutionnelle responsable de la prédisposition aux cancers est épigénétique et correspond à une hyperméthylation du promoteur des gènes *MLH1* ou *MSH2*.

De manière générale, les épimutations, rares et de description plus récente que les altérations génétiques, restent mal connues et mal caractérisées d'un point de vue fonctionnel. Les épimutations peuvent être primaires, correspondant à des événements épigénétiques purs labiles dans les lignées germinales, ou secondaires, associées à une altération génétique en *cis* transmise à la descendance sur un mode Mendélien. Les épimutations du gène *MSH2* sont secondaires. Le mécanisme moléculaire responsable de l'hyperméthylation du promoteur a été bien caractérisé et correspond à une délétion de taille variable de la région 3' du gène *EPCAM*, situé en amont du gène *MSH2*. Les épimutations du gène *MLH1* peuvent être primaires ou secondaires. Bien qu'identifiées dès 2002, ces épimutations restent mal caractérisées et semblent beaucoup plus complexes, notamment en raison de la diversité des mécanismes moléculaires impliqués. Seule une soixantaine de patients porteurs d'une épimutation de *MLH1* a priori primaire et quelques rares familles avec épimutation secondaire ont été décrits dans la littérature à ce jour.

La recherche d'hyperméthylation constitutionnelle du promoteur du gène *MLH1* est réalisée dans notre laboratoire dans le cadre du diagnostic de syndrome de Lynch depuis 2009. L'implication des généticiens, moléculaires et cliniciens, du Groupe Génétique et Cancer (GGC) a permis un recrutement national de patients. Plus d'une trentaine de cas index porteurs d'une épimutation constitutionnelle ont ainsi pu être identifiés à ce jour. Un diagnostic présymptomatique a pu être proposé aux apparentés, et une transmission de l'épimutation sur au moins 2 générations a été mise en évidence dans quelques familles. Les explorations complémentaires, constitutionnelles et tumorales, réalisées chez ces patients permettent d'éclaircir les mécanismes moléculaires conduisant à l'inactivation du gène *MLH1*. De nouveaux variants génétiques, ségrégeant avec l'hyperméthylation dans les familles, ont notamment pu être identifiés, montrant la grande diversité des variants génétiques responsables d'épimutations secondaires. La première description de l'insertion d'une séquence *Alu* dans la séquence codante du gène *MLH1* a ainsi été faite.

Une revue de la littérature, ainsi que les différents travaux du laboratoire concernant les épimutations du gène *MLH1*, seront présentés.

Pièce jointe : Assises2020_epimutationMLH1_JLeclerc_v2.docx

CO04 : Toutes les variations non-sens ne conduisent pas à une perte totale de fonction : le paradigme de l'exon 12 de BRCA2**Auteurs :**

Laëtitia Meulemans (1), Romy Mesman (2), Sandrine M. Caputo (3, 4), Sophie Krieger (1, 5), Marine Guillaud-Bataille (6), Virginie Caux-Moncoutier (3, 4), Mélanie Léone (7), Nadia Boutry-Kryza (7), Joanna Sokolowska (8), Françoise Révillion (9), Capucine Delnatte (10), Hélène Tubeuf (1, 11), Omar Soukarieh (1), Françoise Bonnet-Dorion (12), Virginie Guibert (10), Sarab Lizard (8), Paul Vilquin (13), Maud Privat (14, 15), Aurélie Drouet (1), Charlotte Grout (1), Fabienne Calléja (2), Lisa Golmard (16, 4), Harry Vrieling (2), Dominique Stoppa-Lyonnet (16, 17), Claude Houdayer (1, 18), Thierry Frebourg (1, 18), Maaïke Vreeswijk (2), Alexandra Martins (1), Pascaline Gaildrat (1)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Université, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, Rouen, France
2. Department of Human Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-Bas
3. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
4. , Université de recherche Paris Sciences Lettres, Paris, France
5. Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François Baclesse et Normandie Univ, UNICAEN, Caen, France
6. Département de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
7. , Hospices Civiles de Lyon, Bron, France
8. Département de Génétique, CHU Nancy, Nancy, France
9. Unité d'Oncologie Moléculaire Humaine, Centre Oscar Lambret, Lille, France
10. Département de Génétique, CHU Nantes, Nantes, France
11. , Interactive Biosoftware, Rouen, France
12. Inserm U916, Département de Pathologie, Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, Institut Bergonié, Bordeaux, France
13. Département de Biopathologie Cellulaire et Tissulaire des Tumeurs, CHU Montpellier, Montpellier, France
14. Inserm U1240, Université Clermont Auvergne, Clermont Ferrand, France
15. Département d'Oncogénétique , Centre Jean Perrin, Clermont Ferrand, France
16. Département de Génétique, Institut Curie, Paris, France
17. Inserm U830, Université Paris Descartes, Paris, France
18. Département de Génétique, CHU Rouen, Rouen, France

Mots clefs : Forme héréditaire du cancer du sein et de l'ovaire, BRCA2, variations non-sens, modification de l'épissage en phase, interprétation des variations hypomorphes

Résumé :

Les variations non-sens ainsi que celles localisées au niveau des sites canoniques d'épissage ($IVS\pm 1,2$) sont généralement considérées, sans ambiguïté, comme des variations perte de fonction et, en conséquence, sont classées pathogènes. Toutefois, certaines d'entre elles sont susceptibles d'induire le saut en phase d'un exon non-essentiel, conduisant potentiellement au moins en partie à une protéine fonctionnelle. Afin de tester cette hypothèse dans le contexte d'un gène de prédisposition au cancer, nous avons utilisé comme modèle d'étude l'exon 12 de *BRCA2*. En effet, il a été précédemment montré que le saut en phase de cet exon n'entraîne pas la perte complète de fonction de la protéine. Dans un premier temps, nous avons sélectionné à partir des bases de données mutationnelles toutes les variations supposées pathogènes localisées dans ou autour l'exon 12 (e.g. variations non-sens, *frameshift* ou $IVS\pm 1/2$). L'impact sur l'épissage des 15 variations ainsi sélectionnées a ensuite été évalué dans un test basé sur l'utilisation de minigènes et à partir de lignées lymphoblastoïdes de patients, lorsque ce matériel était disponible. De plus, certaines de ces variations ont fait l'objet d'une analyse dans un essai fonctionnel basé sur l'utilisation de cellules souches embryonnaires de souris. Ces différentes approches complémentaires ont permis de montrer qu'une fraction importante de ces variations, y compris des variations non-sens, (i) induisent un saut en phase de l'exon 12 du fait de la modification des sites d'épissage ou d'éléments de régulation, et, en conséquence, (ii) sont responsables de la production d'une protéine avec une délétion interne mais fonctionnelle, au moins en partie. L'ensemble de ces données montre, pour la première fois dans un gène de prédisposition au cancer, que certaines variations non-sens présumées nulles contournent la perte totale de fonction du fait de leur impact sur l'épissage. Des analyses complémentaires des données cliniques et familiales des patients seront nécessaires afin d'estimer le risque de développer un cancer associé à ce type de variations hypomorphes. Ces travaux soulignent l'importance d'être prudent dans l'interprétation des variations supposées nulles localisées dans des exons en phase ne codant pour aucun domaine fonctionnel essentiel.

Pièce jointe : Abstract Assises de Génétique L. Meulemans - 2020.doc

CO05 : Le déficit en frataxine induit une surcharge en fer due à un défaut de palmitoylation du récepteur à la transferrine qui est rétabli par l'artésunate.**Auteurs :**

Floriane PETIT (1), Anthony Drecourt (1), Michael Dussiot (2), Coralie Zangarelli (1), Olivier Hermine (2), Arnold Munnich (3), Agnès Rötig (1)

1. Institut IMAGINE, Genetics of mitochondrial disorders, UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, 24 Boulevard du Montparnasse, 75015 Paris, France, Paris, France
2. Institut IMAGINE, Laboratory of Excellence GR-Ex, 24 Boulevard du Montparnasse, 75015 Paris, France, Paris, France
3. Department of Genetics, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 Rue de Sèvres, 75015 Paris, France, Paris, France

Mots clefs : Friedreich ataxia, mitochondria, iron, transferrin receptor, palmitoylation, iron-sulfur cluster, artesunate

Résumé :

Friedreich's ataxia (FRDA) is a frequent autosomal recessive disease caused by a GAA repeat expansion in the *FXN* gene encoding frataxin, a mitochondrial protein involved in iron-sulfur clusters (ISC) biogenesis. Frataxin deficiency affects ISC containing proteins, namely respiratory chain complexes I-III as well as aconitases, and causes an iron overload in brain and heart of patients. In these tissues mitochondrial iron-loading results in a progressive ataxia and hypertrophic cardiomyopathy. However, the mechanism of iron accumulation due to frataxin deficiency remains unclear. In this way, we studied the regulation of iron homeostasis in primary fibroblasts from FRDA patients.

We report an abnormal cellular iron homeostasis in FRDA fibroblasts, inducing a massive iron accumulation in the cytosol and to a lesser extent in mitochondria where it's associated with oxidative stress. The cellular iron uptake involves the internalization of transferrin receptor 1 (TfR1) by receptor-mediating endocytosis, which is dependent to palmitoylation status of TfR1. Despite a normal post-transcriptional regulation of TfR1, we found that FRDA fibroblasts failed to limit iron uptake by accumulating TfR1 at plasma membrane. We were able to demonstrate that this abnormal iron uptake results in an impaired Coenzyme A pool available causing a severe defect of TfR1 palmitoylation. Finally, we showed that artesunate, an anti-malaria drug, limits iron overload by restoring TfR1 palmitoylation, which controls the iron uptake. These data highlight the critical role of frataxin in iron overload and suggest that artesunate could be a potential candidate molecule for therapeutic trials of Friedreich ataxia.

CO06 : Les variations bi-alléliques pathogènes du gène MYORG causent un syndrome reconnaissable à l'interface entre calcifications primaires cérébrales et ataxies spino-cérébelleuses**Auteurs :**

Lou Grangeon (1), David Wallon (2), Camille Charbonnier (3), Olivier Quenez (4), Anne-Claire Richard (4), Stéphane Rousseau (4), Clara Budowski (5), Thibaud Lebouvier (6), Anne-Gaëlle Corbille (7), Marie Vidailhet (8), Emmanuel Flamand-Roze (8), Aurélie Meneret (8), Mathieu Anheim (9), Christine Tranchant (9), Pascal Favrole (10), Jean-Christophe Antoine (11), Luc Defebvre (12), Xavier Ayrignac (13), Pierre Labauge (13), Jérémie Pariente (14), Michel Clanet (15), David Maitête (16), Anne Rovelet-Lecrux (17), Anne Boland (18), Jean-François Deleuze (18), Thierry Frebourg (19), Didier Hannequin (20), Dominique Campion (21), Gaël Nicolas (4)

1. Département de Neurologie, 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. 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
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. 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
5. Département de Neurologie, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Département de Neurologie et CNR-MAJ, CHRU de Lille, Lille, France
7. Service de Neurologie, CHU de Nantes, Nantes, France
8. Département de neurologie, Inserm U1127, CNRS UMR 7225, ICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Faculté de médecine de Sorbonne Université, Paris, France
9. Service de Neurologie, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg (FMTS), Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre et Université de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Service de Neurologie, Hôpital d'Aix en Provence, Aix en Provence, France
11. Service de Neurologie, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France
12. Service de Neurologie A et EA4559, CHRU de Lille, Lille, France
13. Service de Neurologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
14. Service de Neurologie et Toulouse NeuroImaging Center, CHU de Toulouse, Inserm et Université de Toulouse, Toulouse, France
15. Service de Neurologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France
16. Service de Neurologie et Inserm U1239, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
17. Inserm U1079 et CNR-MAJ, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
18. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, CNRGH, Evry, France
19. Département de Génétique, 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
20. 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
21. 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 : calcifications, SCA, MYORG

Résumé :

Les calcifications cérébrales primaires (CCP) sont une entité rare d'expression neuropsychiatrique diverse définie par la présence de calcifications microvasculaires cérébrales. Quatre gènes sont associés à des formes autosomiques dominantes (CCP-AD) : *SLC20A2* et *XPR1* codent pour des transporteurs de phosphate, *PDGFB* code pour un facteur de croissance exprimé au niveau de l'unité neurovasculaire et *PDGFRB*, pour son récepteur principal. Nous avons précédemment montré que les signes cliniques principaux de CCP-AD sont des mouvements anormaux, des troubles cognitifs, et des signes psychiatriques, avec une moindre proportion d'autres anomalies motrices (cérébelleuses, pyramidales). Récemment, des variants du gène *MYORG*, qui code pour une glycosidase d'expression astrocytaire, ont été rapportés comme causant une forme autosomique récessive de CCP.

Nous avons criblé *MYORG* par séquençage d'exome chez 29 cas index non apparentés ne présentant pas de variant pathogène de CCP-AD. Nous avons étudié les caractéristiques cliniques et radiologiques des porteurs de variations bi-alléliques pathogènes de *MYORG* après étude de ségrégation et les avons comparées à celles de 102 patients CCP-AD.

Seize patients de 11 familles présentaient une variation bi-allélique rare ou nouvelle, non synonyme, perte de fonction ou prédite délétère. La pénétrance clinique était élevée (15/16 symptomatiques, âge de la seule porteuse asymptomatique : 28 ans, âge médian de début : 52 ans, intervalle : 21-62 ans) avec une atteinte motrice au premier plan. La dysarthrie était le signe initial chez 11/16 patients. Contrastant avec les patients CCP-AD, 80% des symptomatiques présentaient au moins 4 des 5 symptômes suivants au cours de l'évolution, qui étaient tous significativement enrichis chez les patients *MYORG* ($p < 0.002$ chacun) : dysarthrie, syndrome cérébelleux, troubles de l'équilibre, signes pyramidaux, et syndrome akinéto-rigide. Après cotation de chaque scanner par une échelle visuelle validée, le score total de calcifications était le plus élevé chez les patients *MYORG* ($p < 10^{-3}$ contre chaque gène sauf *XPR1*, $p=0.089$, modèle de régression binomiale prenant en compte l'âge au scanner). Fait frappant, 13/16 présentaient des calcifications du tronc cérébral en plus de calcifications étendues d'autres régions (noyaux gris

centraux, cervelet $\pm$ cortex). Parmi eux, 9 présentaient des calcifications pontines, qui n'ont jamais été observées dans les CCP-AD. De plus, tous les patients *MYORG* présentaient une atrophie cérébelleuse après analyse visuelle, confirmée en IRM par morphométrie voxel-à-voxel en comparaison avec un groupe CCP-AD. Dans 3 familles, le père était porteur de petites calcifications pallido-dentelées, suggérant une expression phénotypique marginale chez certains porteurs hétérozygotes.

Nous confirmons que *MYORG* est un nouveau gène causal de CCP et identifions un phénotype clinico-radiologique reconnaissable à l'interface entre les CCP et les ataxies spinocérébelleuses.

CO07 : Casser le mystère du chromoanagenesis : étude de 20 nouveaux cas et des données de la littérature**Auteurs :**

Nicolas CHATRON (1, 2), Giuliana GIANNUZZI (3), Pierre-Antoine ROLLAT-FARNIER (1, 4), Flavie DIGUET (1, 5), Eleonora PORCU (3), Kevin UGUEN (6), Julia LAUER ZILLHARDT (7), Arthur SORLIN (8), Flavie ADER (9), Alexandra AFENJAR (10), Joris ANDRIEUX (11), Sandra CHANTOT-BASTARAUD (12), Patrick CALLIER (13), Eduardo CALPENA (14), Marie-Pierre CORDIER (1), Sylvie JAILLARD (15), Nora CHELLOUG (16), Christèle DUBOURG (17, 18), Laurence FAIVRE (19), Françoise GIRARD (20), Solveig HEIDE (21), Yvan HERENGER (22), Boris KEREN (23), Samantha KNIGHT (24), James LESPINASSE (25), Laurence LOHMANN (26), Nathalie MARLE (27), Reza MAROOFIAN (28), Alice MASUREL (27), Michèle MATHIEU (29), Corinne METAY (30), Alistair Pagnamenta (24), Marie-France PORTNOÏ (12), Fabienne PRIEUR (31), Marlène RIO (32), Jean-Pierre SIFFROI (12), Jenny TAYLOR (24), Stéphanie VALENCE (33), Andrew WILKIE (14), Patrick EDERY (1), Alexandre REYMOND (3), Damien SANLAVILLE (1, 2), Caroline SCHLUTH-BOLARD (1, 2)

1. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Equipe GENDEV, CRNL, INSERM U1028, , CNRS UMR5292, UCBL1, Lyon, France
3. Centre Intégratif de Génomique, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse
4. Cellule bioinformatique, Plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
5. Equipe GENDEV, CRNL, UCBL1, , INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Lyon, France
6. Service de génétique, CHU de Brest, Brest, France
7. Unité de Diagnostic Préimplantatoire, Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Service de génétique, Equipe GAD, CHU Dijon, Dijon, France
9. Département de Génétique médicale, Cardiogénétique et myogénétique moléculaire et cellulaire, APHP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière , Paris, France
10. Département de Génétique médicale, UF de Génétique clinique, , APHP, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
11. Service de génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
12. Département de Génétique médicale, UF de Génétique chromosomique, Hôpital d'enfants Armand Trousseau, APHP, Paris, France
13. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
14. Clinical Genetics Group, MRC Weatherall Institute of Molecular Medicine, University of Oxford, Oxford, Royaume Uni
15. Service de cytogénétique et biologie cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
16. Laboratoire de cytogénétique, Service de génétique médicale, , CHU Tours, Tours, France
17. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
18. IGDR, CNRS UMR 6290, Université de Rennes 1, Rennes, France
19. Centre de génétique, Hôpital d'enfants, CHU de Dijon, Dijon, France
20. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle et prénatale, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
21. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, APHP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
22. Service de génétique médicale, CHU de Tours, Tours, France
23. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France
24. Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, Oxford, Royaume Uni
25. Service de génétique, CH Métropole Savoie, Chambéry, France
26. Département de génétique, Laboratoire CERBA, Saint Ouen l'Aumône, France
27. Service de génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France
28. Institute of Neurology, University College London, London, Royaume Uni
29. Service de génétique clinique et oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
30. Service de cytogénétique, Hôpital Henri Mondor, Creteil, France
31. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU Hôpital Nord, Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
32. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
33. Service de Neurologie Pédiatrique, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Mots clefs : chromoanagenesis, chromothripsis, WGS, remaniement chromosomique, NGS

Résumé :

L'essor des analyses pangénomiques a permis de découvrir des réarrangements complexes résultant d'événements catastrophiques appelés *chromoanagenesis*. Bien que fréquents dans certaines tumeurs, ces remaniements sont encore exceptionnels dans des échantillons constitutionnels. Nous avons regroupé 20 cas de la littérature avec 20 nouveaux cas pour identifier les mécanismes biologiques sous-jacents. Notre analyse confirme le regroupement quasi exclusif des points de cassure sur un seul chromosome dans une majorité de cas. Si nous distinguons 3 types principaux de remaniements proches des définitions existantes de la littérature de chromothripsis, chromoplexie, chromoanasythesis, ces derniers présentent des caractéristiques encore non décrites. Il existe, par exemple, une forte tendance des gains du nombre de copies apparus à être regroupés et insérés ensemble.

Dans un second temps, nous avons étudié la distribution des 1034 points de cassure de ces 40 remaniements, celle des chromoanagenesis tumoraux (n = 13,310 points de cassure) et celle des remaniements simples (n = 468 points de cassure) et l'avons comparé à une répartition aléatoire (hypothèse nulle). Pour les 3 groupes de points de cassure (chromoanagenesis constitutionnels, tumoraux et remaniements simples), nous observons un enrichissement des points de cassure dans les régions se répliquant tardivement au cours du cycle cellulaire. La distribution des points de cassure des remaniements complexes apparaît proche d'une répartition aléatoire (hypothèse nulle) s'agissant des autres critères analysés (Topologically-Associated Domains (TADs), Lamina-Associated Domains (LADs), éléments répétés, marquage en bandes G, compartiment A/B, distance aux origines de réplication, sites de fragilité chromosomique). En revanche, pour les remaniements simples, il existe une déplétion

significative en points de cassure dans les LADs. Ce dernier résultat infirme l'hypothèse d'un continuum entre remaniements simples et complexes.

La probabilité accrue de cassure dans les régions à réplication tardive appuie l'hypothèse d'une condensation prématurée d'un chromosome dans un micronoyau. Cette séquestration explique le regroupement des cassures sur un seul chromosome et est le lieu d'une réplication retardée. La condensation hâtive entraîne le décrochage des fourches de réplication encore actives dans les régions les plus en retard. Si les fourches raccrochent d'autres fragments d'ADN, le chromosome reconstruit portera des cicatrices de ces mécanismes réplicatifs. Si les fourches se décrochent complètement et font apparaître de véritables cassures double brin, les fragments seront raboutés le mieux possible.

Nos résultats suggèrent une origine commune des remaniements complexes.

Pièce jointe : Assises_chromothripsis-v3.docx

CO08 : Apport du génome trio pour le diagnostic de la déficience intellectuelle**Auteurs :**

Benjamin Cogné (1, 2), Thomas Besnard (1), Sébastien Küry (1, 2), Marie-Laure Vuillaume (3, 4), Annick Toutain (3, 4), Dominique Bonneau (5, 6), Estelle Colin (5, 6), Laurent Pasquier (7, 8), Wilfried Carré (9, 8), Christèle Dubourg (9, 8), Sylvie Odent (7, 8), Brigitte Gilbert-Dussardier (10, 11), Sandra Mercier (1, 2), Jean-François Deleuze (12), Richard Redon (2), Bertrand Isidor (1, 2), Stéphane Béziau (1, 2)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. l'Institut du Thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France
3. UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France
4. UMR U930, INSERM, Tours, France
5. Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, France
6. Equipe MitovascLab, Institut MitoVasc, UMR CNRS 6015, INSERM U1083, Université d'Angers, Angers, France
7. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
8. CNRS UMR 6290, Université de Rennes, Rennes, France
9. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU de Rennes, Rennes, France
10. Service de génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
11. EA3808, Université de Poitiers, Poitiers, France
12. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, Evry, France

Mots clefs : déficience intellectuelle, génome, exome, variants structuraux

Résumé :

Le séquençage de l'exome pour le diagnostic de la déficience intellectuelle (DI) se généralise et le plan « France médecine génomique 2025» promet un accès à court terme au séquençage du génome entier. L'apport du génome reste cependant peu étudié par rapport à l'exome dans cette indication. Dans un cadre de recherche, nous avons obtenu un financement par la Fondation Maladies Rares permettant le séquençage du génome en trio de 20 patients présentant une DI modérée à sévère, souvent syndromique. Ils ont été recrutés après une analyse non concluante par exome trio au sein de l'étude HUGODIMS (recrutement du centre de référence CLAD-Ouest). Les SNVs et INDELs ont été analysés avec GATK, les variants structuraux (SVs) avec MANTA, qui utilise les informations portées par les « split-reads » et « paired-reads » pour la détection de tous les types de SV, et les CNVs avec cn.MOPS (intervalles de 500pb).

L'analyse des variants dans la séquence codante a identifié (1) deux patients avec des variants faux-sens *de novo* dans le gène *H3F3A*, un gène en cours de publication, dans un exon non couvert par exome, (2) un variant faux-sens *de novo* dans le gène *TFE3*, récemment publié, et (3) un variant stop pathogène dans un gène en cours de publication hérité d'une mère hétérozygote et asymptomatique. L'analyse des SVs par MANTA a montré : (1) une translocation t(1;6)(p21.1;q21) équilibrée *de novo* avec des points de cassure intergéniques, (2) une inversion *de novo* de 2,1Mb impliquant le gène *FOXP1*, (3) une inversion de 65Mb *de novo* sur le bras long du chromosome 5 avec des points de cassures intergéniques, et (4) une délétion de 1,8kb *de novo* emportant un exon du gène *CXorf56* sur le chromosome X chez une fille. L'analyse complémentaire des CNVs par cn.MOPS a mis en évidence une délétion de 22kb à l'état homozygote dans le gène *RSPRY1*, qui n'a pas été identifiée par MANTA à cause d'un mauvais alignement au niveau des points de cassures. L'étude des variants dans une hypothèse autosomique récessive a mis en évidence deux variants pathogènes dans le gène *HACE1* et trois potentiels nouveaux gènes de DI, dont *INTS11* pour lequel une cohorte de patients est en cours de constitution.

Au total, les résultats préliminaires de cette cohorte encore en cours d'analyse montrent qu'un diagnostic probable peut être établi chez 10/20 patients, comprenant 5 SVs dont 2 visibles par une analyse du caryotype. De nouveaux gènes candidats ont pu être identifiés en récessif, un mode de transmission qui est peut-être sous-estimé par les études en trio. A noter que chez un patient sans candidat, un variant pathogène dans *NIPBL* a été identifié en mosaïque à 11% dans la salive suite à une analyse par panel après réévaluation du phénotype. Bien qu'aucun événement susceptible d'être pathogène dans les régions non-codantes n'ait été identifié pour le moment, le génome en trio présente un rendement supérieur à l'exome grâce à la détection des SVs et une meilleure couverture des régions codantes.

Pièce jointe : abstract-assises2020_BC.doc

CO09 : Le syndrome MADaM, une nouvelle dysplasie acromandibulaire due à l'absence de la protéine MTX2, relie le dysfonctionnement mitochondrial au noyau**Auteurs :**

Sahar Elouej (1), Karim Harhour (1), Coraline Airault (1), Morgane Lema (2), Geneviève Baujat (3), Sheela Nampoothiri (4), Hülya Kayserili (5), Nihal Al Menabawy (6), Laila Selim (6), Robert Rubinsztajn (7), Chayki Charar (8), Catherine Bartoli (1), Agnès Rötig (9), Jérémie Mortreux (1), Peter Bauer (10), Catarina Pereira (10), Nathalie Escande-Beillard (11), Antoine Muchir (12), Lisa Martino (13), Yosef Gruenbaum (8), SongHua Lee (13), Philippe Manivet (13, 14), Guy Lenaers (2), Bruno Reversade (11), Nicolas Lévy (1, 15), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1, 15)

1. INSERM U1251 - Marseille Medical Genetics, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. MitoLab, CNRS UMR 6015, INSERM U1083, Université d'Angers, CHU d'Angers, Angers, France
3. Department of Medical Genetics, INSERM UMR 1163, IMAGINE Institute, Necker Enfants Malades Hospital, Paris, France
4. Department of Pediatric Genetics, Amrita Institute of Medical Sciences & Research Centre, Kerala, Inde
5. Medical Genetics Department, Koç university, School of Medicine (KUSoM) , Istanbul, Turquie
6. Neurology and metabolic division, Cairo university children hospital, Cairo, Égypte
7. Pole of Anesthesiology and Reanimation, Necker Enfants Malades Hospital, Paris, France
8. Department of Genetics, Institute of Life Sciences, Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israël
9. INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
10. CENTOGENE AG, CENTOGENE AG, Rostock, Allemagne
11. A*STAR, Institute of Medical Biology, Singapore, Singapour
12. Inserm UMRS974, Center of Research in Myology, Institut de Myologie, Sorbonne Université, G.H. Pitie-Salpetriere, , Paris, France
13. CeleScreen SAS, CeleScreen SAS, Paris, France
14. APHP, Biobank Lariboisière BB-0033-00064, Hôpital Lariboisière, Paris, France
15. Department of Medical Genetics, La Timone Children's hospital, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

Mots clefs : MTX2, metaxin, mitochondrie, vieillissement, noyau, laminopathie, dysplasie acromandibulaire

Résumé :

Les syndromes « dyplasie acromandibulaire » (MAD) connus sont dus principalement à des mutations récessives des gènes *LMNA*, *ZMPSTE24* ou *BANF1* et font partie du spectre phénotypique des laminopathies progéroides. Ils sont caractérisés par des anomalies majeures de la morphologie et des fonctions nucléaires.

Nous rapportons l'identification de quatre mutations nulles homozygotes différentes du gène *MTX2*, codant pour la METAXINE-2, chez six enfants atteints d'une dysplasie acromandibulaire sévère, appelée MADaM syndrome (Mandibuloacral Dysplasia associated to *MTX2*).

La METAXINE-2 est une protéine ubiquitaire de la membrane mitochondriale externe (MME) impliquée dans l'import de protéines à topologie complexe dans la MME et dans l'induction de l'apoptose en réponse au TNF-alpha. Ces patients, issus de familles consanguines d'origines géographiques différentes, présentent une atteinte clinique homogène et très proche des laminopathies progéroides comme les MAD ou la Progeria de Hutchinson-Gilford (HGPS), incluant un retard de croissance post-natal, une lipodystrophie, une dysmorphie faciale typique avec micrognathie, des oreilles larges bas implantées, une accumulation de tissu adipeux au niveau des joues, un nez fin et long, des résorptions osseuses distales, des calcifications artérielles, une hypertension extrêmement sévère et une glomérulosclérose.

Les western blots réalisés sur les fibroblastes de deux patients ont montré l'absence totale de la protéine METAXINE-2, accompagnée par l'absence de son partenaire METAXINE-1, également localisé dans la MME.

Les fibroblastes présentaient par ailleurs une fragmentation majeure du réseau mitochondrial, probablement due à une augmentation des processus de fission mitochondriale, une réduction de composants de la chaîne respiratoire similaire à celle observée dans le HGPS et une réduction des capacités de phosphorylation oxydative. De plus, les fibroblastes des patients résistaient à l'induction de l'apoptose par le TNF-alpha ou la staurosporine, conduisant, comme probables voies alternatives visant à « neutraliser » les cellules altérées dans l'organisme, à une augmentation de la sénescence, de la mitophagie et des temps de dédoublement cellulaire. De façon intéressante, des anomalies morphologiques nucléaires majeures ont été observées à la fois dans les fibroblastes des patients déplétés en METAXINE-2 et chez *C. elegans* sous-exprimant l'orthologue *mtx-2* par siRNA. Nous rapportons donc

l'identification du syndrome MADaM, révélant une relation inattendue entre la composition / fonction mitochondriale et la morphologie nucléaire, établissant un lien physiopathologique avec les laminopathies progéroides connues et sous-tendant probablement les caractéristiques cliniques communes observées. Ces travaux sont en cours de peer-review dans *Nature Communications*.

Pièce jointe : abstract Elouej et al.-MTX2 mutations.docx

CO10 : Pathologies ultra-rares diagnostiquées par séquençage haut débit d'exome sur une série de 334 patients dans le domaine des anomalies du développement au CHU de Rennes**Auteurs :**

Paul Rollier (1, 2), Christele Dubourg (2, 3), Wilfrid Carré (2), Véronique David (2, 3), Chloé Quelin (1), Mélanie Fradin (1), Laurent Pasquier (1, 4), Sylvie Odent (1, 3), Nolwenn Jean-Marçais (5)

1. Service de Génétique Médicale, CHU RENNES, RENNES, France
2. Laboratoire de Génétique moléculaire et génomique, CHU RENNES, RENNES, France
3. CNRS UMR 6290 (IGDR), Université de Rennes 1, RENNES, France
4. INSERM 1414, CIC pédiatrique, RENNES, France
5. Centre de référence anomalies du développement-CLAD OUEST, CHU RENNES, RENNES, France

Mots clefs : Anomalies du développement; déficience intellectuelle; pathologies ultra-rares; séquençage haut débit d'exome;

Résumé :

L'avènement des techniques de séquençage haut débit (SHD) a permis d'augmenter rapidement le rendement diagnostique chez les patients porteurs d'anomalies du développement (AD) avec ou sans déficience intellectuelle (DI), de réduire l'errance diagnostique, d'étendre le phénotype de pathologies déjà connues, de rapporter de nombreux nouveaux gènes responsables d'AD avec ou sans DI associée. Parallèlement, le taux diagnostique de pathologies ultra-rares (prévalence: $p < 1/50.000$) a lui aussi augmenté. Parmi ces dernières, la proportion de pathologies de description récente avec peu de recul sur l'évolution et avec de petites cohortes descriptives apparaît importante. Méthodes: nous avons repris 334 résultats de SHD d'exome réalisés dans le cadre diagnostique chez des patients porteurs d'AD avec ou sans DI sans orientation clinique précise entre 2017 et 2018 par le laboratoire de génétique moléculaire et de génomique du CHU de Rennes et nous avons recherché les diagnostics qui relevaient des pathologies ultra-rares ainsi que les sources d'information disponibles pour ces patients. Les échantillons d'ADN ont été analysés selon les étapes suivantes: enrichissement par capture de séquence SureSelect XT Focused Exome (Agilent Technologies), séquençage haut débit sur plateforme HiSeq ou NextSeq (Illumina), analyse bio-informatique et interprétation réalisées avec les outils développés au laboratoire, incluant les logiciels BWA MEM pour l'alignement (hg19), GATK et FreeBayes pour le «variant calling», ANNOVAR et ALAMUT (Interactive Biosoftware) pour l'annotation. Résultats: 84,4 % des analyses ont été réalisées en trio. Sur les 334 analyses d'exome, la mise en évidence d'un variant de classe 4 ou 5 selon la classification ACMG dans 66 gènes différents a permis de rendre un diagnostic certain pour 88 cas (26.35%). Les bases moléculaires de 37 de ces 66 pathologies (56%) ont été décrites après 2010 dont 7 après 2015 (10,6%). Nous avons pu retrouver des données de prévalence disponibles pour 44 de ces diagnostics: 88,6% sont classés comme ultra-rares et pour 36,4% moins de 20 cas sont décrits dans la littérature. Nous avons également recherché l'existence d'informations accessibles aux familles concernant la pathologie (association de patients, ressources web) pour chaque diagnostic. Discussion/ conclusion: L'ensemble de ces données souligne l'importance du taux de pathologies ultra-rares diagnostiquées grâce au SHD dans le domaine des AD et le peu d'informations disponibles pour les patients et leurs familles concernant l'évolution et le parcours de soin. Un accompagnement global et un suivi médical régulier de ces patients apparaît important avec une veille bibliographique et une mise à jour régulière des connaissances afin de limiter la sensation d'isolement ressentie par les familles.

CO11 : Etude phénotypique du syndrome d'Aarskog lié à des mutations de FGD1, à partir d'une série de 106 patients : recommandations pour le diagnostic et la prise en charge**Auteurs :**

Médéric JEANNE (1, 2), Nathalie RONCE (3), Geneviève BAUJAT (4), Sylvain BRETON (5), Stéphanie ARPIN (3), Florence PETIT (6), Clémence VANLERBERGHE (6), Anne DIEUX (6), Sylvie MANOUVRIER (7), Catherine VINCENT DELORME (6), Philippe KHAU VAN KIEN (8), Julien VAN GILS (9), Chloé QUELIN (10), Laurent PASQUIER (10), Sylvie ODET (10), Florence DEMURGER (11), Fanny LAFFARGUE (12), Christine FRANCCANNET (12), Dominique MARTIN (13), Alexandra AFENJAR (14), Sandra WHALEN (14), Alain VERLOES (15), Yline CAPRI (15), Andrée DELAHAYE (15), Julie PLAISANCIE (16), Philippe LABRUNE (17), Anne DESTREE (18), Isabelle MAYSTADT (18), Viorica CIORNA-MONFERRATO (19), Bertrand ISIDOR (20), Marie VINCENT (20), Albert DAVID (20), Nolwen JEAN MARCAIS (21), Sophie NAMBOT (21), Elise SCHAEFER (22), Salima EL CHEHADEH (22), James LESPINASSE (23), Patrick COLLIGNON (24), Tiffany BUSA (25), Nicole PHILIP (25), Marjolaine WILLEMS (26), Marc PLANES (27), Oliver VANAKKER (28), Laetitia LAMBERT (29), Bruno LEHEUP (29), Michèle MATHIEU DRAMARD (30), Gilles MORIN (30), Klaus DIETRICH (31), Emmanuelle GINGLINGER (32), Allan BAYAT (33), Meena BALASUBRAMANIAN (34), Benjamin DAURIAT (35), Damien HAYE (36), Jeanne AMIEL (4), Marlène RIO (4), Valérie CORMIER-DAIRE (4), Annick TOUTAIN (1, 37)

1. Service de Génétique, CHU de Tours, TOURS, France
2. Unité mixte de recherche INSERM 1253, Université François Rabelais de Tours, TOURS, France
3. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
4. Service de génétique clinique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Radiologie pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Service de Génétique, Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU de Lille, Lille, France
7. Service de Génétique, Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU de Lille, Lille, France
8. Service de Génétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
9. Service de Génétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
10. Service de Génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
11. Service de Génétique, CH de Vannes, Vannes, France
12. Service de Génétique, CHU de Clermont Ferrand, Clermont Ferrand, France
13. Service de Génétique, CH du Mans, Le Mans, France
14. Unité de Génétique Clinique, CHU Trousseau, Paris, France
15. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
16. Service de génétique médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
17. Service de Pédiatrie, Hôpital Antoine Beclère, Paris, France
18. Service de Génétique, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique
19. Service de Génétique, CHR de Metz-Thionville, Metz, France
20. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
21. Centre de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
22. Service de génétique médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
23. Service de génétique médicale, CH de Chambéry, Chambéry, France
24. Service de génétique médicale, CH de Toulon, Toulon, France
25. Département de Génétique Médicale, CHU de Marseille, Marseille, France
26. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
27. Service de pédiatrie et génétique médicale, CHU de Brest, Brest, France
28. Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgique
29. Service de Génétique, CHU de Nancy, Nancy, France
30. Service de Génétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
31. Département de Génétique et Procréation, CHU de Grenoble, Grenoble, France
32. Service de Génétique, GHR Mulhouse Sud Alsace, Mulhouse, France
33. Department of Pediatrics, University Hospital of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
34. Sheffield clinical genetics service, Sheffield children NHS foundation trust, Sheffield, Royaume Uni
35. Service de cytogénétique et génétique médicale, CHU de Limoges, Limoges, France
36. Service de génétique médicale, CHU de Nice, Nice, France
37. Unité mixte de recherche INSERM 930, Université François Rabelais de Tours, TOURS, France

Mots clefs : Aarskog, dysplasie facio-génitale, FGD1

Résumé :

Le syndrome d'Aarskog (SA), aussi appelé dysplasie facio-génitale, est un syndrome lié à l'X, rapporté pour la première fois par Aarskog en 1970. Il est caractérisé par une dysmorphie faciale reconnaissable, une petite taille modérée, des anomalies des extrémités ainsi que des anomalies génitales, notamment du scrotum. Le SA est causé par des mutations du gène *FGD1*, situé sur en Xq11.21. Ce gène code une protéine échangeuse de guanine (GEF) qui active spécifiquement la Rho-GTPase CDC42. Cette voie intervient notamment dans le développement osseux. Les connaissances du phénotype du SA sont essentiellement basées sur la description de patients dont le diagnostic n'a pas été confirmé par l'analyse du gène *FGD1*. Ainsi, certains aspects du phénotype sont encore peu connus. En particulier, la description du phénotype neurodéveloppemental est extrêmement hétérogène dans la littérature médicale.

Afin de redéfinir le spectre phénotypique du SA et afin de proposer des critères diagnostiques, nous avons analysé les caractéristiques cliniques

d'une grande série de patients avec une mutation identifiée dans *FGD1*. Afin de recueillir ces informations, un questionnaire établi à partir des données de la littérature a été envoyé aux cliniciens référents. Des photos et des radiographies osseuses étaient également demandées. Les éléments morphologiques ont été revus par des dysmorphologistes expérimentés et les radiographies osseuses ont été relues par l'équipe du centre de référence français des maladies osseuses constitutionnelles. Nous présentons les résultats de l'analyse clinique, radiologique et moléculaire de 106 patients garçons. Nos résultats apportent des informations sur l'histoire naturelle du SA et sur la prévalence des signes cliniques. Nous apportons également la description de nouveaux signes cliniques et radiologiques associés au SA.

Enfin, au regard des stratégies actuelles de séquençage à haut débit et l'essor du rétro-phénotypage, nous proposons des critères diagnostiques permettant de justifier l'étude moléculaire de *FGD1* devant une suspicion clinique et permettant également l'interprétation des variants de *FGD1* issus du séquençage haut débit. Nous proposons également des recommandations pour la prise en charge.

CO12 : Rapidomique : Séquençage du génome en 1ère intention chez les nouveau-nés hospitalisés aux soins intensifs.**Auteurs :**

Audrey Méleu (1), Julie Gauthier (1), Fadi Hamdan (1), Guylaine D'Amours (1), Catalina Maftei (1), Jean-François Soucy (1), Jacques L Michaud (1), Anne-Marie Laberge (1)

1. Service de génétique médicale, CHU Sainte Justine, Montréal, Canada

Mots clefs : Séquençage du génome, soins intensifs

Résumé :

Introduction: Les maladies génétiques rares représentent une cause fréquente d'admission aux soins intensifs néonataux (SINN). Établir un diagnostic de maladies rares chez les nouveau-nés peut être difficile en raison de leurs présentations souvent atypiques ou peu spécifiques. Or, des études récentes suggèrent qu'un diagnostic étiologique posé rapidement après l'admission aux SINN affecte significativement la prise en charge. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact du séquençage entier du génome en mode rapide sur le rendement diagnostique et la prise en charge des enfants admis aux SINN.

Méthodes: Un séquençage du génome entier en trio a été réalisé chez les nouveau-nés admis aux SINN du CHU Sainte-Justine (entre les mois de mars et septembre 2019) en raison d'une suspicion de maladies rares. Les génomes ont été séquencés sur un système NovaSeq (Illumina) et leur analyses bio-informatiques ont été réalisées sur la pipeline Dragen. L'impact du résultat sur la prise en charge de l'enfant a été évalué pour toute la période de l'hospitalisation.

Résultats: Dix-huit patients ont été inclus dans l'étude, 2 pour une encéphalopathie épileptique, 5 pour une cardiopathie, 10 pour un syndrome poly-malformatif et 1 pour un syndrome de Cushing congénital. Un résultat préliminaire a été rendu en 1 semaine pour tous les cas où des variations pathogéniques ont été identifiées. La durée médiane entre l'inclusion et le rendu du résultat a été de 19 jours (quartile 1 : 16, quartile 3 : 32). Sept diagnostics ont été posés par le séquençage du génome (38,9%). Parmi ceux-ci, 3 diagnostics étaient inattendus et auraient été manqués par une approche de séquençage de panels de gènes parce que le médecin généticien ne les avaient pas initialement évoqués. Une modification de la prise en charge ou du conseil familial suite au rendu du résultat a été rapportée chez 6 enfants incluant une modification du traitement pharmacologique chez 2 enfants, une orientation vers les soins palliatifs chez 2 patients, un arrêt du suivi en génétique pour 1 enfant (chez qui le séquençage du génome était négatif) et un dépistage des apparentés chez 2 patients.

Conclusion: Le séquençage du génome a permis de poser un diagnostic chez 7/18 patients en moins d'un mois et a impacté leur prise en charge dans le tiers des cas. Le recrutement de patients additionnels est actuellement toujours en cours, avec un objectif de recruter 100 trios.

CS001 : Vingt ans de diagnostic préimplantatoire (DPI) à Strasbourg

Auteurs :

Philippe GOSSET (1), Claire KASTNER (1), Emmanuelle KIEFFER (1), Julia LAUER-ZILLHARDT (1), Nadia BIHEMI (1), Sarah DONAT (1), Nathalie GARDES (1), Karen LEVESQUEAU (1), Jean-Christophe NICOD (1), Laetitia MOSSE (1), Elodie SCHAAF (2), Nicolas BECKER (3), Nathalie RUCH (3), Isabelle GALLAND (1), Pascale MIGNOT (2), Emilie BEAU (2), Marie-Laure KELLER (2), Claire Lise MULLER (2), Olivier PIRRELLO (2), Catherine RONGIERES (2), Catherine CELEBI (3), Isabelle LICHTBLAU (3), Céline MOUTOU (4, 5)

1. UF de diagnostic préimplantatoire des HUS, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
3. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
4. UF de Diagnostic préimplantatoire des HUS, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
5. , Université de Strasbourg, STRASBOURG, France

Mots clefs : DPI, diagnostic préimplantatoire, bilan, Strasbourg

Résumé :

Le diagnostic préimplantatoire a été autorisé par la loi de Bioéthique de 1994. Le centre de DPI de Strasbourg fait partie des cinq centres français autorisés et a débuté son activité dès 1999. Accrédité pour le DPI par PCR et par FISH depuis 2018, il est le seul à prendre en charge les couples en cas de risque viral, hépatites et HIV, et réalise la plupart des DPI pour mutation de novo. Notre expertise permet de prendre en charge la quasi-totalité des pathologies retenues par le centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal local.

Nous présentons ici un bilan de vingt ans d'expérience.

Jusqu'en octobre 2019, 2160 dossiers ont été ouverts à Strasbourg : 1471 pour pathologies monogéniques et 689 pour anomalies du caryotype. 15% des dossiers ont été refusés surtout pour des difficultés de mise en œuvre de la FIV, 18% des couples ont abandonné leur demande. Nous avons développé des tests par PCR pour plus de 120 pathologies monogéniques et mis au point des diagnostics par FISH pour près de 450 couples. Nous recensons 2274 tentatives pour 984 couples, avec une activité annuelle croissante jusqu'en 2016, puis stabilisée autour de 200-230 cycles. Plus de 500 enfants sont nés grâce à notre activité.

Le DPI a bénéficié des évolutions techniques de l'assistance médicale à la procréation. Depuis 2006 la politique de transfert électif d'embryons a permis de limiter le risque de grossesse multiple. Depuis 2012, la vitrification embryonnaire facilite l'organisation du laboratoire et augmente les chances globales de succès puisque le taux moyen de grossesse clinique par transfert est de 31% que les embryons soient frais ou vitrifiés. Le taux de grossesse par transfert reste fortement corrélé à l'âge de la femme au moment de la tentative : 32% avant 38 ans, 25% entre 38 et 40 ans et 10% après 40 ans. La culture embryonnaire prolongée et la biopsie au stade blastocyste permettent désormais de disposer de plus de matériel génétique et de limiter les risques d'erreur de diagnostic.

Les techniques d'analyse à haut débit ont amélioré le diagnostic génétique, ce qui conduit inévitablement à demander un DPI pour certains couples jusqu'alors en errance de diagnostic. Il en résulte une augmentation de demandes pour des pathologies confidentielles nécessitant des mises au point spécifiques et entraînant un allongement des délais de prise en charge. L'amplification préalable du génome entier à partir de plusieurs cellules embryonnaires est alors utile pour simplifier le développement ou pour des DPI complexes.

La communauté internationale migre progressivement vers les techniques d'analyse à haut débit (CGHarray, karyomapping, NGS), difficiles à mettre en œuvre en France du fait du cadre légal, mais qui seraient pourtant incontournables pour assurer une égalité d'accessibilité au DPI dans des délais acceptables, quelle que soit l'indication. Cela nécessiterait au préalable une adaptation de ces techniques ou une modification de la loi, actuellement en cours de révision.

Pièce jointe : Gosset et col_Vingt ans de DPI a Strasbourg.pdf

**CS002 : Dépistage prénatal non invasif pour les maladies rares : validation d'un test par capture et séquençage haut débit
appliqué à la déficience intellectuelle**

Auteurs :

Sacha BODENES (1), Pauline FRANCOIS (1), Lydia IKHLEF (1), Claire MIRY (2), Cecile MAGER (2), Anne Sophie WEINGERTNER (2), Fernando GUERRA (2), Nicolas SANANES (3), Samuel NICAISE (1), Vincent ZILLIOX (1), Jamel CHELLY (4), Amelie PITON (4), Jean MULLER (4), Nicolas MEYER (5), Romain FAVRE (3), Bénédicte GERARD (6)

1. Laboratoire de génétique , Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de gynécologie -CMCO, Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Service de gynécologie -CMCO, Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, Strasbourg, France
5. Groupe Méthodes en Recherche Clinique, Service de Santé Publique & iCUBE UMR 7357 67412 Illkirch Cedex, Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, strasbourg, France

Mots clefs : DPNI; Déficience intellectuelle

Résumé :

L'accès aux données génétiques fœtales via le plasma maternel permet d'envisager une approche non invasive notamment dans les cas où le risque d'atteinte fœtale est faible. Dans 70 % des cas de déficience intellectuelle, les mutations identifiées sont de novo. Le risque de récurrence est donc faible pour les nouvelles grossesses mais très fréquemment les couples demandent un diagnostic prénatal invasif devant le risque de mosaïque parentale. Pour ces familles, nous avons développé une approche universelle permettant la recherche de la mutation familiale identifiée directement sur le plasma de la mère, en réalisant une approche par capture de notre panel des 500 gènes de déficience intellectuelle suivie de séquençage haut débit. La méthode de capture a été adaptée aux faibles quantités d'ADN plasmatique pour obtenir une profondeur moyenne de 500 X et le pipeline bioinformatique a été adapté à la détection de variation en mosaïque faible, la variation recherchée représentant environ 5 % des reads.

Nous avons réalisé une validation de méthode par l'analyse de 18 trios (mère, fœtus, plasma maternel). Les variations, sans lien avec la DI mais spécifiques du fœtus et non présentes chez sa mère, ont été extraites bioinformatiquement ; ces positions ont ensuite été étudiées en terme de profondeur et de nombre reads mutés. Les analyses ont montré que, suite aux adaptations techniques réalisées, la profondeur moyenne obtenue à partir de notre capture de 500 gènes est de 649X. Nous avons également analysé la sensibilité analytique à partir d'un set de 6089 variations fœtales d'origine paternelle, et donc que l'on devait retrouver à faible fraction allélique dans le plasma maternel. La détection a été considérée comme positive à partir d'un read porteur de la variation attendue. Cette sensibilité de détection est de 98,54%. La spécificité analytique a été approchée en tenant compte du bruit de fond de la méthode et est estimée à 99,75 % dans le système analytique utilisé (Nextseq550 et capture Roche).

L'utilisation d'une approche non invasive par capture et analyse en séquençage haut débit est donc tout à fait envisageable dans le cadre de la déficience intellectuelle, pour les familles où une mutation de novo est identifiée. Cette approche permettra de rendre un diagnostic négatif avec une bonne valeur prédictive négative (98,55%), même si celle-ci restera inférieure à un diagnostic prénatal invasif qui permet un diagnostic de certitude. Cette validation de méthode a permis de définir les modalités d'analyse à envisager en routine (vérification préalable de la bonne couverture de la variation sur le cas index avec la capture, analyse en trio père, mère et plasma maternel au moment du prénatal) les contrôles internes à valider pour un rendu diagnostic (quantité d'ADN plasmatique initiale > 15 ng pour éviter l'allèle drop out, fraction fœtale observée > 5 % au moment de l'analyse et couverture observée à la position de la variation pathogène > 300 X).

CS003 : Intégration du séquençage d'exome dans le diagnostic prénatal des anomalies fœtales en routine : pièges, succès et discussion des bonnes pratiques

Auteurs :

Yvan Herenger (1, 2), Tobias Bethge (2), Fabian Chablais (2), Kim Fricker (1), Demian Mayer (2, 3), Walter Blum (2), Franco Bottini (3), Hubert Traber (2), Sharareh Moshir (3), Roland Spiegel (1, 2)

1. Institut de Génétique Médicale, Genetica, Zürich, Suisse
2. Département de Biologie Moléculaire, Genetica, Zürich, Suisse
3. Département de Cytogénétique, Genetica, Zürich, Suisse

Mots clefs : séquençage haut débit, exome, trio, diagnostic prénatal, syndromologie, clarté nucale

Résumé :

Introduction : Les anomalies structurales fœtales concernent 2 à 3% des grossesses et sont associées à une forte mortalité et morbidité périnatale. Leurs étiologies génétiques constituent un enjeu diagnostique tant pour la connaissance du pronostic fœtal que pour le conseil génétique parental. Après exclusion des anomalies cytogénétiques fœtales, l'utilisation du séquençage haut débit d'exome dans le cadre du diagnostic prénatal (DPN) apporte un service médical rendu significatif. Le rendement diagnostique variable des études publiées (6-80%) reflète cependant le manque de consensus sur son usage. Nous évaluons l'efficacité du séquençage d'exome fœtal intégré au DPN de routine et discutons les enjeux diagnostiques et éthiques associés.

Méthode : Les couples ont été recrutés de façon prospective entre novembre 2018 et octobre 2019 (11 mois). Les critères d'inclusion étaient la survenue d'une anomalie fœtale (élévation de la clarté nucale isolée ou associée à d'autres anomalies, existence d'une ou plusieurs malformations) et l'absence de diagnostic cytogénétique (caryotype conventionnel et APCA). Une consultation de génétique pré-test et post-test de rendu de résultat étaient proposées aux couples. L'analyse en trio de l'exome fœtal était conduite de façon indépendante par deux spécialistes en génétique médicale et le résultat était discuté en réunion clinico-biologique avant validation. L'analyse des données secondaires actionnable (liste « ACMG ») et portages hétérozygotes sains (liste « Kingsmore ») était proposée aux couples.

Résultat : L'analyse d'exome fœtal a été proposée dans 95 cas et a été conduite chez 20 « trio », parmi lesquelles 17 ont accepté la consultation prétest. Les analyses étaient conduites entre 15 et 24 SA. La médiane du délai de rendu du résultat (hors données secondaires) était de 16,9 jours [7 – 33] après la consultation pré-test. 4 couples ont accepté la consultation post-test. 11 variants ont été identifiés dans autant de trio (55%), parmi lesquels 6 dans les gènes *POMT1*, *RAPSN*, *KRAS*, *ACTG2*, *COL2A1*, *COL1A1* et *CPLANE1* ont été considérés pathogènes (classe ACMG 4 ou 5) et 4 ont été classés variants de signification indéterminée bien que possiblement pathogènes (*FAT4*, *PRRX1*, *PHF8*, *MMP13*). 10 couples (50%) ont souhaité l'analyse des données secondaires.

Discussion : Le séquençage d'exome fœtal apporte une aide majeure au DPN de routine lorsqu'il est encadré au sein d'une équipe de génétique médicale. Il contribue via le partage des données secondaires au service médicale globale rendu aux patients. Les principales difficultés d'interprétation étaient liées aux phénotypes fœtaux non spécifiques où l'utilisation des critères de classification de l'ACMG doit être adaptée, ainsi qu'au manque de connaissances sur les phénotypes anténataux précoces des pathologies dont le phénotype post natal est bien décrit. Nous proposons un algorithme décisionnel intégrant le séquençage d'exome en DPN de routine permettant de minimiser ces écueils.

Pièce jointe : YvanHerenger_Assises2020_Abstract_v3.docx

CS004 : Impact de l'identification des gènes impliqués dans l'insuffisance ovarienne primitive sur le conseil génétique et la prise en charge diagnostique et thérapeutique personnalisée des patientes. A propos d'une série de 200 cas.

Auteurs :

Abdelkader Heddar (1), Sylvie Hieronimus (2), Thibaud Armand (3), Charlotte Rougier (2), Dominique Beckers (4), Mélanie Fradin (5, 6), Isabelle Cedrin-Durnerin (7), Elsa Le Boette (8), Dominique Roland (9), Linda Akloul (10), Mathilde Domin-Bernhard (11), Claire Beneteau (12), Hélène Letur (13), Laura Guyon (14), Aurore Brun (15), Axelle Cauliez (16), Sandrine Pérol (17), Anne Gompel (17), Claire Basille (18), Marie Lambert (19), Aurélia Jacquette (20), Marion Gerard (21), Stéphanie Legrand (22), Radka Stoeva (23), Laura Baudet (24), Sylvie Rossignol (25), Anais Fauconnier (26), Nathalie Guichoux (27), Anne Drutel (28), Céline Droumaguet (29), Anne-Marie Guedj (30), Bertrand Isidor (14), Brigitte Gilbert-Dussardier (15), Sandrine Frantz (31), Emmanuelle Ginglinger-Fabre (32), Aude Brac (33), Marie Laure Raffin-Sanson (34), Lionel Van Maldergem (35), Damien Sanlaville (36), Celia Ravel (37), Sylvie Odent (38), Jean-Marc Ayoubi (18), Françoise Paris (39), Samir Hamamah (40), Sophie Jonard-Catteau (41), Micheline Misrahi (1)

1. Unité de Génétique Moléculaire des Maladies Métaboliques et de la Reproduction, Hôpital Bicêtre AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre, France., Le Kremlin Bicetre, France
2. Service d'endocrinologie et médecine de la reproduction, CHU de Nice, Nice, France
3. Service de génétique, CHU de Lyon HCL, Bron, Lyon, France
4. Service d'endocrinologie pédiatrique, CHU UCL Namur, Yvoir, Belgique
5. Service de génétique clinique, CHU de Rennes, France, Rennes, France
6. Service génétique clinique, CH Saint Brieuc, Saint Brieuc, France
7. Service de Médecine de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier AP-HP, Paris, France
8. Service de génétique clinique, CH Saint Brieuc, Saint Brieuc, France
9. Centre de génétique humaine, Centre de génétique humaine, Gosselies, Belgique., Gosselies, Belgique
10. Service génétique clinique, CHU de Rennes, France, Rennes, France
11. Service de gynécologie obstétrique et reproduction humaine, CHU, Rennes., Rennes, France
12. Service de génétique médicale, CHU de Nantes., Nantes, France
13. Centre de Fertilité, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France
14. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
15. Service de génétique médicale, CHU de Poitiers, Poitiers, France
16. Service d'endocrinologie pédiatrique, CHU d'Amiens, Amiens, France
17. Unité de gynécologie endocrinienne, Hôpital Port Royal APHP, Paris, France
18. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Foch, Suresnes, Suresnes, France
19. Service de gynécologie et médecine de la reproduction, CHU de Bordeaux, France, Suresnes, France
20. Service de génétique, Hôpital d'Alençon, Alençon, France
21. Service de génétique clinique, CHU Côte de Nacre, Caen , Caen, France
22. Centre de fertilité La Rochelle, Centre de fertilité La Rochelle, La Rochelle, France
23. Laboratoire de génétique médicale et cytogénétique, CH le Mans, Le Mans, France
24. Laboratoire de génétique médicale et cytogénétique, CH le Mans, Le Mans, France
25. Service de génétique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
26. Service de PMA, CHU Nord Saint Etienne, Saint Priest en Jarez, France
27. Service de pédiatrie, Hôpital Ambroise-Paré AP-HP, Boulogne-Billancourt, France
28. Service d'endocrinologie, CHU de Limoges, Limoges, France
29. Service de médecine interne, CHU Henri Mondor, Créteil, France
30. Service d'endocrinologie et de maladie métabolique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
31. Service de gynécologie et médecine de la reproduction, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
32. Service de génétique, CH de Mulhouse, Mulhouse, France
33. Service d'endocrinologie, CHU de Lyon, Lyon, France
34. Service d'endocrinologie, Hôpital Ambroise-Paré AP-HP, Boulogne-Billancourt, France
35. Centre de génétique humaine, Université de Franche-Comté, Besançon, France
36. Service de génétique, CHU de Lyon HCL, Bron, Lyon, France
37. Laboratoire de Biologie de la Reproduction-CECOS, CHU de Rennes, France, Rennes, France
38. Service de génétique clinique, CHU de Rennes, France, Rennes, France
39. Unité d'endocrinologie pédiatrique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
40. Département de médecine de la reproduction, CHU de Montpellier, Montpellier, France
41. Service de Gynécologie Endocrinienne, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France

Mots clefs : insuffisance ovarienne primitive, panel NGS, exome, gène de méiose, gène de réparation de l'ADN, tumeur/cancer, conseil génétique, préservation de la fertilité.

Résumé :

Introduction : L'insuffisance ovarienne primitive (IOP) affecte ~1% des femmes avant 40 ans et conduit le plus souvent à une infertilité définitive. La plupart des causes sont inconnues mais des causes génétiques croissantes ont été identifiées grâce au séquençage nouvelle génération (NGS).

Patients et méthodes : 200 patientes avec IOP à caryotype 46, XX sans prémutation de *FMR1* ont été étudiées dont 145 formes sporadiques et 55 familiales. Nous avons développé un panel NGS ciblé comprenant 70 gènes impliqués dans les IOP. 30 patientes ont eu un séquençage d'exome (WES).

Résultats et discussion: Le panel NGS a retrouvé des variants pathogènes ou probablement pathogènes chez 30% des patientes. Dans 1/3 des cas, il s'agit de gènes de méiose ou de réparation de l'ADN. Le WES a permis de décrire pour la première fois le rôle de deux gènes impliqués dans la réparation d'ADN et l'anémie de Fanconi dans deux formes familiales et consanguines d'IOP isolée sans aucun antécédent de cancer. Nous avons retrouvé une mutation tronquante de *MCM8*, gène impliqué dans la recombinaison homologue, dans une forme syndromique d'IOP avec tumeurs cutanées bénignes et instabilité chromosomique. Nous avons aussi répliqué l'implication d'autres gènes de cette famille décrits dans un seul ou de rares cas comme *SPIDR*, *PSMC3IP*, *POF1B*, *MCM9*, ...

Devant des formes d'IOP apparemment isolées, nous avons identifié des mutations de gènes d'IOP syndromiques comme *PMM2* et *GALT*, impliqués dans des maladies métaboliques à révélation néonatale sévère, ou encore *FOXL2*, responsable du syndrome BPES, sans aucune anomalie ophtalmique.

Un bilan complet avec recherche de comorbidités associées a permis un conseil génétique et thérapeutique adaptés dans la famille.

L'étude génétique a pu également donner des informations sur la persistance d'une réserve ovarienne lorsqu'un défaut moléculaire d'un gène impliqué dans la croissance folliculaire a été identifié (*FSHR*, *BMP15*, *GDF9*, *AMH*, *ESR2*, *NOBOX*, *GJA4*...).

Une préservation de la fertilité chez la patiente et les porteuses asymptomatiques de la famille est alors nécessaire pour éviter l'atrésie folliculaire rapide au vu des technologies innovantes de maturation folliculaires *in vitro* en développement.

Conclusion : Notre stratégie NGS optimise le criblage moléculaire de l'IOP avec un rendement de 30% et confirme la grande hétérogénéité génétique de ce syndrome. L'étude génétique est essentielle pour 1) identifier la cause de l'IOP 2) permettre une prise en charge personnalisée et un conseil génétique adapté 3) détecter et traiter les comorbidités associées ou préserver la fertilité résiduelle en fonction du défaut génétique observé.

Le nouveau lien existant entre gènes responsables d'IOP et gènes des tumeurs/cancers rend indispensable le diagnostic génétique de toute IOP sans cause connue et modifie profondément la prise en charge de ces patientes et de leur famille. Un suivi à long terme au sein d'une équipe multidisciplinaire est nécessaire.

Pièce jointe : Heddar_al_Abstract_Assises_Génétiques_2020.docx

CS005 : Les mutations de DNAH17 causent une infertilité isolée par asthénospermie par défaut d'une dynéine axonémale spécifique du flagelle des spermatozoïdes

Auteurs :

Lucie THOMAS (1), Marjorie WHITFIELD (2), Emilie BEQUIGNON (3, 4), Alain SCHMITT (2), Laurence STOUVENEL (2), Guy MONTANTIN (5), Sylvie TISSIER (5), Philippe DUQUESNOY (1), Bruno COPIN (5), Sandra CHANTOT (5), Florence DASTOT (5), Catherine FAUCON (6), Anne Laure BARBOTIN (7), Anne LOYENS (8), Jean-Pierre SIFFROI (5, 1), Jean-François PAPON (9, 10), Estelle ESCUDIER (5, 1), Serge AMSELEM (11, 1), Valérie MITCHELL (12), Aminata TOURE (2), Marie LEGENDRE (5, 1)

1. Sorbonne Université, INSERM U933, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
2. INSERM U1016, CNRS UMR8104, Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Cochin, Paris, France
3. Université Paris-Est, Faculté de Médecine, INSERM U955, CNRS ERL7240, Hôpital Henri Mondor et Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
4. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale, Hôpital Henri Mondor et Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
5. Département de Génétique Médicale (AP-HP) , Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
6. Service d'Anatomopathologie, Laboratoire de microscopie électronique, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Paris, France
7. CHU Lille, Institut de Biologie de la Reproduction-Spermiologie-Cecos, EA4308: Gametogenesis and Gamete Quality, Université de Lille , Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
8. Jean-Pierre Aubert Research Center, Laboratory of Development and Plasticity of the Neuroendocrine Brain, INSERM U1172, Université de Lille, CHU Lille, Lille, France
9. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale (AP-HP), Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
10. Université Paris-Est, Faculté de Médecine, INSERM U955, CNRS ERL7240, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
11. Département de Génétique Médicale (AP-HP), Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
12. CHU Lille, Institut de Biologie de la Reproduction-Spermiologie-Cecos, EA4308: Gametogenesis and Gamete Quality, Université de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France

Mots clefs : DNAH17, axonème, dynéine, dyskinésie ciliaire primitive, cil, infertilité masculine, flagelle du spermatozoïde

Résumé :

Le cil mobile respiratoire et le flagelle du spermatozoïde partagent une structure axonémale conservée au cours de l'évolution. Des défauts dans leur structure et/ou leur fonction sont associés à la dyskinésie ciliaire primitive (DCP), une maladie génétique caractérisée par des infections chroniques du tractus respiratoire, pour laquelle la plupart des hommes sont infertiles en raison d'une asthénospermie.

Parmi les complexes protéiques axonémaux bien décrits, les bras de dynéines externes (BDE), via l'activité ATPasique de leurs chaînes lourdes, jouent un rôle majeur dans le battement ciliaire et flagellaire. Cependant, la contribution des différentes chaînes lourdes (type gamma : DNAH5 et DNAH8, et type beta : DNAH9, DNAH11 et DNAH17) est inconnue dans la composition des BDE issus de ces deux organelles.

L'analyse de cinq hommes avec une infertilité isolée, et présentant une perte des BDE dans le flagelle de leurs spermatozoïdes mais pas dans leurs cils respiratoires, nous a permis d'identifier des mutations bi-alléliques pathogènes de *DNAH17*.

Le phénotype d'infertilité isolée, sans atteinte respiratoire, nous a amené à comparer la composition protéique des BDE dans les axonèmes de cils et de flagelles issus d'individus contrôles. Nous avons montré que DNAH17 et DNAH8, mais pas DNAH5, DNAH9 ou DNAH11, colocalisent avec l'alpha-tubuline le long de l'axonème des spermatozoïdes, tandis que l'image opposée est observée dans les cils respiratoires, expliquant ainsi le phénotype restreint aux spermatozoïdes. Nous avons aussi démontré la perte de fonction associée aux mutations de *DNAH17* chez deux sujets sans lien de parenté, par des études d'immunomarquage sur spermatozoïdes (western blot et immunofluorescence). Ces analyses ont montré l'absence de DNAH17 et DNAH8 dans le flagelle des spermatozoïdes, contrairement à DNAH2 et DNAH11, deux composants des bras internes de dynéines, qui se sont révélés présents.

Pour conclure, cette étude démontre que les mutations de *DNAH17* sont responsables d'infertilité masculine isolée, et précise la composition des BDE dans le spermatozoïde humain et le cil respiratoire.

CS006 : Data Outside of Expected Range : Analyse d'une cause spécifique d'échec d'ADNIc et de ses conséquences obstétricales

Auteurs :

Luc DRUART (1), Laure RAYMOND (2), Francis ROUSSEAU (3), Jean François TALY (3), Sylvie TAPIA (1), Marc Nouchy (3)

1. Cytogénétique, Eurofins Biomnis, Paris, France
2. génétique moléculaire, Eurofins Biomnis, Lyon, France
3. Génétique moléculaire, Eurofins Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : ADNIc, cytogénétique, dépistage prénatal, diagnostic prénatal

Résumé :

L'analyse du caryotype fœtal est recommandée par amniocentèse en cas de double échec du dépistage de la trisomie 21 basé sur l'ADN foetal dans le sang maternel (ADNIc)(1). Avec la technique VeriSeq d'Illumina, une des causes d'échec est nommée « Data Outside of Expected Range »(DO). Elle correspond à un échec de l'analyse de données dû à une représentation anormale d'une partie du génome sur des chromosomes autres que 21, 18 et 13(2). Le logiciel VeriSeq ne précise pas quelle région chromosomique est concernée. Peu d'anomalies sont mises en évidence par le caryotype foetal et l'issue de la grossesse est le plus souvent normale mais l'identification des anomalies chromosomiques pourrait être utile au suivi obstétrical. Nous avons donc développé un logiciel spécifique à partir de plusieurs publications (3,4) pour préciser, a posteriori, qu'elles étaient les régions chromosomiques concernées. Ce logiciel recherche un déséquilibre du nombre de lectures alignées sur une fenêtre glissante de 50kb par rapport à un jeu de données de référence. Nous présentons 4 cas d'échec DO accompagnés d'anomalies fœtales ou de complications obstétricales pour lesquels des déséquilibres ont été ainsi identifiés. Dans deux cas avec RCIU et prématurité, une trisomie 16 confinée au placenta a été trouvée (5,6). Dans les deux autres cas il existait un syndrome malformatif : une anomalie compatible avec une tétrasomie 9p fœtale correspondant au syndrome polymalformatif constaté (7) et une double trisomie pour les chromosomes 3 et 7 ont été mises en évidence. Si la trisomie 3 est une anomalie rare (8), la trisomie 7 est plus fréquemment découverte en cours de grossesse et parfois associée à une autre trisomie (9). Les deux trisomies peuvent expliquer le signe majeur qui était une microcéphalie. **1.** JORF n°0294 du 20 décembre 2018 **2.** Guide du logiciel VeriSeq NIPT Solution – Illumina. <https://support.illumina.com> **3.** C. Zhao *et al.*, « Detection of Fetal Subchromosomal Abnormalities by Sequencing Circulating Cell-Free DNA from Maternal Plasma », *Clin. Chem.*, vol. 61, n° 4, p. 608-616, avr. 2015. **4.** R. Straver, *et al.*, « WISECONDOR: detection of fetal aberrations from shallow sequencing maternal plasma based on a within-sample comparison scheme », *Nucleic Acids Res.*, vol. 42, n° 5, p. e31-e31, mars 2014. **5.** Toutain Jet *al.* (2018) Confined placental mosaicism revisited: Impact on pregnancy characteristics and outcome. *PLoS One*. 2018; 13(4): e0195905. **6.** Grati FR *et al.* Outcomes in pregnancies with a confined placental mosaicism and implications for prenatal screening using cell-free DNA. *Genetics in Medicine* (2019)) **7.** S Dhandha, *et al.* Three Cases of Tetrasomy 9p American Journal of Medical Genetics 2002 113(4):375-80 **8.** H. Kapaya , *et al.* Trisomy 3 confined placental mosaicism: A management dilemma. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2012 – 32(7):696-98 **9.** Y Qi ,*et al.* The significance of trisomy 7 mosaicism in non invasive prenatal screening. *Hum Genomics* 201913(1):18

Pièce jointe : Data Outside of Expected Range.docx

CS07 : Discrimination fonctionnelle, basée sur la tolérance à la méthylation, des variants de signification inconnue des gènes MLH1 et MSH2 : vers une utilisation en clinique pour le diagnostic du syndrome de Lynch**Auteurs :**

Delphine Bouvet (1, 2), Sahra Bodo (3), Annie MUNIER (1, 4), Erell Guillem (5, 1), romane bertrand (1, 2), Paris Elodie (5), Patrick Benusiglio (5, 1), alex duval (1, 6), Florence Coulet (5, 1), Martine MULERIS (3, 2)

1. Inserm UMR938, Centre de Recherche Saint-Antoine, Paris, France
2. , Sorbonne Université, Paris, France
3. Inserm UMR938, Centre de Recherche Saint-Antoine, paris, France
4. Plateforme de Cytométrie en Flux CISA, Sorbonne Université, Paris, France
5. UF d'Oncogénétique, Département de génétique, AP-HP, Paris, France
6. biochimie, biologie moléculaire, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : syndrome de Lynch, variant de signification inconnue

Résumé :

Le syndrome de Lynch (LS) est la première cause de forme familiale de cancer colorectal. Il est consécutif à des mutations germinales hétérozygotes affectant les gènes du système MMR (*MisMatch Repair*), *MLH1* et *MSH2* en priorité. Le diagnostic de LS repose sur la détection par séquençage de variants des gènes MMR dans l'ADN constitutionnel et l'interprétation du caractère pathogène ou bénin de tels variants. Dans 30% des cas environ, le diagnostic de LS ne peut être posé ou exclu formellement (notion de variants de signification inconnue, ou VSI) laissant ainsi les patients dans l'errance thérapeutique. Pour aider au diagnostic, un test fonctionnel simple permettant de discriminer le caractère pathogène ou non de VSI *MLH1* et *MSH2* a été récemment mis au point au laboratoire (Bouvet *et al.*, *Gastroenterology* 2019, 157, 421-431).

Ce test utilise une propriété fonctionnelle connue des cellules MMR-déficientes, à savoir leur tolérance à certaines drogues (*i.e.* agents méthylants, tolérance à la méthylation). Notre stratégie expérimentale a reposé sur la capacité de variants *MLH1* et *MSH2* à compléter la déficience MMR d'une lignée cellulaire en culture. En bref, une restauration de la sensibilité à la méthylation est attendue si le variant transfecté est non pathogène, alors qu'une conservation de la tolérance à la méthylation indique que le variant est délétère. Les tests réalisés avec une large série de VSI à caractériser, et avec des variants contrôles dont le caractère pathogène ou non est connu, seront présentés. Les résultats acquis indiquent la pertinence d'une telle approche méthodologique à visée diagnostique dans le syndrome de Lynch. Ce test devrait être prochainement disponible à l'hôpital de la Pitié Salpêtrière afin d'aider au classement des VSI *MLH1* et *MSH2* discutés au niveau du réseau national.

Pièce jointe : résumé assises 18-10-19.docx

CS08 : Mutations TP53 de faible fréquence allélique : peut-on s'affranchir de la biopsie pour différencier une mosaïque d'une hématopoïèse clonale ?**Auteurs :**

Alice Fiévet (1), Odile Cabaret (1), Marine Guillaud-Bataille (1), Brigitte Bressac de Paillerets (1), Voreak Suybeng (1), Christine Bombled (1), Johnny Bombled (1), Jean-Marc Limacher (2), Hélène Schuster (3), Jean Chiesa (4), Stéphanie Baert-Desurmont (5), Gaëlle Bougeard-Denoyelle (5), Thierry Frebourg (5), Cyril Gella (1), Odile Leopold (1), Sophie Cotteret (1), Ludovic Lacroix (1), Olivier Caron (6), Christophe Marzac (1), Etienne Rouleau (1)

1. Service Génétique des Tumeurs, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Service d'Oncologie-Hématologie, Hôpital Pasteur, Colmar, France
3. Service d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
4. Service de Cytogénétique et Génétique Médicale, Hôpital Caremeau, Nîmes, France
5. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Département de Médecine Oncologique, Gustave Roussy, Villejuif, France

Mots clefs : TP53, mosaïque, CHIP, Hématopoïèse clonale, NGS

Résumé :

Le diagnostic moléculaire des maladies génétiques s'effectue la plupart du temps par l'analyse de l'ADN extrait de sang total. Le séquençage haut-débit d'un panel de gènes prédisposant aux cancers met régulièrement en évidence des variants avec une faible fréquence allélique (FA), en particulier sur le gène *TP53*. Ces variants peuvent correspondre à une mosaïque constitutionnelle (MC), responsable d'un phénotype atténué ou refléter la présence d'une Hématopoïèse Clonale de Potentiel Indéterminé (CHIP), en particulier si le patient est âgé ou a été traité par radio-chimiothérapie. Ces variants peuvent avoir un rôle direct dans l'émergence du clone ou être simplement des variants passagers acquis sur d'autres gènes.

Afin d'établir l'origine des variants *TP53* à faible FA (n=11 ; 10 à 39%), nous avons combiné une stratégie d'analyse de ces variants en NGS dans le tissu tumoral (n=7, Sanger : n=1), le tissu sain adjacent (n=4, Sanger : n=2) et la fraction myéloïde (n=4). Nous avons réalisé un panel de gènes impliqués dans les hémopathies myéloïdes sur l'ADN extrait des cellules sanguines après un tri cellulaire CD3+/CD3-, afin de discerner le génotype de la fraction myéloïde (CD3-) de celui des lymphocytes T (CD3+). Des analyses sont en cours pour 6 patients.

Dans 3 cas, l'analyse tumorale retrouvait le variant recherché, avec une FA augmentée par rapport au sang : nous avons conclu à une MC. L'analyse du tissu sain retrouvait le variant mais sans augmentation de la FA par rapport au sang. Dans 5 cas, l'absence du variant dans la tumeur orientait vers une CHIP. L'étude des fractions CD3+ et CD3- a permis de montrer que la FA des variants des MC était similaire dans les deux fractions, confirmant l'origine embryonnaire précoce de l'apparition du variant. En revanche, dans les CHIP, ces variants étaient présents dans la fraction myéloïde (CD3-), avec une FA similaire au sang total, et quasiment absents des lymphocytes T, confirmant l'apparition tardive du variant, au cours de l'hématopoïèse. L'analyse en panel de la fraction myéloïde permet également l'identification de variants dans d'autres gènes impliqués en hématologie tel que *DNMT3A*, confortant le diagnostic.

Ainsi nous avons démontré la possibilité de différencier une MC d'une CHIP par une stratégie combinant l'analyse moléculaire de la tumeur et des fractions CD3+ et CD3-. Le tri sélectif des fractions présente de nombreux avantages comme l'absence de prélèvement invasif de tissu sain et l'accès à de l'ADN de bonne qualité contrairement aux tissus tumoraux fixés. Les CHIP sont fréquentes et non détectables par une numération formule sanguine, or il s'agit d'un facteur de risque de myélodysplasie, particulièrement en post radio-chimiothérapie. Il est donc important d'établir un protocole de confirmation afin d'adapter le conseil génétique et la surveillance de ces patients. Ces travaux montrent l'importance de combiner les activités constitutionnelles avec des analyses tumorales et hématologiques.

Pièce jointe : Résumé_CHIP_Assises2020_final.docx

CS09 : Challenges, limites et apport du WES en oncogénétique constitutionnelle

Auteurs :

Isabelle Tournier (1), Maud Blanluet (1), Edwige Kasper (1), Françoise Charbonnier (1), Camille Le Clezio (1), Celine Derambure (2), Sophie Coutant (1), Jacqueline Bou (1), Maud Branchaud (3), Alice Goldenberg (1), Jean-François Deleuze (4), Anne Boland (4), Emmanuelle Genin (5), Gaëlle Bougeard-Denoyelle (6), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Claude Houdayer (1), Thierry Frebourg (6)

1. Département de Génétique et Inserm U1245, UNIROUEN, CHU de Rouen et Inserm, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Département de Génétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CHU de Rouen et Inserm, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
3. Département de Génétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
4. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Institut de Génomique, CEA, Evry, France
5. Inserm UMR-1078, CHRU Brest, Univ. Brest, Brest, France
6. Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : Exome, oncogénétique, variant rare, enrichissement, réparation de l'ADN, cancer colorectal, phénotype extrême

Résumé :

Comme l'illustre le différentiel entre le nombre d'articles rapportant l'identification, par séquençage d'exomes (WES), de gènes impliqués dans les formes héréditaires de cancer et les anomalies du développement, le WES a en oncogénétique constitutionnelle une valeur additionnelle limitée. Nous rapportons ici notre expérience. Nous avons dans un premier temps évalué l'apport du WES dans les cancers de l'adulte jeune, sans altération détectable dans les gènes analysés au titre du diagnostic et avons étudié, comme paradigme, le cancer colorectal (CCR). Le WES a été réalisé chez 93 patients atteints de CCR avant 32 ans, de présentation sporadique pour la plupart. L'analyse a été focalisée sur un panel de 296 gènes impliqués dans l'oncogenèse constitutionnelle ou somatique et/ou dans la réparation de l'ADN. Nous n'avons retenu que les variants rares (fréquence allélique < 1 %), perte de fonction (LOF) ou faux-sens prédits délétères. Parmi les 221 variants identifiés, nous n'avons identifié que 4 variants LOF dans les gènes *BRCA2*, *FANCA* et *FANCD2* impliqués dans la voie ICL (*Interstrand crosslinks*). En l'absence de causalité évidente, nous avons analysé pour rechercher un enrichissement par rapport à une population contrôle les 296 gènes chez 567 témoins FREX (*French Exome Project*). L'analyse statistique, réalisée avec le Burden test (SeqMeta), a mis en évidence pour les variants rares de fréquence allélique < 0.1% de la voie ICL, un odds ratio de 5,9 mais le p (0.01) était bien supérieur au p significatif, après correction de Bonferroni sur l'exome ou les 296 gènes ($2,5 \times 10^{-6}$ et $1,7 \times 10^{-4}$). Chez les patients atteints de CCR avec variations des gènes de la voie ICL, des variations d'autres gènes de réparation ont été identifiées, suggérant un oligogénisme. Nous avons alors opté pour une stratégie rapide de WES plus sélective, en nous focalisant sur des phénotypes extrêmes de cancer sans étiologie génétique établie: (i) forme néonatale ou cancer « de l'adulte » chez l'enfant ; (ii) cancers primitifs multiples avant 31 ans ; (iii) association à des éléments syndromiques ou (iv) tumeurs très rares. Les scripts de filtration incluent la localisation (-20 /+6 par rapport aux exons), un GQ score > 89, une fréquence allélique < 1% et la localisation des variants dans 141 gènes clefs de l'oncogenèse. Leur analyse intègre ClinVar, OMIM, leur type (LOF ou faux-sens prédits délétères) et la confrontation au phénotype après RCP et nouveau bilan clinique et para-clinique, si nécessaire. Cette stratégie a déjà permis d'élargir le phénotype associé à des variants touchant des gènes OMIM et révélé que des phénotypes complexes pouvaient résulter de la combinaison de plusieurs variants délétères. Ces travaux montrent qu'en oncogénétique, le WES constitutionnel a sans doute un intérêt limité chez les patients adultes présentant un cancer précoce, mais qu'il doit être intégré à la pratique diagnostique pour des cas très sélectionnés sur l'âge et le phénotype associé.

CS10 : Approche combinatoire pour le classement des variants des gènes BRCA1 et BRCA2**Auteurs :**

Sandrine CAPUTO (1, 2), Nadia Boutry-Kryza (3), Laurent Castera (4), Marine GUILLAUD-BATAILLE (5), Mélanie Leone (3), Audrey Remenieras (6), Françoise Revillion (7), Etienne Rouleau (1), NOémie Basset (8), Claude Houdayer (1), Catherine Nogues (9), Dominique Stoppa-Lyonnet (1), Genetic Group Splice UNICANCER (10), Genetic Group UNICANCER (11), Genetic Group Interpretation UNICANCER (1)

1. Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. , Université Paris Sciences-Lettres, Paris, France
3. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Laboratoire de biologie et de génétique du cancer et INSERM 1079 Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CLCC François Baclesse, Caen, France
5. , Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
6. , Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
7. , Centre Oscar Lambret, Lille, France
8. Génétique, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière, Paris, France
9. Génétique, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
10. Génétique, Institut Curie, PARIS, France
11. , Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : BRCA1, BRCA2, Variant de signification inconnue, épissage, test fonctionnel, co-segregation

Résumé :

A l'heure du séquençage de masse et de l'abondance de données, se pose encore plus la question de l'interprétation des variants de signification inconnue. Bien que différents outils *in silico*, basés sur la conservation, les différences physico-chimiques des acides aminés ou bien l'épissage, existent, aujourd'hui, ils ne permettent pas de classer correctement et avec confiance des variants pour une utilisation en diagnostic. Afin de répondre à cette problématique des variants, nous développons différents outils pour essayer d'y répondre. En France, nous avons l'avantage de travailler en réseau notamment pour les cancers héréditaires dans le cadre du Groupe Génétique et Cancer : <http://www.unicancer.fr/recherche/les-groupes-recherche/groupe-genetique-et-cancer-ggc>, ce qui nous a permis de mettre en place des bases de données, notamment pour les gènes *BRCA1/2* depuis 1995 (Caputo et al., 2012) (Présentation de Laurent Castera). L'exploitation de ces bases de données permet d'adopter une stratégie optimisée pour le classement de ces variants de signification inconnue. Aujourd'hui, l'étude des conséquences des variations nucléotidiques nécessite donc la combinaison de différentes approches (co-ségrégation, co-occurrence avec une mutation délétère, histoire familiale, stabilité et qualité de l'ARN messager, conservation des acides aminés, impact structurale de la mutation, études fonctionnelles, perte de l'hétérozygotie dans les tumeurs (LOH)) et l'utilisation des modèles de risque multifactoriels (Rouleau et al., 2010; Houdayer et al., 2012; Dos Santos et al., 2017; Caputo et al., 2018; Leman et al., 2018; Petitalot et al., 2018). Nous avons donc adopté une approche combinatoire pour répondre à la question des variants de signification inconnue des gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

Pièce jointe : Evolution des chiffres_BRCA_191017.ppt

CS11 : Évaluation de l'incidence des lésions coliques chez les patients âgés de moins de 50 ans suivis pour un Syndrome de Lynch au sein du réseau PRED-IdF.**Auteurs :**

Elise Coffin (1), Céline Lecal (2), Enrique Perez (1), Elia Samaha (3), Jeanne Netter-Coti (4), Chrystelle Colas (5), Bruno Buecher (5), Olivier Caron (6), Jérôme Bellanger (7), Veronica Cusin (8), David Malka (6), Yann Parc (9), Xavier Dray (7), Robert Benamouzig (10), Gabriel Rahmi (1), Stanislas Chaussade (11), Pierre Laurent Puig (12), Guillaume Perrod (1), Christophe Cellier (1)

1. Hépatogastro-entérologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
2. Hépatogastro-entérologie, Avicenne, PARIS, France
3. Hépatogastro-entérologie, Hôtel Dieu de France, Beirut, Liban
4. Hépatogastro-entérologie, Tenon, PARIS, France
5. Génétique, Institut Curie, PARIS, France
6. Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
7. Hépatogastro-entérologie, Saint Antoine, PARIS, France
8. Hépatogastro-entérologie, La Pitié Salpêtrière, PARIS, France
9. Chirurgie Digestive, Saint Antoine, PARIS, France
10. Hépatogastro-entérologie, Avicenne, Bobigny, France
11. Hépatogastro-entérologie, Cochin, PARIS, France
12. Anatomopathologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France

Mots clefs : Syndrome de Lynch, HNPCC, MSH6, adénome, adénome festonné, cancer colorectal

Résumé :**Introduction :**

Le Syndrome de Lynch est responsable d'environ 3% des cancers colorectaux (CCR). Il est lié à la mutation d'un des gènes du système de réparation des mésappariements de l'ADN : MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, et EPCAM. Le risque cumulé de CCR diffère selon la mutation, avec un risque moindre chez les patients MSH6. Il existe peu de données concernant la survenue des lésions coliques selon les différentes mutations à un âge jeune. L'objectif de cette étude était de déterminer l'incidence des lésions coliques chez les patients suivis pour syndrome de Lynch âgés de moins de 50 ans.

Patients et Méthode :

Il s'agit d'une étude rétro-prospective, multicentrique, réalisée au sein du réseau PRED-IdF. Ont été inclus les patients avec une mutation identifiée ayant réalisé au moins une coloscopie avant l'âge de 50 ans. Le critère de jugement principal était l'incidence des lésions coliques : adénomes, adénomes festonnés, et CCR. Les données cliniques, endoscopiques et histologiques ont été collectées.

Résultats :

708 patients (âge médian : 35 [15-50] ans; sexe ratio : 0,7, durée médiane de suivi 55 [0-340] mois) ont été inclus, les données de 2429 coloscopies analysées. La répartition des mutations était la suivante : MLH1 : 237 (33,5%), MSH2 : 323 (45,6%), MSH6 : 108 (15,3%), PMS2 : 30 (4,2%) et EPCAM : 10 (1,4%). 375 (53,0%) patients ont présenté au moins une lésion colique, 268 (37,9%) au moins un adénome, 47 (6,6%) au moins un adénome festonné et 162 (22,9%) au moins un CCR. L'incidence cumulée des lésions coliques était respectivement de 57,0% ; 51,7 % ; 48,1% ; 50,0% ; 60,0% pour les mutations MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 et EPCAM. L'âge médian de survenue d'une lésion colique était respectivement de 37 [19-58], 37 [16-60], 40 [27-53], 38 [29-46] et 35 [26-42] ans pour chacune des mutations. Pour les mutations MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2, 58 (43%) %, 73 (44%), 13 (25%), 3 (20%) des lésions coliques ont été détectées avant 35 ans, $p=0,184$. Chez les patients MSH6, l'âge de survenue de la première lésion colique était significativement plus élevé que pour les autres mutations ($p=0,031$) (Figure 1). Chez ces patients, la répartition des lésions coliques avant l'âge de 35 ans était la suivante : 7 adénomes dont 1 avancé, 1 adénome festonné et 5 CCR. L'âge HR : 1,038 [IC 95 : 1,026-1,116], le sexe masculin HR : 1,460 [IC 95 : 1,017-1,061], et le tabac HR : 1,672 [IC 95 : 1,252-2,233] étaient des facteurs de risque indépendants de survenue de lésion colique.

Conclusion :

Dans cette étude réalisée au sein de la plus importante cohorte Française de patients suivis pour syndrome de Lynch, nous avons confirmé que la mutation MSH6 était associée au développement de lésion colique à un âge plus tardif. Cependant, nos résultats vont à l'encontre des recommandations Européennes qui préconisent un dépistage colique à partir de l'âge de 35 ans. Chez ces patients, l'établissement d'un score de survenue de lésion colique pourrait permettre de proposer un dépistage personnalisé.

Pièce jointe : Figure 1 assise génétique.png

CS12 : Performance des scores de risque polygéniques pour le cancer du sein chez les femmes à haut risque porteuses et non porteuses d'une mutation de BRCA1 ou BRCA2**Auteurs :**

Yue Jiao (1), Juliette Coignard (1), Mojgan Karimi (2), Christine Lonjou (1), Séverine Eon-Marchais (1), Marie-Gabrielle Dondon (1), Noura Mebirouk (1), Dorothée Le Gal (1), Juana Beauvallet (1), Edith Le Floch (3), Claire Dandine-Roulland (3), Anne Boland-Auge (3), Jean-François Deleuze (3), Pascal Guénel (2), Dominique Stoppa-Lyonnet (4), Thérèse Truong (2), Nadine Andrieu (1), Fabienne Lesueur (1)

1. Inserm U900, Institut Curie, Mines ParisTech, PSL University, Paris, France
2. Inserm U1018, CESP, Université Paris-Saclay, Université Paris-Sud, Villejuif, France
3. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Département de l'Institut de Biologie François Jacob, CEA, Evry, France
4. Service de Génétique, Inserm U830, Université Paris Descartes, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : cancer du sein, prédisposition génétique, BRCA1, BRCA2, SNPs, score de risque polygénique, prédiction du risque

Résumé :

Les études pangénomiques menées par le *Breast Cancer Association Consortium* (BCAC) ont identifié des SNPs situés dans environ 170 régions du génome associés au risque de cancer du sein (CS). L'effet de ces SNPs est faible – au plus associé à des risques relatifs de l'ordre de 1,2 – mais leur effet combiné exprimé en score de risque polygénique (PRS) améliore sensiblement le pouvoir prédictif des modèles développés en population générale. Une partie de ces SNPs modifie aussi le risque de CS des femmes portant une mutation de *BRCA1* ou *BRCA2* (*BRCA1/2*). Cependant, le pouvoir prédictif des PRS construits à partir de données internationales hétérogènes, sur des populations à risque élevé de cancer, qu'elles soient porteuses ou non porteuses d'une mutation de *BRCA1/2*, est à démontrer.

Notre objectif est d'évaluer la performance des PRS publiés (Michailidou *et al.* 2017, Milne *et al.* 2017, Mavaddat *et al.* 2019) dans une population spécifique de femmes vivant en France, ayant eu recours à une consultation d'oncogénétique et ayant bénéficié d'un test génétique *BRCA1/2*.

Nos travaux s'appuient sur les données de trois études : GEMO, qui inclut des porteuses d'une mutation de *BRCA1/2*, atteintes et non atteintes de cancer, GENESIS, qui inclut des femmes atteintes de CS, non porteuses d'une mutation *BRCA1/2* et ayant une sœur également atteinte de CS ainsi que des témoins de population, et CECILE, une étude cas-témoins menée en population générale. Au total, 6271 femmes ont été génotypées avec la puce iCOGS (Illumina) ciblant plus de 220 000 SNPs (1700 porteuses *BRCA1/2* de GEMO, 2553 femmes de GENESIS et 2018 femmes de CECILE). Les SNPs des PRS non génotypés ont été imputés avec le logiciel IMPUTE2 en utilisant le panel de référence de 1000Genomes. La performance de deux PRS publiés, construits respectivement à partir de 179 SNPs et 313 SNPs et des Odds Ratio (OR) estimés à partir des données de BCAC sera évaluée dans GEMO et GENESIS.

Bien que CECILE ait contribué à la découverte des 170 régions et donc à la construction des PRS publiés, leur performance y sera testée pour vérifier leur pouvoir prédictif sur une population générale plus homogène. Les données de génotypage de CECILE serviront également à ré-estimer les ORs associés aux 179 et 313 SNPs. Le génotypage de 2500 participantes supplémentaires de GEMO et de la totalité de l'étude CECILE est en cours avec la puce OncoArray (Illumina) ciblant environ 530 000 SNPs. Les nouvelles données génotypiques de CECILE permettront de rechercher de nouveaux SNPs associés au CS et d'évaluer si des PRS spécifiques permettent de mieux discriminer les populations de GEMO et GENESIS.

Ces travaux permettront d'évaluer la pertinence de tester un même PRS ou des PRS spécifiques dans des populations différentes quant à leur risque *a priori* de développer un CS. Ils permettront d'avoir de meilleures estimations individuelles des risques de cancer et ainsi d'améliorer la prise en charge des femmes à risque.

Pièce jointe : Abstract_Assises_PRS_Lesueur.pdf

CS13 : Mutations de *POLR1B* et anomalies des cellules de la crête neurale dans le syndrome de Treacher Collins de type 4

Auteurs :

Elodie Sanchez (1, 2), Béril Laplace-Builhé (2), Frédéric Tran Mau-Them (3, 4), Eric Richard (5), Alice Goldenberg (6), Tomi L Toler (7), Thomas Guignard (8), Vincent Gatinois (8), Marie Vincent (9), Catherine Blanchet (10), Anne Boland (11), Marie-Thérèse Bihoreau (11), Jean-François Deleuze (11), Robert Olasso (11), Walton Nephi (7), Hermann-Josef Lüdecke (12), Joke BGM Verheij (13), Florence Moreau-Lenoir (14), Françoise Denoyelle (15), Jean-Baptiste Rivière (16), Jean-Louis Laplanche (17), Marcia Willing (7), Guillaume Captier (18), Florence Apparailly (2), Dagmar Wiczorek (12), Corinne Collet (17), Farida Djouad (2), David Geneviève (1, 2)

1. Génétique Clinique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. IRMB-UMR1183, CHU de Montpellier / INSERM / Université de Montpellier, Montpellier, France
3. Unité Fonctionnelle d'Innovation diagnostique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
4. Inserm UMR1231, Université de Bourgogne, Dijon, France
5. Inserm U1194, IRCM / Université de Montpellier, Montpellier, France
6. Inserm U1245, CHU de Rouen / INSERM, Rouen, France
7. Division of Genetics & Genomic Medicine, Washington University School of Medicine, Saint-Louis, Etats-Unis
8. Unité de Génétique Chromosomique, Plateforme ChromoStem, CHU de Montpellier, Montpellier, France
9. Génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
10. ORL, CHU de Montpellier, Montpellier, France
11. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, Evry, France
12. Institute of Human Genetics, Medical Faculty, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Allemagne
13. Medical Genetics, University Medical Centre Groningen, University of Groningen, Groningen, Pays-Bas
14. ORL, CH d'Evreux, Evreux, France
15. ORL pédiatrique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, APHP et Université Paris Descartes, Paris, France
16. Génétique Moléculaire, Plateau technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
17. Biochimie et Biologie Moléculaire - UF de Génétique Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
18. Chirurgie plastique infantile, CHU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Treacher Collins/Franceschetti, *POLR1B*, apoptose, cellules de la crête neurale, p53, zebrafish

Résumé :

Titre: Mutations de *POLR1B* et anomalies des cellules de la crête neurale dans le syndrome de Treacher Collins de type 4

Objet : Le syndrome de Treacher Collins (STC) est une dysostose mandibulofaciale autosomique dominante rare, dont la prévalence est de 0,2-1/10 000. Le STC est caractérisé par une hypoplasie malaire et mandibulaire bilatérale et symétrique et des variations morphologiques faciales dues à une migration et à une différenciation anormale des cellules de la crête neurale (CCN). A ce jour, 3 gènes ont été identifiés : *TCOF1*, *POLR1C* et *POLR1D*. Malgré un grand nombre de patients avec un diagnostic moléculaire, certains restent sans anomalie génétique connue.

Méthodes : Nous avons effectué le séquençage de l'exome de 4 individus atteints du STC, négatifs pour des variants pathogènes dans les gènes responsables connus. L'effet des variants pathogènes a été étudié chez le zebrafish.

Résultats : Nous avons identifié 3 nouveaux variants pathogènes dans le gène *POLR1B*. Le knockdown de *polr1b* chez le zebrafish induit un phénotype crâniofacial anormal imitant le STC, associé à une altération de l'expression de l'ARN ribosomique, à une apoptose cellulaire massive due à une surexpression de p53 dans le neuro-épithélium et à une réduction du nombre de dérivés des CCN.

Conclusion : Les variants pathogènes de la sous-unité *POLR1B* de l'ARN polymérase I induit une apoptose massive p53-dépendante dans une zone neuro-épithéliale restreinte, modifiant la migration des CCN et provoquant des malformations cranio-squelettiques. Nous identifions *POLR1B* comme un nouveau gène causal responsable d'un nouveau type de STC (STC4) et établissons un nouveau modèle expérimental chez le zebrafish pour étudier le STC lié à *POLR1B*.

Pièce jointe : Résumé Assises de Génétique 2020.docx

CS14 : Etiologie du spectre Oculo-Auriculo-Vertebral : nouveaux gènes candidats identifiés

Auteurs :

CAROLINE ROORYCK THAMBO (1), CAROLINE ROORYCK THAMBO (1), Angèle Tingaud-Sequeira (1), Aurélien Trimouille (1), Marie Berenguer (1), Benoît Arveiler (1), Sandrine Marlin (2), Didier Lacombe (1)

1. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, Service de génétique médicale, Université de Bordeaux; CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Génétique Médicale, Centre de référence des surdités congénitales. Hôpital Necker, Paris, France

Mots clefs : Goldenhar, OAVS, MYT1, ZYG11B, acide rétinoïque

Résumé :

Le Spectre Oculo-Auriculo-Vertebral (OAVS) ou Syndrome de Goldenhar est une anomalie du développement embryonnaire caractérisée par une microsomie hémifaciale associée à des malformations auriculaires, oculaires et vertébrales. Depuis 10 ans, grâce à des collaborations nationales et internationales, nous avons constitué la plus grande cohorte d'OAVS décrite à ce jour, avec près de 350 patients. Cependant, l'hétérogénéité clinique et génétique de ce spectre avec une pénétrance incomplète et une expressivité variable, rendent son diagnostic moléculaire complexe. Ainsi, nous avons identifié le premier gène associé à l'OAVS, *MYT1*, avec des variants chez moins de 2 % de nos patients. L'étude d'autres exomes et génomes nous a permis d'identifier de nouveaux gènes candidats dont le gène *ZYG11B*, codant pour une protéine associée à l'ubiquitine ligase E2, ayant un rôle dans la dégradation de substrats par le protéasome. Des expériences de knock-down de *zyg11* chez le modèle poisson zèbre montrent un effet délétère spécifique sur le développement des cartilages craniofaciaux, ainsi qu'un phénotype d'ondulation de la notochorde proximale pouvant correspondre aux anomalies vertébrales observées dans l'OAVS. Nous avons également mis en évidence une amplification anormale d'alanines dans un autre gène, *ZIC3*, associée à une microtie unilatérale et microsomie hémifaciale chez 8 garçons d'une grande famille danoise. Ce gène est déjà connu comme étant impliqué dans les hétérotaxies et cardiopathies, et joue un rôle dans la détermination de l'axe gauche-droite. Cette fonction biologique pourrait expliquer le caractère unilatéral des atteintes craniofaciales dans cette famille et dans l'OAVS. Nous avons également identifié un variant faux-sens récurrent dans le gène *EYA3* chez deux familles non apparentées. Nous avons aussi induit des anomalies craniofaciales spécifiques chez les embryons de poisson zèbre, après inhibition de l'homologue *eya3* par morpholinos, avec un phénotype comparable avec les modèles animaux précédents. Des études protéomiques sur modèles cellulaires mutés sur *EYA3* montrent notamment une dérégulation de la voie de réparation à l'ADN, de la voie de phosphorylation oxydative, de la voie de polyubiquitination des protéines ainsi qu'une activation de la voie de l'acide rétinoïque. Une autre approche par des expériences d'exposition toxique *in utero* d'embryons de souris à l'acide rétinoïque, à un stade de développement donné, nous a permis de mettre en évidence d'autres gènes candidats impliqués dans les malformations craniofaciales, dont certains étaient déjà connus comme associés à des phénocopies de l'OAVS. Ces différentes approches combinant les études multi-omiques et environnementales sont nécessaires pour décrypter les bases étiologiques de cette maladie complexe.

CS15 : Le syndrome TRAF7 à partir d'une série de 41 patients

Auteurs :

Christopher T Gordon (1), Jeanne Amiel (2), Bernardo Blanco-Sanchez (3), Laura Castilla-Vallmanya (4), Clémantine Dimartino (3), Christine Bole-Feyssot (5), Patrick Nitschké (6), Margo Reijnders (7), Ton Van Essen (8), Kaja Selmer (9), Gunnar Houge (10), Helen Cox (11), Helen Kingston (12), Jill Clayton-Smith (13), Jeffrey Innis (14), Wendy Chung (15), Vicki Sanders (16), Christel Thauvin (17), Laurence Faivre (17), Gaetan Lesca (18), Damien Sanlaville (18), Katherine Christensen (19), Rachel Gannaway (20), Anna Lehman (21), Luitgard Graul-Neumann (22), Christiane Zweier (23), bernarda Lozic (24), Ryan Peretz (25), Joanna Meira (26), Anna Cereda (27), Thomas Smol (28), Anne Dieux-Coëslier (29), Valérie Cormier-Daire (30), Arnold Munnich (31), Tiong Tan (32), Stanislas Lyonnet (3), Daniel Grinberg (33), Roser Urreizti (33)

1. Embryology and genetics of malformations, INSERM, UMR 1163 et Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Imagine, paris, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, paris, France
3. Embryology and genetics of malformations, INSERM, UMR 1163 et Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Imagine, Paris, France
4. Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, Espagne
5. Plateforme de génomique, Imagine, Paris, France
6. Plateforme de bioinformatique, Imagine, Paris, France
7. Department of Human Genetics, Radboud University Medical Center, Nijmegen, Pays-Bas
8. Department of Genetics, University, Medical Centre Groningen, Groningen, Pays-Bas
9. Department of Medical Genetics, Oslo University Hospital, Oslo, Norvège
10. Department of Medical Genetics, Haukeland University Hospital, Bergen, Norvège
11. West Midlands Regional Clinical Genetics Service, Birmingham Women's and Children's NHS Foundation Trust, Birmingham, Royaume Uni
12. Manchester Centre for Genomic Medicine, Manchester University Hospitals and Academic Health Sciences Centre, Manchester, Royaume Uni
13. Department of Medical Genetics, Manchester University Hospitals and Academic Health Sciences Centre, Manchester, Royaume Uni
14. Department of Pediatrics and Communicable Diseases, University of Michigan, Ann Arbor, Etats-Unis
15. Department of Pediatrics, Division of Clinical Genetics, Columbia University, Columbia, Etats-Unis
16. Division of Genetics, Birth Defects and Metabolism, Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital, Chicago, Etats-Unis
17. Service de Génétique, CHU de Dijon Bourgogne, Dijon, France
18. Department of Genetics, Lyon University Hospital, Lyon, France
19. Division of Medical Genetics, Saint Louis University School of Medicine, Saint Louis, Etats-Unis
20. Department of Human and Molecular Genetics, Virginia Commonwealth University, Richmond, Etats-Unis
21. Department of Medical Genetics, , , Canada, The University of British Columbia, Vancouver, Canada
22. Institute of Human Genetics, Charité Universitätsmedizin, Berlin, Allemagne
23. Institute of Human Genetics, Friedrich-Alexander-University Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Allemagne
24. Department of Pediatrics, University Hospital Centre Split, Split, Croatie
25. Genetics department, Driscoll Children's Hospital, Driscoll, Etats-Unis
26. University Hospital Professor Edgard Santos, Federal University of Bahia, Bahia, Brésil
27. Department of Pediatrics, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Italie
28. Institut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
29. Service de Génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
30. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
31. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
32. Victorian Clinical Genetics Services, Murdoch Children's Research Institute, Melbourne, Australie
33. Departament de Genètica, Microbiologia i Estadística, Facultat de Biologia, Barcelona, Espagne

Mots clefs : Malformation, tumeur, développement

Résumé :

La famille TRAF (Tumor necrosis factor Receptor-Associated Factor) est impliquée dans un large éventail de fonctions biologiques. TRAF7 est le seul de cette famille à posséder des domaines WD40 en C-terminal remplaçant le domaine TRAF. TRAF7 interagit avec MEKK3 via les domaines WD40, c-Myb et ROBO4, module de nombreuses voies de signalisation dont la voie NF- κ B.

Des mutations faux sens hétérozygotes *de novo* TRAF7 ont été rapportées chez 7 patients, associant un retard de développement, des malformations congénitales et des particularités morphologiques. Nous avons collecté une série de 41 patients (dont un cas familial) par WES, séquençage direct et une collaboration internationale via GeneMatcher présentant des mutations faux-sens hétérozygotes dans les répétitions WD40. Il s'agit d'un syndrome polymalformatif cliniquement reconnaissable avec déficience intellectuelle de sévérité variable et vieillissement précoce. Le morphotype associe blépharophimosis avec ou sans télécanthus, hypertélorisme et ptosis, dysplasie des oreilles, nez large, microrétrognathie, anomalie de la forme du crâne et du palais, cou court, épaules tombantes, pectus carinatum petite taille et macrocéphalie relative. Les malformations fréquentes sont cardiaques (persistance du canal artériel le plus souvent, malformations septales et valvulaires), costo-vertébrales (avec risque de scoliose et canal médullaire étroit), et des extrémités (déviations des doigts et orteils, campto, brachy et syndactylies). Les difficultés alimentaires sont fréquentes ainsi que l'hypocousie et les anomalies de réfraction.

Des mutations somatiques de TRAF7 sont identifiées dans différentes tumeurs en particulier le méningiome. Le regroupement dans le domaine WD40 des mutations germinales et somatiques, exclusivement faux sens et dont certaines sont récurrentes, suggère un gain de fonction ou un effet dominant négatif. L'absence de chevauchement entre les catalogues de mutations germinales et somatiques suggère un effet seuil qui reste à démontrer. Le risque des patients présentant une mutation germinale de développer un méningiome reste à déterminer. Une étude du transcriptome de fibroblastes de 3 patients et de témoins avec ou sans stimulation par le TNF α a identifié des gènes différentiellement exprimés

dans les voies Wnt et Notch, ouvrant des hypothèses physiopathologiques intéressantes. Des modèles animaux sont en cours de développement.

CS16 : Les mutations du gène *RIMS2* sont responsables d'une maladie de la transmission synaptique rétinienne associée à des troubles autistiques et pancréatiques.

Auteurs :

Sabrina Méchaussier (1), Basamat Almoallem (2), Kristof Van Schil (2), Jo Van Dorpe (2), Michel Polak (3), Nathalie Boddaert (4), Nadia Bahi-Buisson (5), Alexandra Mouallem-Beziere (6), Olivier Pellé (7), Christina Zeitz (8), Isabelle Audo (9), Josseline Kaplan (10), Jean-Michel Rozet (10), Elfride De Baere (11), Isabelle Perrault (12)

1. LGO Inserm U1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Centre de Génétique Médicale, Université de Gand, Gand, Belgique
3. Département d'Endocrinologie, de Gynécologie et de Diabétologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Département de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Département de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Département d'Ophtalmologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
7. Plateforme de Tri Cellulaire, Institut Imagine, Paris, France
8. Département de Génétique, Institut de la Vision, Paris, France
9. Ophtalmologie, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Paris, France
10. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique, Institut Imagine, Paris, France
11. Département de Génétique, Université de Gand, Gand, Belgique
12. LGO Inserm U1163, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : *RIMS2*, maladie de la transmission synaptique rétinienne syndromique, troubles autistiques, diabète

Résumé :

Introduction. La transmission de l'information visuelle des photorécepteurs aux cellules ganglionnaires du nerf optique implique une variété de neurones intermédiaires, parmi lesquels les cellules bipolaires. Les anomalies de transmission pré- et post-synaptique entre photorécepteurs et bipolaires sont à l'origine des cécités nocturnes congénitales stationnaires (CSNB). Cette terminologie est toutefois mieux adaptée aux maladies post-synaptiques, les atteintes pré-synaptiques étant volontiers caractérisées par un nystagmus congénital et une photophobie, sans cécité nocturne. Cette dernière présentation connue sous le nom de *cone-rod synaptic disorder* (CRSD) rappelle celle de l'amaurose congénitale de Leber (ACL), la dystrophie rétinienne la plus sévère et précoce et une cause majeure de cécité de l'enfant. L'électrorétinographie est déterminante pour l'établissement du diagnostic différentiel mais cet examen peut être difficile à réaliser chez le jeune enfant. Ici, nous rapportons, (i) l'identification de mutations récessives du gène *RIMS2* codant une protéine pré-synaptique non encore associée à une maladie humaine dans trois familles adressées initialement pour ACL et (ii) le redressement diagnostique en CRSD avec trouble du spectre autistique et insulinopathie.

Matériel et méthodes. Un WES a été réalisé en trio pour un cas sporadique né de parents non consanguins et deux familles multiplexes et consanguines. Les patients ($n = 6$; $1 \leq \text{âge} \leq 32$ ans) ont été réexaminés à l'issue de l'étude moléculaire sur le plan ophtalmologique, neurologique et métabolique.

Résultats: L'analyse des données du WES a permis d'identifier des mutations perte de fonction dans le gène *RIMS2* à l'état hétérozygote composite (p.Arg962* et c.4363+1G>A, p?) pour le cas sporadique, et à l'état homozygote (p.Trp1042* et p.Arg1170*) dans les familles consanguines. *RIMS2* régule l'exocytose à la membrane synaptique des photorécepteurs et du cortex cérébral ainsi que la sécrétion d'insuline par les cellules bêta du pancréas où nous avons détecté la protéine par immuno-marquage. L'examen clinique des patients dirigé par le patron d'expression de *RIMS2* a révélé des tracés électrorétinographiques compatibles avec le diagnostic de CRSD (5/5 examinés), des troubles du spectre autistique ou une déficience intellectuelle (4/5 examinés) et une homéostasie du glucose anormale (1/3 examinés, patient le plus âgé de la cohorte : 32 ans).

Discussion: L'identification de mutations du gène *RIMS2* a non seulement permis de redresser le diagnostic ophtalmologique mais aussi de décrire une nouvelle entité clinique, distincte des CSNB purement rétiniennes sous-tendues par des mutations affectant la synapse des photorécepteurs, caractérisée par une atteinte rétinienne invalidante mais non dégénérative avec troubles neuropsychologiques et anomalie de l'homéostasie du glucose.

CS17 : Identification de deux nouveaux gènes d'albinisme.

Auteurs :

Perrine Pennamen (1, 2), Angela TINGAUD-SEQUEIRA (2), Eulalie LASSEAUX (1), Souad Gherbi Halem (3), Josseline KAPLAN (4), Sandrine Marlin (3), Ivet Gazova (5), Margaret Keighren (6), Mathieu FIORE (7, 8), Anne BAUTERS (9), Bruno Delobel (10), Linh Le (11), Claudio PLAISANT (1), Vincent MICHAUD (1), Sophie Javerzat (12), Cedric Delevoye (13), Michael MARKS (11), Ian JACKSON (6), Benoit ARVEILER (2, 1)

1. Génétique Biologique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. Laboratoire MRGM- Inserm U1211, Université Bordeaux, Bordeaux, France
3. Département de Génétique, Hopital NECKER-ENFANTS MALADES, PARIS Cedex 15, France
4. Laboratoire Génétique Moléculaire, Hopital NECKER-ENFANTS MALADES, PARIS Cedex 15, France
5. MRC Human Genetics Unit, , University of Edinburgh, Edinburgh, Royaume Uni
6. MRC Human Genetics Unit, University of Edinburgh, Edinburgh, Royaume Uni
7. Laboratoire d'Hématologie, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
8. Reference Center for Platelet Disorders, CHU de Bordeaux, PESSAC, France
9. Laboratoire d'hémostase, CHU Lille, LILLE, France
10. Centre de Génétique Chromosomique, GHICL, Hôpital Saint Vincent de Paul, LILLE, France
11. Department of Pathology and Laboratory Medicine, Children's Hospital of Philadelphia Research Institute, Philadelphia, Etats-Unis
12. Laboratoire MRGM- Inserm U1211, Université Bordeaux, BORDEAUX, France
13. Structure et Compartiments Membranaires, CNRS-UMR144, Institut Curie, Section de Recherche, PARIS, France

Mots clefs : Albinisme, hypopigmentation, nouveaux gènes, Maladie rare

Résumé :

L'albinisme est un trouble de pigmentation généralisé caractérisé par une importante hétérogénéité clinique et génétique. Cette affection associe des anomalies ophtalmologiques, véritable source de handicap, à divers degrés d'hypopigmentation cutanéophanérienne et parfois des atteintes hématologiques, digestives ou respiratoires dans les formes syndromiques que sont les syndromes d'Hermansky-Pudlak(HPS) et le syndrome de Chediak-Higashi (1).

A ce jour 19 gènes sont connus comme responsables de formes isolées ou syndromiques d'albinisme, dont la plupart sont autosomiques récessives à l'exception de l'albinisme oculaire lié à l'X. Au laboratoire de génétique du CHU de Bordeaux, nous étudions ces 19 gènes ainsi que quelques diagnostics différentiels par un panel de séquençage haut-débit, parfois complété par une recherche de remaniements par CGH Array ciblée. Plus de 1600 patients ont été analysés à ce jour. Après étude complète des 19 gènes connus comme responsables d'albinisme, environ 25% des patients restent sans diagnostic moléculaire (2). Afin de rechercher de nouveaux gènes, nous avons développé et testé un panel de 129 gènes candidats chez 230 patients négatifs. Ceci a permis de mettre en évidence des variants délétères dans deux gènes. Le premier, *DCT* ou *TYRP2* est suspecté de longue date du fait de sa collaboration à la synthèse de la mélanine avec *TYR* et *TYRP1*, gènes connus d'albinisme (*OCA1* et 3, respectivement). Nous décrivons 2 patientes présentant un albinisme cutané modéré avec atteinte ophtalmologique caractéristique. Une patiente est homozygote pour un variant faux sens et l'autre hétérozygote composite pour un variant faux sens et une délétion frameshift. Les variants faux sens ont été induits chez la souris par CrispR-Cas9, reproduisant l'hypopigmentation modérée. Un modèle poisson zèbre a aussi été produit. Nous rapportons également une patiente porteuse d'une délétion intragénique homozygote du gène *BLOC155*. Ce gène code une des sous-unités du complexe BLOC-1 qui en compte huit et dont 3 sont déjà associées aux formes d'HPS 7, 8 et 9. Cette patiente présente un phénotype d'albinisme modéré et des signes de diathèse hémorragique, lié à un déficit d'agrégation plaquettaire par défaut en granules denses. Des analyses in vitro sur modèles cellulaires ont confirmé la pathogénicité de cette délétion homozygote de *BLOC155*. Nous avons donc découverts deux nouveaux gènes d'albinisme, pour une forme oculocutanée et pour une forme syndromique (HPS), toutes deux apparemment modérées.

1.Arveiler B, Lasseaux E, Morice-Picard F. Clinical and genetic aspects of albinism. Presse Medicale Paris Fr 2017;46(7-8 Pt 1):648-54.

2.Lasseaux E, Plaisant C, Michaud V, Pennamen P, Trimouille A, Gaston L, et al. Molecular characterization of a series of 990 index patients with albinism. Pigment Cell Melanoma Res. 2018;31(4):466-74.

CS18 : Epidémiologie génétique des neuropathies auditives

Auteurs :

Sophie Achard (1), Sandrine Marlin (2), Isabelle ROUILLON (3), Natalie Loundon (4), Elisa RUBINATO (5), Isabelle MOSNIER (6), Laurence Jonard (7)

1. ORL pédiatrique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades-APHP, Paris, France
2. Centre de référence surdités génétiques, Hôpital Necker, Paris, France
3. ORL pédiatrique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades-APHP, Paris, France
4. ORL, Hôpital Necker, Paris, France
5. Service de Génétique Clinique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades-APHP, Paris, France
6. ORL, Hôpital Universitaire Pitié-Salpêtrière-APHP, Paris, France
7. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades-APHP, Paris, France

Mots clefs : Neuropathie auditive, surdité, OTOF, FDXR, ATP1V3, DIAPH3

Résumé :

Justification du projet : Les neuropathies auditives (NA) représentent 5 à 10% des déficits auditifs de l'enfant. Elles peuvent être isolées ou syndromiques. Les NA se caractérisent par une série de résultats paradoxaux lors des investigations audiolologiques qui la distinguent des atteintes cochléaires habituelles. Les performances en audiométrie vocale sont typiquement moins bonnes que celles attendues. Effectivement, l'audiométrie tonale peut varier d'une audition normale à un déficit profond, alors que la compréhension de la parole est très perturbée. On dit donc qu'il existe une discordance entre l'audiométrie tonale et l'audiométrie vocale. Une dizaine de gènes responsables des NA isolées ou syndromiques ont été identifiés à ce jour. Les patients atteints de neuropathie auditive n'ont que rarement un diagnostic génétique établi, il est donc difficile d'adapter leur prise en charge et de donner un pronostic évolutif de leur maladie.

Objectif : L'objectif de cette étude était de rechercher une cause génétique en séquençant l'ADN d'une série de patients présentant une neuropathie auditive avec un panel de 216 gènes connus de surdité. L'objectif secondaire était d'établir des relations génotypes-phénotypes afin d'améliorer la prise en charge et le suivi des patients.

Matériel et méthodes : Inclusion de patients présentant une neuropathie auditive isolée ou syndromique recrutés au sein du Centre de Référence des Surdités Génétiques coordonné par le Dr S. Marlin (Hôpital Necker, Institut Imagine, INSERM). Tous les patients avaient déjà bénéficié d'une consultation génétique clinique et d'un prélèvement sanguin à visée diagnostique (consentements des parents obtenus selon les règles législatives). Pour tous les patients un panel des 216 gènes impliqués dans les surdités a été séquencé par une méthode NGS Capture (*Next Generation Sequencing*). Les patients pour lesquels une cause génétique a pu être déterminée, ont été analysés du point de vue clinique afin d'établir une corrélation génotype-phénotype.

Résultats : Trente-sept patients non-apparentés ont été séquencés en NGS Capture. Seize patients ont eu un diagnostic pour leur NA (43%). Pour cinq patients, un gène responsable de surdité (mais non connu pour être impliqué dans les NA) est suspecté et 16 patients n'ont pas été résolus. Le gène *OTOF* était impliqué dans 27%, les gènes *DIAPH3*, *ATP1A3* et *FDXR* étaient chacun impliqués dans 5 % de notre cohorte.

Conclusion : Sur les gènes connus de neuropathie auditive, 4 ont été retrouvés mutés dans notre population, avec majoritairement des mutations du gène *OTOF*. De nombreux gènes impliqués dans les neuropathies auditives sont sûrement encore à découvrir, et des séquençages d'exome pourront être proposés aux cas non résolus.

Pièce jointe : Abstract neuropathies auditives Assises 2020 V0.docx

CS19 : Etude de l'hétérogénéité clinique du syndrome MCAP à partir d'une cohorte française de 32 patients

Auteurs :

Aurore Garde (1, 2), Laurent Guibaud (3), Alice Goldenberg (4), Florence Petit (5), Rodolphe Dard (6), Juliette Mazereeuw-Hautier (7), Nicolas Chassaing (8), Didier Lacombe (9), Fanny Morice-Picard (9), Annick Toutain (10), Stéphanie Arpin (10), Olivia Boccara (11), Renaud Touraine (12), Patricia Blanchet (13), Christine Coubes (13), Marjolaine Willems (13), Lucie Pinson (13), Philippe Khau Van Kien (14), Christine Chiaverini (15), Fabienne Giuliano (16), Jean-Luc Alessandri (17), Michèle Mathieu-Dramart (18), Anne-Claire Bursztejn (19), Elodie Gautier (1), Meriem Yousfi (1), Maxime Luu (20), Marc Bardou (20), Arthur Sorlin (1, 21), Christophe Philippe (21), Patrick Edery (22), Massimiliano Rossi (22), Virginie Carmignac (21), Christel Thauvin-Robinet (1, 2), Pierre Vabres (23, 24), Laurence Faivre (1, 21)

1. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, FHU TRANSLAD, CHU de Dijon, Dijon, France
2. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Service d'Imagerie Pédiatrique et Fœtale, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Service de Génétique Clinique, CHU de Lille, Lille, France
6. Département de Génétique, Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHI Poissy St Germain-en-Laye, St Germain-en-Laye, France
7. Centre de Référence des Maladies Rares de la Peau, CHU de Toulouse, Toulouse, France
8. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse, Toulouse, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
10. Service de Génétique Clinique, CHRU de Tours, Tours, France
11. Department of Dermatology and Reference Center for Genodermatoses and Rare Skin Diseases (MAGEC), Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris, France
12. Service de Génétique Clinique, CHU de Saint Etienne, Saint-Priest-en-Jarez, France
13. Département de Génétique Médicale, Maladies rares et Médecine Personnalisée, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
14. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
15. Service de Dermatologie, CHU de Nice, Nice, France
16. Département de Génétique Médicale, CHU de Nice, Nice, France
17. Pôle Enfants, CHU de la Réunion, Saint-Denis, France
18. Centre d'Activité Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
19. Service de Dermatologie, CHU de Nancy, Nancy, France
20. Centre d'Investigation Clinique INSERM 1432, CHU de Dijon, Dijon, France
21. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, CHU de Dijon, Dijon, France
22. Département de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
23. Service de Dermatologie, CHU de Dijon, Dijon, France
24. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : PIK3CA, MCAP, mosaïque

Résumé :

Introduction : Le syndrome MCAP (Syndrome mégalencéphalie-malformation capillaire-polymicrogyrie) est une maladie génétique qui résulte d'une variation post-zygotique gain de fonction du gène *PIK3CA*. Ce syndrome appartient au spectre PROS (PIK3CA-related overgrowth spectrum). Dans la littérature, il n'existe que peu de publications rapportant des séries de patients atteints du syndrome MCAP. L'objectif de cette étude est de mieux définir l'étendue du spectre clinique et leur éventuelle corrélation avec les signes radiologiques, à partir d'une cohorte nationale de patients avec un syndrome MCAP.

Patients et Méthodes : Les cliniciens ayant adressé des patients au laboratoire de biologie pour suspicion de syndrome MCAP, et pour lesquels une mutation *PIK3CA* en mosaïque a été identifiée, ont été contactés pour leur proposer de participer à cette étude de cohorte. Un appel à collaboration a également été lancé au sein de la filière AnDDI-Rares. Nous avons ainsi pu colliger les informations cliniques, biologiques et radiologiques de 32 patients atteints du syndrome MCAP. Les imageries cérébrales ont été revues par un même neuroradiologue.

Résultats : Dans notre cohorte, nous observons 18 variations différentes dans le gène *PIK3CA*. Le taux de mosaïcisme se situe entre 0% et 20% dans le sang, entre 1% et 47% dans la peau et entre 4% et 34% dans la salive. La macrocéphalie est observée à la naissance chez 22/29 patients et au moment du diagnostic chez 30/31 patients. Une hémihypertrophie est retrouvée chez 23/32 patients. Une déficience intellectuelle est retrouvée chez 14/32 patients, de légère à sévère. Quatre patients présentent des troubles d'apprentissage nécessitant une aide scolaire ou la scolarisation en classe d'inclusion scolaire. Parmi les patients restants, 10 patients ont une efficacité intellectuelle dans la norme et 4 patients sont trop jeunes pour évaluer leur cognition. Six patients souffrent d'épilepsie. Des malformations cérébrales ont été rapportées chez 20/21 patients : une ventriculomégalie chez 10 patients, une anomalie des amygdales cérébelleuses chez 12 patients, des anomalies du corps calleux chez 11 patients et des anomalies de la substance blanche chez 5 patients. Tous les patients présentent des malformations cutanéovasculaires : angiomes plans chez 24 patients, et cutis marmorata chez 14 patients. Une dysplasie du tissu conjonctif est retrouvée chez 23/32 patients à type d'hyperélasticité cutanée chez 12 patients, anomalies du tissu sous-cutané chez 13 patients et hyperlaxité ligamentaire chez 14 patients.

Conclusion : Cette étude confirme le large spectre clinique dans le syndrome MCAP, en particulier dans le neurodéveloppement. A l'aube de l'arrivée d'essais thérapeutiques dans les pathologies liées à *PIK3CA*, ces informations sont importantes pour mieux décrire l'histoire naturelle de la maladie et les éventuelles corrélations entre l'importance de l'atteinte neuroradiologique et les troubles cognitifs.

CS20 : Caractéristiques phénotypiques du modèle murin du syndrome de Cohen

Auteurs :

Vincent Lhussiez (1), Eléonore Lizé (1), Charlotte Montillot (1), Stephan Collins (1), Binnaz Yalcin (1), Christel Thauvin-Robinet (2), Laurence Faivre (3), Romain Da Costa (4), Laurence Duplomb (2)

1. INSERM1231, GAD, Dijon, France
2. GAD INSERM1231, CHU, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. GAD EA4271, CHU Dijon, Dijon, France
4. GAD INSERM1231, CHU, Université de Bourgogne, Dijon, France

Mots clés : Syndrome de Cohen, modèle murin, phénotype, métabolisme, atteintes ophtalmiques, infertilité

Résumé :

Le syndrome de Cohen (SC) est une maladie rare de transmission autosomique récessive due à des mutations dans le gène *VPS13B*. Les patients présentent de nombreuses atteintes cliniques dont les principales sont une dysmorphie faciale typique, une microcéphalie associée à une déficience intellectuelle, une répartition anormale des graisses au niveau du tronc avec un risque de diabète de type II et de maladies cardiovasculaires, une rétinopathie pigmentaire et une neutropénie. Nous avons généré un modèle murin du SC à l'Institut Clinique de la Souris à Strasbourg par le système de recombinaison Cre-LoxP (délétion de l'exon 3/décalage du cadre de lecture/codon STOP prématuré dans l'exon 4). Plusieurs études phénotypiques sont réalisées au laboratoire afin de pouvoir valider la pertinence du modèle murin pour l'étude du SC, permettre de mieux comprendre la physiopathologie du SC, d'approfondir les connaissances sur les fonctions de VPS13B et d'améliorer la prise en charge des patients. Dès les premières semaines de vie, les souris mutantes *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} sont facilement identifiables car plus petites et de poids nettement inférieurs que les souris sauvages ou hétérozygotes. Le nombre de souriceaux *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} vivants est significativement inférieur à celui attendu, provenant d'une mort embryonnaire à différents stades du développement et d'une mort précoce à la naissance. Différents croisements ont permis de mettre en évidence une infertilité (oligo-astheno-teratozoospermie) des mâles *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} (voir Da Costa *et al.*). La croissance des souris *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} est retardée mais reste homogène avec une consommation de nourriture normale. Pour l'étude du métabolisme lipidique et glucidique des patients, les souris viennent d'être placées sous régime High Fat. La prise de poids (masse grasse vs masse maigre par EchoMRI), la prise hydrique, la dépense énergétique, le RER (respiratory exchange ratio) (cage CLAMS), l'apparition d'un diabète de type II (intolérance au glucose, résistance à l'insuline) et l'éventualité du développement d'une stéatose hépatique (existante chez un de nos patients) vont être mesurées. Un projet sur l'atteinte ophtalmologique est en cours et démontre que les souris *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} peuvent développer une cataracte naturellement mais également de façon exagérée après une exposition à des intensités lumineuses qui se rapprochent des conditions de vie des patients. Enfin une étude neuro-anatomique et comportementale vient de débuter. Les résultats préliminaires montrent (i) une microcéphalie et une diminution de 25% de l'aire du gyrus denté (2 souris étudiées), et (ii) une anxiété des souris *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} par rapport aux souris sauvages (test de l'Open Field). En conclusion, notre modèle murin *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} reproduit plusieurs caractéristiques du phénotype humain et va nous permettre de mieux comprendre la pathologie du SC. (Permis APAFIS#8142-20 1 612 1210214682).

CS21 : Quand rechercher une RASopathie en anténatal ? Proposition après étude systématique de 260 cas.

Auteurs :

Alexandra Scott (1, 2), Marie-Ange Delrue (1, 2), Anne-Marie Laberge (1, 2)

1. Génétique médicale, CHU Ste-Justine, Montréal, Canada

2. , Université de Montréal, Montréal, Canada

Mots clefs : Prénatal, RASopathie, Noonan, échographie fœtale

Résumé :

Les RASopathies constituent un groupe de pathologies fréquentes diagnostiquées en pré ou post-natal, représentant environ 1/1 000-2500 naissances vivantes. Sur les dernières années, des études ont identifié certains signes échographiques évocateurs de ces pathologies : dysplasie lymphatique (clarté nucale (CN) augmentée, pli nuchal (PN) augmenté, hygroma kystique (HK), hydrops, épanchements...); cardiopathie congénitale (dysplasie valvulaire, cardiomyopathie hypertrophique principalement), hydramnios, anomalies rénales. L'objectif de cette étude est de déterminer quels signes sont les plus suggestifs afin de clarifier les indications à rechercher une RASopathie en anténatal.

Nous avons réalisé une étude rétrospective de 2012-2018. Nos critères d'inclusion étaient : 1) cas ayant une présentation prénatale avec signes évocateurs de RASopathies (n=206) ou une présentation pédiatrique avec suspicion de RASopathie pour lesquels les données anténatales étaient disponibles (n=54); 2) CGH-array normale; 3) analyse moléculaire de gènes impliqués dans les RASopathies réalisée. Cela totalise donc 260 cas. La plupart des patients ont été testés pour 11 gènes de RASopathies : *BRAF*, *HRAS*, *KRAS*, *MAP2K1*, *MAP2K2*, *PTPN11*, *RAF1*, *SHOC2*, *SOS1*, *RIT1*, *NRAS*. Les données prénatales des cas positifs et négatifs ont été comparées. Une analyse stratifiée de certains signes échographiques a également été réalisée.

Un variant pathogène ou probablement pathogène a été identifié chez 21% (55/260) des patients, dont 17/141 (12%) des fœtus avec HK et CN augmentée. Le taux de détection de variant pathogène était de 40% pour les épanchements pleuraux, 28% pour les hydrops, 28% pour les cardiopathies, et 27% pour les CN augmentées. Ces taux de détection étaient significativement augmentés dans les cas d'HK persistant (16%), de CN>6 mm (23%), et de valvulopathie associée à une cardiomyopathie hypertrophique (100%). Il était également observé un meilleur taux de détection quand l'anomalie échographique était associée à un hydramnios (49%), une anomalie rénale (36%) ou une macrosomie (54%). 45/151 des cas avec 2 signes échographiques ou plus (30%) avaient un diagnostic de RASopathie vs 9% lors de la présence d'un seul signe échographique.

Conclusion : après une CGH-array normale, la recherche de RASopathie devrait être considérée en anténatal lorsqu'un signe de dysplasie lymphatique ou une cardiopathie congénitale suggestive est retrouvée, seule OU associée. Un polyhydramnios, des anomalies rénales, la macrosomie, sont fréquents, significativement associés à des signes évocateurs de RASopathie. Seuls des anomalies échographiques sévères sont associées à un devenir post-natal défavorable de RASopathie.

CS22 : Présentation anténatale du syndrome de Bardet-Biedl: à propos de 47 fœtus

Auteurs :

Laura Mary (1), Kirsley Chennen (2), Corinne Stoetzel (3), Manuela Antin (4), Anne-Sophie Leuvre (4), Elsa Nourisson (4), Elisabeth Alanio-Detton (5), Maria Cristina Antal (6), Tania Attié-Bitach (7), Patrice Bouvagnet (8), Raymonde Bouvier (9), Annie Buenerd (9), Alix Clémenson (10), Louise Devisme (11), Bernard Gasser (12), Brigitte Gilbert-Dussardier (13), Fabien Guimiot (14), Philippe Khau Van Kien (15), Brigitte Leroy (16), Philippe Loget (17), Jelena Martinovic (18), Fanny Pelluard (19), Marie Josée Perez (20), Florence Petit (21), Lucille Pinson (22), Caroline Rooryck-thambo (23), Olivier Poch (2), Hélène Dollfus (3), Elise Schaefer (1), Jean Muller (3)

1. HUS, CHU de Haute-pierre, Strasbourg, France
2. , iCube, Strasbourg, France
3. , STRASBOURG, France
4. Laboratoire de diagnostic génétique de Strasbourg, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Gynécologie-obstétrique, centre de dépistage anténatal, hôpital Maison-Blanche, CHU de Reims, Reims, France
6. Service de Pathologie, UF6349 Fœtopathologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. INSERM U1163, Institut IMAGINE, Université Paris Descartes, Paris, France
8. Laboratoire de Cardiogénétique, Malformations cardiaques congénitales, Hôpitaux Civils de Lyon, Lyon, France
9. Département de pathologie, centre hospitalier Est, Hôpitaux Civils de Lyon, Lyon, France
10. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Saint-Etienne, Saint Etienne, France
11. Institut d'Anatomo-Pathologie, Centre de Biologie Pathologie, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Lille, France
12. Laboratoire de Pathologie, GHR Mulhouse-Sud Alsace, Mulhouse, France
13. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers, France
14. Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Strasbourg, France
15. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, Centre Hospitalier Universitaire de Nîmes, Nîmes, France
16. Service d'Anatomie Pathologique, CHI Poissy Saint Germain-en-Laye, Saint Germain-en-Laye, France
17. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Pontchaillou, Université Rennes 1, Rennes, France
18. Unité de Fœtopathologie, Hôpital Antoine Bécère, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
19. Service d'Anatomie-Cytologie Pathologique, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Bordeaux, France
20. Unité de fœtopathologie, Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Montpellier, Montpellier, France
21. Clinique de Génétique Guy Fontaine, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Lille, France
22. Département de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier, Montpellier, France
23. Laboratoire Maladies rares, génétique et métabolisme, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Syndrome de Bardet-Biedl, ciliopathie, diagnostic moléculaire, cohorte fœtale

Résumé :

Introduction

Bardet-Biedl syndrome (BBS, MIM# 209900) is an emblematic ciliopathy associating retinal dystrophy, obesity, postaxial polydactyly, learning disabilities and renal dysfunction. Before birth, enlarged/cystic kidneys as well as polydactyly revealed by ultrasound (US) are the usual hints to consider this diagnosis in absence of familial history. However, these symptoms are not specific of BBS, raising the problem of differential diagnoses and prognosis. Molecular diagnosis during pregnancies remains a timely challenge for this heterogeneous disease (24 known BBS genes). We report here a large cohort of BBS fetuses to better characterize antenatal phenotype-genotype correlations and to refine if necessary the molecular diagnostic strategy.

Materials and Methods

Prenatal US and/or autopsic data from 74 interrupted fetuses with putative BBS diagnosis were collected and analyzed.

Results

Using targeted Next Generation Sequencing, we established a molecular diagnostic in 52 cases mainly in BBS genes (47 cases) following the classical gene distribution, but also in other ciliopathy genes (5 cases). Polydactyly (81%, of postaxial localization only) and renal cysts (72%) were the most prevalent symptoms in BBS-mutated fetuses. However, autopsy revealed polydactyly missed by US in 44% of cases. Hydrometrocolpos, evocative of BBS, was found in 3 cases. Ductal plate anomalies, hepatic portal fibrosis, cardiovascular or central nervous system anomalies were rare (6, 4 and 6 cases respectively).

Conclusion

Polydactyly and renal anomalies are confirmed as major prenatal manifestations for BBS. Polydactyly must be carefully controlled in case of apparent isolated renal anomalies. The use of prenatal "fast track" NGS in case of enlarged/cystic kidneys and/or polydactyly has a high utility for diagnosis and prognosis for improved parental information.

Pièce jointe : BBSFoetus_Abstract_Assises_Final.docx

CS23 : Les variants faux-sens localisés dans les domaines de liaison à l'actine de la Plastine 3 sont responsables de hernie diaphragmatique congénitale liée à l'X

Auteurs :

Florence PETIT (1, 2), Barbara POBER (3), Robin CLARK (4), Philip GIAMPIETRO (5), Hans Hilger ROPERS (6), Hao HU (6), Pooja BHAYANI (7), Matthew DYSART (8), Maria LOSCERTALES (7), Anne-Sophie JOURDAIN (9), Frédéric FRENOIS (2), Marie-Ange DELRUE (10), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (11, 12), Louise DEVISME (13, 2), Boris KEREN (14), Sylvie MANOUVRIER-HANU (1, 2), Patricia DONAHOE (3), Mauro LONGONI (3)

1. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CLAD Nord Ouest, ERN-ITHACA, CHU Lille, Lille, France
2. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
3. Department of Pediatrics, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
4. , Loma Linda School of Medicine, Loma Linda, Etats-Unis
5. Drexel University College of Medicine, Drexel University College of Medicine, Philadelphia, Etats-Unis
6. , Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Allemagne
7. Pediatric Surgical Research Laboratories, Massachusetts General Hospital, Boston, Etats-Unis
8. Department of Pediatrics, Massachusetts General Hospital, Massachusetts General Hospital, Boston, Etats-Unis
9. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, Etats-Unis
10. Service de Génétique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Service de Génétique, CHU Poitiers, Poitiers, France
12. EA3808, Université de Poitiers, Poitiers, France
13. Institut de Pathologie, CHU Lille, Lille, France
14. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : PLS3, plastine, hernie diaphragmatique congénitale, lié à l'X

Résumé :

La hernie diaphragmatique congénitale (CDH) a une incidence d'environ 1 naissance sur 3000. C'est une anomalie développementale responsable d'une morbi-mortalité élevée et associée à une grande hétérogénéité génétique. Les formes familiales sont rares et seule une fraction des cas sporadiques est expliquée par des anomalies chromosomiques récurrentes ou des variants *de novo*. Nous rapportons 4 familles où ségrège une CDH liée à l'X sur de multiples générations. Dans ces familles, la CDH est associée de façon variable à des anomalies de la paroi abdominale antérieure et à un hypertélorisme, réalisant une forme syndromique. En combinant analyse de liaison et séquençage de l'exome, nous avons mis en évidence 4 variants faux-sens du gène *PLS3*. Ce gène code la Plastine 3, une protéine du cytosquelette impliquée dans l'organisation des microfilaments d'actine. Il est exprimé au cours du développement pulmonaire et du diaphragme.

L'haploinsuffisance de *PLS3* est responsable d'une forme liée à l'X d'ostéoporose avec fractures (MIM#300910). Nous émettons l'hypothèse que le mécanisme moléculaire impliqué dans la physiopathologie de la CDH est différent. En effet, les variants faux-sens identifiés touchent des résidus conservés au sein des domaines de liaison à l'actine de *PLS3*. Les prédictions *in silico* et les tests fonctionnels suggèrent une modification de la liaison à l'actine, responsable d'une désorganisation du cytosquelette. En conclusion, nous décrivons une forme syndromique de hernie diaphragmatique, constituant une nouvelle entité mendélienne liée au gène *PLS3*.

CS24 : Identification d'un nouveau gène (PDCL3) et spectre mutationnel du syndrome mégavessie-microcôlon sur une série fœtale

Auteurs :

Clarisse Billon (1, 2), Arnaud Molin (3), Céline Poirsier (4), Alix Clémenson (5), Coralie Dauge (6), Maude Grelet (7), Julia Torrents (8), Sabine Sigaudy (7), Sophie Patrier (9), Alice Goldenberg (10), Valérie Layet (11), Julia Tantau (1), Lucile Boutaud (1, 12), Aude Tessier (1), John Rendu (13, 14), Clémence Fleury (15), Cécile Masson (16), Christine Bôle-Feyssot (17), Amale Achaiaa (1), Leila Hakkakian (1), Eglantine Magnin (1), Ferechté Razavi (1), Sophie Thomas (18), Yves Ville (19), Philippe Roth (19), Bettina Bessieres (1), Fabienne Prieur (20), Maryse Bonnière (1), Tania Attie-Bitach (1, 12)

1. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Unité d'Embryofœtopathologie, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Laboratoire de Génétique, Assistance-Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Département de génétique, Université de Normandie, CHU de Caen Normandie, Caen, France
4. Département de génétique, CHU de Reims, Reims, France
5. Service d'anatomie et Cytologie Pathologique, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
6. Département de Pathologie, Université de Normandie, CHU de Caen Normandie, Caen, France
7. Département de génétique médicale, APHM, Hôpital de la Timone, Marseille, France
8. Service d'anatomie et Cytologie Pathologique, APHM, Hôpital de la Timone, Marseille, France
9. Service d'anatomopathologie, CHU Charles Nicolle - Rouen, Rouen, France
10. Département de génétique, centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génétique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
11. consultations de génétique, Groupe hospitalier du Havre, Le Havre, France
12. INSERM U1163, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France
13. Unité Médicale de Génétique Moléculaire, Institut de Biologie et Pathologie, CHU Grenoble Alpes, Université de Grenoble Alpes, Grenoble, France
14. Inserm, U1216, CHU Grenoble Alpes, Université de Grenoble Alpes, Grenoble, France
15. Département de Pathologie, CHU Robert-Debré, Reims, France
16. Plateforme Bioinformatique, INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
17. Plateforme de génomique, Inserm UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
18. INSERM U1163, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France
19. Service de Gynécologie-Obstétrique, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
20. Service de génétique, Hôpital Nord CHU St Etienne, Saint-Etienne, France

Mots clefs : Mégavessie fœtale, MMIHS

Résumé :

Le syndrome de mégavessie microcôlon hypopéristaltisme intestinal (MMIHS) est la cause la plus sévère de mégavessie par myopathie viscérale. Ce syndrome est caractérisé par une distension abdominale secondaire à la présence d'une vessie géante non obstruée, un microcôlon, et une diminution ou absence du péristaltisme intestinal. Le principal gène en cause identifié à ce jour est le gène *ACTG2*, à transmission autosomique dominante. Plus récemment, des formes récessives de MMIHS impliquant les gènes *MYH11*, *LMOD1*, *MYLK* et *MYL9* ont été décrites. L'identification de variations pathogènes dans ces gènes explique environ 80% des cas de MMIHS, et a permis d'identifier un mécanisme physiopathologique commun par défaut de la contraction des cellules musculaires lisses. Afin de définir le spectre mutationnel en prénatal, nous avons étudié neuf familles indépendantes, avec 14 individus (12 fœtus et 2 nouveau-nés) atteints de mégavessie et fortement suspects de MMIHS.

Le séquençage sanger du gène *ACTG2* a permis d'identifier la variation pathogène en cause dans cinq de ces familles. L'analyse des données de séquençage haut débit par exome chez les quatre familles restantes nous a permis de retrouver une cause moléculaire pour trois d'entre elle, dans 3 gènes. Dans une famille, nous avons mis en évidence une nouvelle variation non-sens homozygote chez 3 fœtus atteints issus d'un couple apparenté dans le gène *MYH11*. Dans une deuxième famille, les deux fœtus atteints issus de parents non apparentés présentent la même délétion homozygote de l'exon 4 du gène *MYL9* que la seule observation précédemment publiée. Un effet fondateur est possible. Dans la troisième famille, nous n'avons pas identifié de variations pathogènes dans les gènes connus du MMIHS, mais deux variations hétérozygotes composites dans le gène *PDCL3*, présentes chez deux fœtus atteints c.[143_144del];[380G > A], p.[(Tyr48Ter)]; [Cys127Tyr)]. L'analyse du transcrit réalisée par RT-PCR nous a permis de démontrer l'absence des deux transcrits mutants, entraînant la perte de fonction totale de la phosphoducin-like 3, protéine se liant au complexe CCT. Ce complexe est notamment connu pour son rôle dans le repliement de l'actine, étape essentielle pour la conformation de l'actine globulaire précédant l'étape de formation des filaments fins d'actine composant le muscle lisse. Dans une famille, la cause moléculaire n'a pu être identifiée par séquençage d'exome.

Au total, nous avons identifié la cause moléculaire dans huit familles sur neuf, cinq fois dans *ACTG2* d'hérédité dominante, et trois fois dans un gène récessif permettant d'affiner le conseil génétique aux couples. Nous avons identifié un gène fortement candidat par sa fonction conforme au mécanisme myogénique mis en évidence jusqu'à ce jour pour les gènes responsables de MMIHS.

CS25 : Anomalies du corps calleux anténatales associées à un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale : description neuropathologique et implication d'un nouveau gène

Auteurs :

Lucile Boutaud (1, 2), Benedetta Ruzzenente (3), Aude Tessier (4), Sarah Grotto (5), Naïma Talhi (6), Daniel Amram (7), Marjolaine Willems (8), Patricia Blanchet (9), Yuri Musizzano (10), Olivia Anselem (5), Clémence Jauny (11), Bettina Bessièrès (4), Houria Salhi (12), Amale Achaiaa (4), Férechti Razavi (4), Agnès Rötig (3), Laurence Loeuillet (4), Tania Attié-Bitach (13, 4)

1. Génétique et développement du cortex cérébral, Institut Imagine, Paris, France
2. Embryologie et génétique des malformations humaines, Institut Imagine, Paris, France
3. Génétique des maladies mitochondriales, Institut Imagine, Paris, France
4. Unité Fonctionnelle d'embryo-foetopathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Maternité Port Royal, Hôpital Cochin, Paris, France
6. Anatomie et cytologie pathologiques, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
7. Unité de génétique, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
8. Département de génétique médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
9. Unité de génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
10. Anatomie et cytologie pathologiques, CHU Montpellier, Montpellier, France
11. Maternité Port Royal, Hôpital Cochin, Paris, France
12. Unité Fonctionnelle d'embryo-foetopathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
13. Génétique et développement du cortex cérébral, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : Corps calleux, cytopathie mitochondriale, phénotype anténatal, neuropathologie

Résumé :

Un déficit primaire de la chaîne respiratoire mitochondriale est difficile à diagnostiquer chez le fœtus. Certains signes non spécifiques sont rapportés en prénatal comme le retard de croissance intra-utérin (22,6% Von Kleist-Retzow et al, 2003) ou une cardiomyopathie (Von Kleist-Retzow et al, 2003, Schiff et al 2011), mais les anomalies cérébrales et particulièrement les anomalies du corps calleux sont plus rarement décrites.

Nous rapportons ici 4 familles ayant subi une ou plusieurs interruptions médicales de grossesse devant une anomalie du corps calleux associée ou pas à d'autres anomalies cérébrales ou extra-cérébrales. Dans 2 familles, l'analyse par séquençage haut débit d'un panel de gènes impliqués dans les anomalies du corps calleux (Callosome) a permis l'identification de nouvelles mutations dans 2 gènes récessifs de maladies mitochondriales précédemment associées à des anomalies du corps calleux (*MRPS22* et *EARS2*). *MRPS22* code une petite sous-unité du ribosome mitochondrial et ses mutations sont responsables d'un déficit multiple de la chaîne respiratoire (COXPD5). *EARS2* code l'ARNt-glutamyl synthétase mitochondriale (mtGluR), et ses mutations sont associées à une leucoencéphalopathie et un déficit combiné de phosphorylation oxydative (COXPD12). Ces cas permettent de décrire pour la première fois le phénotype prénatal associé aux mutations de ces gènes. L'analyse par exome de 2 autres familles avec récurrence d'agénésie du corps calleux a permis l'identification de la même mutation à l'état homozygote du gène *TIMMDC1*. Ces 2 familles étant d'origine portugaise ceci évoque un effet fondateur. Le gène *TIMMDC1* code une protéine impliquée dans l'assemblage du complexe I de la chaîne respiratoire. Une seule mutation intronique profonde de ce gène a été rapportée chez plusieurs patients atteints de syndrome de Leigh (Kremer et al., 2017) mais jamais associée à des anomalies calleuses. Les analyses fonctionnelles ont montré un déficit isolé du complexe I de la chaîne respiratoire sur tissu musculaire comparé aux contrôles d'âge apparié.

Au total, nous rapportons 9 cas fœtaux de mutations des gènes *MRPS22*, *EARS2* ou *TIMMDC1* permettant de décrire le phénotype anténatal des cytopathies mitochondriales, et d'améliorer le diagnostic et le conseil génétique des anomalies du corps calleux.

Pièce jointe : Résumé assises L.Boutaud.pdf

CS26 : Les mutations dominantes dans le gène de maintien de l'ADN mitochondrial *SSBP1* causent une atrophie optique et une fovéopathie.

Auteurs :

Emmanuelle Sarzi (1), Camille Piro-Mégy (1), Aleix Tarrés-Solé (2), Marie Pequignot (1), Fenna Hensen (3), Mélanie Quiles (1), Gaël Manes (1), Arka Chakraborty (2), Audrey Sénéchal (1), Béatrice Bocquet (1), Chantal Cazeveille (1), Agathe Roubertie (1, 4), Agnès Müller (1, 5), Majida Sharif (6), David Goudenege (6), Guy Lenaers (6), Helmut Wilhelm (7), Ulrich Kellner (8), Nicole Weisschuh (9), Bernd Wissinger (9), Xavier Zanlonghui (10), Christian Hamel (1), Johannes Spelbrink (11), Maria Sola (2), Cécile Delettre (1)

1. Inserm U1051, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
2. Department of Structural Biology, IBMB-CSIC, Barcelona, Espagne
3. , Radboud Center For Mitochondrial Medicine, Nijmegen, Pays-Bas
4. Département de Neuropédiatrie, CHU Gui de Chaulliac, Montpellier, France
5. Laboratoire de Physiologie, Faculté de Pharmacie, Montpellier, France
6. Institut MitoVasc, Université d'Angers, Angers, France
7. University eye Hospital, University of Tübingen, Tübingen, Allemagne
8. Rare retinal disease center, MVZ Augenärztliches Diagnostikum Therapiezentrum Siegburg GmbH, Siegburg, Allemagne
9. Institute for Ophthalmic Research, University of Tübingen, Tübingen, Allemagne
10. Centre de Compétence Maladie Rares, Clinique Pluridisciplinaire Jules Verne, Nantes, France
11. Department of Paediatrics, Radboud Center For Mitochondrial Medicine, Nijmegen, Pays-Bas

Mots clefs : *SSBP1*, ADNmt, réplication, déplétion, atrophie optique, fovéopathie.

Résumé :

Les mutations dans les gènes codant pour les composants de la machinerie de réplication de l'ADN mitochondrial (ADNmt) provoquent des syndromes de déplétion de l'ADNmt (MDS), qui associent des atteintes oculaires à des syndromes neurologiques graves. Nous avons identifié des mutations faux-sens hétérozygotes dans le gène *SSBP1*, dans cinq familles non apparentées. Elles conduisent aux modifications des acides aminés R38Q et R107Q dans la protéine de liaison à l'ADN simple brin, protéine majeure de la réplication de l'ADNmt. Tous les individus atteints présentent une atrophie optique, associée à une fovéopathie dans la moitié des cas. Pour identifier les caractéristiques structurales sous-jacentes aux mutations *SSBP1*, nous avons déterminé une nouvelle structure cristalline révisée de *SSBP1*. L'analyse structurale suggère que les deux mutations affectent les interactions des dimères et faussent vraisemblablement la région de liaison à l'ADNmt. En utilisant des fibroblastes de patients, nous avons validé que le variant R38Q déstabilise la formation de dimères / tétramères *SSBP1*, affecte la réplication de l'ADNmt et induit une déplétion de ce génome. Notre étude montre que les mutations de *SSBP1* sont à l'origine d'une nouvelle forme d'atrophie optique dominante fréquemment accompagnée de fovéopathie et apporte de nouvelles informations sur les anomalies du maintien de l'ADNmt.

Pièce jointe : Abstract AGHM.docx

CS27 : POIKTMP (Poikilodermie héréditaire fibrosante avec Myopathie rétractile et Fibrose Pulmonaire) liée à des variations dans le gène FAM111B: un nouvel exemple d'oncogène impliqué dans une maladie constitutionnelle?

Auteurs :

Martin Broly (1), Anne Bigot (2), Virginie Vignard (3), Thomas Besnard (4), Véronique Blouin (5), Amandine Caillaud (3), Laurent David (6), Jamila Dhiab (2), Anne Gaignerie (6), Sébastien Küry (7, 3), Caroline Le Guiner (5), Marie Mooney (8), Negroni Elisa (2), Linda Poiraudau (5), Karim Si-Tayeb (3), Stéphane Bézieau (1, 3), Vincent Mouly (2), Erica Davis (9, 10), Sandra Mercier (7, 3)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Sorbonne Université, Myology Research Center, UM76 and INSERM U974, Institut de Myologie, Paris, France
3. L'institut du thorax, INSERM, CNRS, Université de Nantes, Nantes, France
4. CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Moléculaire, , Nantes, France
5. INSERM UMR 1089, Translational Gene Therapy for Genetic Diseases, Université de Nantes, Nantes, France
6. SFR-SANTE, iPSC core facility, INSERM, CNRS, Université de Nantes, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
8. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, NC, Etats-Unis
9. Advanced Center for Translational and Genetic Medicine (ACT-GeM), Stanley Manne Children's Research Institute, Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital of Chicago, Chicago, IL, Etats-Unis
10. Departments of Pediatrics and Cell and Molecular Biology, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, IL, Etats-Unis

Mots clefs : FAM111B, poikilodermie, myopathie, fibrose pulmonaire, oncogène, cycle cellulaire, cancer, insuffisance pancréatique, RNA-seq, souris, poisson zèbre

Résumé :

Le syndrome POIKTMP [MIM 615704] est une entité rare, décrite en 2013 par notre équipe, liée à des variants dans le gène *FAM111B* (NM_198947.3) de fonction jusqu'alors inconnue. Elle est caractérisée principalement par (i) une atteinte dermatologique : poikilodermie précoce, hypotrichose et hypohidrose, (ii) une myopathie rétractile, (iii) une atteinte pulmonaire : syndrome restrictif, fibrose pulmonaire, (iv) une atteinte pancréatique : insuffisance exocrine, prédisposition à l'adénocarcinome. L'examen histologique montre une atrophie musculaire avec infiltration graisseuse, sans plage de nécrose et un aspect sclérodermiforme de la peau. A ce jour, les 7 variants faux-sens pathogènes identifiés dans 14 familles (30 cas rapportés dont 10 cas sporadiques) sont localisés dans le domaine trypsine-like cystéine/serine peptidase de la protéine. Un mécanisme de gain de fonction ou de variation dominante négative induisant un changement de l'activité catalytique de FAM111B a été proposé.

Pour explorer l'impact fonctionnel des variants décrits, une analyse transcriptomique par RNA-seq a été réalisée à partir de fibroblastes de deux patients. Du fait d'un chevauchement phénotypique entre le syndrome de Rothmund Thompson (causé par des variations dans le gène *RECQL4*) et le syndrome POIKTMP, notre attention s'est d'abord portée sur les partenaires protéiques significativement sur- ou sous-régulés (p-value ajustée < 0.05) de FAM111B et RECQL4. Parmi ces partenaires, nous avons identifié un réseau moléculaire de 61 protéines toutes sur-régulées et impliquées dans les voies métaboliques de prolifération cellulaire ou de contrôle du cycle cellulaire, ce qui est concordant avec (i) la forte expression de FAM111B en phase S du cycle cellulaire, et (ii) le caractère oncogène potentiel de FAM111B, cible directe de P53, qui ont été récemment décrits. Ces voies sont en cours d'étude sur cellules souches de patients de type iPSC (induced Pluripotent Stem Cells) permettant le monitoring *in vitro* de leur comportement. D'autre part, des analyses protéomiques haut débit sont en cours afin de confirmer les résultats obtenus par l'analyse RNA-seq et déterminer si un marqueur diagnostique de la maladie peut être identifié. En parallèle, des études sur modèle animal ont été menées en injectant le transcrit humain muté de *FAM111B* dans des embryons de poisson-zèbre et chez des souris Rag2^{-/-} Il2rb^{-/-}. Malgré l'absence d'orthologue dans ces deux espèces, nous avons observé une réduction du calibre de la fibre musculaire chez le poisson-zèbre et des signes majeurs de régénération musculaire à 1 mois et 3 mois post-injection dans le tibia antérieur chez la souris.

Finalement, ces données nous confortent vers un rôle essentiel de FAM111B au cours du cycle cellulaire et d'un gain de fonction dans le syndrome POIKTMP. Des pistes thérapeutiques sont envisagées notamment l'association aspirine-metformine qui pourrait réduire l'expression de FAM111B et améliorer le phénotype des patients.

CS28 : Compound heterozygous mutations in the LOXL4 gene: a novel cause of contractural myopathy

Auteurs :

Enzo Cohen (1), Isabelle Nelson (1), Corine Gartioux (1), Maud Beuvin (1), Zaineb Mezdari (1), Fanny Roth (1), Rabah Ben Yaou (1, 2), Susana Quijano-Roy (3, 4), Tanya Stojkovic (1, 5), Robert-Yves Carlier (6), Valérie Allamand (1), Gisèle Bonne (1)

1. Sorbonne Université, Inserm UMRS974, Centre de Recherche en Myologie, Institut de Myologie, Paris, France
2. APHP, Centre de référence de pathologie neuromusculaire, FILNEMUS, Institut de Myologie, Département de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. APHP, Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, Service de Neurologie, Réanimation et Rééducation Pédiatriques, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France
4. Inserm UMR 1179, Université Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, Montigny-le-Bretonneux, France
5. APHP, Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, Service de Neurologie, Réanimation et Rééducation Pédiatriques, Centre de Recherche en Myologie, Institut de Myologie, Paris, France
6. APHP, Medical Imaging Department, Raymond Poincaré teaching Hospital, Garches, GHU Université Paris-Saclay, U1179 UVSQ, Paris-Saclay, France

Mots clefs : extracellular matrix, contractural myopathy, collagen, lysyl-oxidase, cellular models

Résumé :

Joint contractures are recurrent and sometimes prominent features in neuromuscular disorder, most notably in extracellular matrix (ECM)-related myopathies, such as COL6-related muscle disorders. Here, we report a patient with an atypical clinical presentation of congenital arthrogryposis, associated with distal hyperlaxity, proximal muscle deficit, lack of facial expression, dysphonia, dysphagia, oculo-motor anomalies, dorsal kyphosis, lordosis and preserved respiratory function. Immunostaining of skin-derived fibroblasts demonstrated a subtle impairment of COLVI secretion, with no mutation in the *COL6A1-3* genes identified. Accordingly, whole body MRI was performed at 15, 21 and 24 years of age and remained quite normal without any COL6-RD-compatible pattern. Using whole-exome sequencing analysis, we ruled out the implication of any known myopathy-associated gene. Interestingly, we identified compound heterozygous missense variants (c.1747 C > T; p.Arg583Cys and c.1789 C > T; p.Arg597Cys) in the *LOXL4* gene encoding lysyl oxidase-like 4.

LOXL4 is a member of the LOX protein family, which are secreted copper-dependent amine oxidases that catalyse collagen and elastin cross-linking. Together with collagens, LOXs proteins participate in ECM synthesis and maintenance in a tissue-specific manner. Both rare variants identified alter residues of the highly conserved LOX catalytic domain and are predicted as deleterious. Additionally, transient expression of each variant in cell lines and human primary fibroblasts, impeded LOXL4 secretion into the medium. Furthermore, our data suggest that variant-derived protein accumulation in the cytoplasm could trigger the unfolded protein response, likely through IRE1/PERK pathways. Taken together, our results provide reasonable evidence toward the pathogenicity of these variants as a direct cause of genetic connective tissue disorder.

CS29 : Une nouvelle glycogénose musculaire causée par une mutation dominante dans le gène de la myophosphorylase (PYGM)

Auteurs :

Andoni Echaniz-Laguna (1), Xavière Lornage (2), Evelina Edelweiss (2), Pascal Laforet (3), John Vissing (4), Jocelyn Laporte (2), Johann Böhm (2)

1. Service de neurologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France, Paris, France

2. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), Inserm U1258, CNRS UMR7104, Université de Strasbourg, Illkirch, France, Strasbourg, France

3. Service de Neurologie, centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, Paris, France

4. Copenhagen Neuromuscular Center, Rigshospitalet, University of Copenhagen, Denmark, Copenhagen, Denmark

Mots clefs : glycogénose, myophosphorylase, myopathie

Résumé :

Glycogen synthesis and breakdown are regulated by a subset of enzymes, and impaired enzymatic reactions in the cytosol or in the lysosomes result in severe disorders referred to as glycogen storage diseases (GSD). All previously described human GSDs segregate as recessive or X-linked traits. Here we describe a GSD family with thirteen affected members and a dominant disease transmission over four generations. The affected individuals presented with adult-onset proximal muscle weakness, and the biopsies showed fiber size variability, vacuoles, and especially glycogen accumulations. Exome sequencing uncovered the heterozygous c.1915G > C (p.Asp639His) mutation in *PYGM*, encoding myophosphorylase. Recessive *PYGM* mutations leading to myophosphorylase deficiency cause McArdle disease, the most common GSD. However, western blot revealed comparable myophosphorylase levels in muscles from our patients and from control, demonstrating that the p.Asp639His mutation does not interfere with mRNA or protein stability and consequently involves a different pathomechanism than McArdle disease. Myophosphorylase immunolocalization on muscle sections from our patients uncovered aggregations of myophosphorylase and sequestration of desmin within the myofibers. To investigate the functional impact of the p.Asp639His mutation, we produced recombinant WT and mutant myophosphorylase. Sedimentation velocity experiments demonstrated an increased propensity of mutant myophosphorylase to form higher-order polymers, highlighted a disparity in the tetrameric forms of WT and mutant myophosphorylase, and enzymatic tests revealed an impaired activity of the p.Asp639His myophosphorylase. Overall, the dominant *PYGM* mutation involves a different pathomechanism than McArdle disease and defines a novel class of GSDs.

CS30 : Nouveautés diagnostiques et thérapeutiques dans le déficit en transporteur du glucose GLUT1

Auteurs :

Camille Giron (1), Elodie Hainque (2), Domitille Gras (3), Aurélie Meneret (4), Mathilde Lalaude (5), Mariana Atencio (5), Manon Nizou (6), Sandrine Vuillaumier (7), Marie-Pierre Luton (5), Emmanuel Roze (2), Fanny Mochel (8)

1. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
2. Département des Maladies du Système Nerveux, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Département des Maladies du Système Nerveux, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
5. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
6. Metafora Biosystems, Metafora Biosystems, Evry, France
7. Laboratoire de Biochimie et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
8. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Glut1; épilepsie; biomarqueur; thérapie

Résumé :

Le déficit en transporteur du glucose GLUT1 (GLUT1-DS) est responsable d'une carence énergétique cérébrale due à une altération du transport du glucose dans le cerveau. GLUT1-DS se manifeste par un large spectre de symptômes neurologiques dont une déficience intellectuelle, une épilepsie et des troubles moteurs permanents et/ou paroxystiques. Le diagnostic repose sur une ponction lombaire (hypoglycorrachie) et la présence d'un variant (souvent faux-sens *de novo*) du gène *SLC2A1*. Le diagnostic est d'autant important que GLUT1-DS est traitable. Classiquement, le régime cétogène permet un bon contrôle des crises d'épilepsie et dans une moindre mesure des mouvements anormaux.

Du fait de nombreuses formes atypiques de la maladie (épilepsie ou déficience ou mouvement anormal isolé), du caractère invasif de la ponction lombaire, et de l'interprétation parfois difficile des variants *SLC2A1*, nous avons développé un test sanguin (MetaGlut) non invasif, simple et rapide, permettant de détecter la quantité de protéine Glut1 à la surface des érythrocytes. Dans une première étude chez 30 patients GLUT1-DS, nous avons montré que 23 patients (78%) étaient détectés par le test MetaGlut (Gras et al, Ann Neurol 2017). Nous présentons ici les résultats de la performance du test MetaGlut dans une nouvelle cohorte de 48 patients GLUT1-DS : 42 patients (87,5%) sont détectés, dont 4 patients avec une analyse génétique non contributive.

Compte tenu des difficultés d'observance du régime cétogène au long cours, en particulier chez les adolescents et les adultes, nous avons testé l'efficacité d'une intervention thérapeutique par la triheptanoïne. Il s'agit d'un triglycéride à chaîne moyenne mais nombre impair de carbones, apportant à la fois de l'acetyl-CoA mais également du propionyl-CoA au cycle de Krebs. Dans une première étude chez des patients GLUT1-DS présentant des mouvements anormaux paroxystiques après échec ou refus du régime cétogène, nous avons observé une diminution de 90% des épisodes paroxystiques après 2 mois de traitement par triheptanoïne (Mochel et al, J Neurol Neurosurg Psychiatry 2016). Nous présentons ici l'évolution à long terme de ces patients traités depuis plus de trois ans par triheptanoïne avec une réponse thérapeutique de 97% sur les épisodes paroxystiques. Nous présentons également une série de 4 patients GLUT1-DS, traités par régime cétogène mais présentant des manifestations paroxystiques résiduelles, chez qui le régime cétogène a été progressivement arrêté et remplacé par la triheptanoïne. Chez 3 patients, la transition a été possible et a permis un meilleur contrôle des mouvements anormaux paroxystiques.

En conclusion, nous proposons de réaliser un test MetaGlut chez tout patient présentant une déficience intellectuelle, une épilepsie, un syndrome cérébelleux, une dystonie et/ou des mouvements anormaux paroxystiques. La triheptanoïne est par ailleurs une alternative thérapeutique au régime cétogène chez les patients GLUT1-DS.

Pièce jointe : Abstract Assises Génétique Tours.docx

CS31 : Intérêt théranostique de la réalisation d'un exome et du séquençage de l'ARNm à visée pour les patients porteurs de tumeurs solides : expérience de la RCP moléculaire de l'APHP

Auteurs :

Geraldine PERKINS (1), Gimenez-Roqueplo Anne-Paule (1), Hélène Blons (2), Karen Leroy (3), Vincent Fallet (4), Valerie Gounant (5), Fabre Elizabeth (6), Julien Taieb (7), Nadia Younan (8), Mehdi Touat (8), Marc Sanson (8), Jerome Alexandre (9), Pascaline Boudou-Rouquette (9), Guillaume Assié (10), Jacques Medioni (11), Martine Antoine (12), Laure Gibault (13), Audrey Mansuet-Lupo (14), Nelly Burnichon (15), Florence Coulet (16), Patrick Benusiglio (17), Roger Lacave (18), Simon Garinet (19), Delphine Le Corre (20), Birot Anne-Marie (1), Lahlou-Laforet Khadija (21), Jacques Cadranel (4), Pierre Laurent-Puig (19)

1. Oncogénétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Pharmacogénétique et Oncologie Moléculaire, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Biologie moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
4. pneumologie, Hôpital Tenon, Paris, France
5. Oncologie thoracique, Hôpital Bichat, Paris, France
6. Oncologie thoracique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
7. Oncologie digestive, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
8. Neurologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Oncologie médicale, Hôpital Cochin, Paris, France
10. Endocrinologie, Hôpital Cochin, Paris, France
11. Oncologie médicale, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
12. Anatomopathologie, Hôpital Tenon, Paris, France
13. Anatomopathologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
14. Anatomopathologie, Hôpital Cochin, Paris, France
15. génétique biologique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
16. ontogénétique moléculaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
17. Oncogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
18. Biologie moléculaire, Hôpital Tenon, Paris, France
19. Biologie moléculaire, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
20. INSERM 1147, Université Paris Descartes, Paris, France
21. Psychologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France

Mots clefs : RCP moléculaire; théranostique; exome; séquençage de l'ARNm

Résumé :

Depuis 2014, les dossiers des patients atteints de tumeurs solides en échec thérapeutique sont présentés à la RCP moléculaire de l'APHP (comité multidisciplinaire multi site) afin de discuter l'indication d'une analyse moléculaire étendue (séquençage de l'exome et de l'ARNm : RNAseq) à visée théranostique. Les analyses sont financées par deux programmes du Cancéropôle Ile-de-France, dont le programme EXORARE pour les tumeurs rares. Lorsque l'indication est posée, les patients sont rapidement vus en consultation d'oncogénétique pour une information, portant notamment sur les données incidentes. L'analyse de l'ADN constitutionnel a été réalisée à partir d'un prélèvement sanguin, de l'ADN tumoral à partir de tumeurs congelées ou incluses en paraffine, de l'ARNm tumoral à partir de tumeurs congelées.

Un total de 328 dossiers a été discuté entre septembre 2014 et septembre 2019. Cent-vingt-cinq dossiers ont été retenus. L'analyse moléculaire a été réalisée chez 109 d'entre eux. Les raisons de l'absence d'analyse étaient une qualité insuffisante du matériel tumoral (9 cas) et une dégradation clinique rapide (3 cas). Quatre résultats sont en attente. 48 tumeurs pulmonaires, 19 tumeurs coliques, 19 tumeurs cérébrales, 12 sarcomes et 11 autres tumeurs rares ont été analysées. 107 tumeurs congelées ont été analysées par exome et RNAseq. 10 tumeurs incluses en paraffine ont été analysées par exome seul. Le délai médian de rendu des résultats est de 21 jours, après réception des acides nucléiques sur la plateforme de séquençage.

Des altérations ciblables ont été identifiées dans 81 tumeurs. Les voies de signalisation impliquées étaient les voies HER/RAS/MAPK ou PTEN/PI3K/AKT/STK1, le remodelage de la chromatine ARID1A/ARID2/EZH2, la réparation de l'ADN ATR/ATR/ATM/BRCA1/BRCA2. Quatre réarrangements chromosomiques (gènes de fusion) ciblables impliquant *RET*, *ROS1*, *RAF1* ou *NRG1* ont été identifiés. Au total, 16 patients ont pu bénéficier d'une thérapie ciblée dont 8 dans le cadre d'un essai thérapeutique. Deux diagnostics (mélanome, sarcome d'Ewing) ont été précisés par le résultat moléculaire. Une mutation constitutionnelle a été identifiée chez 11 patients.

Le bilan de cette RCP moléculaire montre la faisabilité de cette approche en diagnostic et son intérêt dans des cas sélectionnés pour l'identification de nouvelles options thérapeutiques.

**CS32 : Etude des gènes de réparation de l'ADN par recombinaison homologue dans le cancer de la prostate à des fins
d'orientation thérapeutique : retour d'expérience sur 148 Patients**

Auteurs :

Etienne Muller (1), Nicolas Goardon (1), Angéline Legros (2), Robin Fouillet (2), Aude Lamy (3), Julien Levilly (4), Aurore Tranchant (2), Florian Domin (2), Imene Chentli (1), Elodie Coquan (5), Thibaut Lavolé (1), Alexandre Atkinson (1), Agathe Ricou (1), Sophie Krieger (6), Laurent Castéra (1), 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. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
3. Laboratoire de génétique du cancer, département de Pathologie, CHU, Rouen, France
4. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, Centre François Baclesse, Caen, France
5. Service de recherche Clinique, Centre François Baclesse, Caen, France
6. 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

Mots clefs : tumeurs, prostate, recombinaison homologue, BRCAness, essais clinique, PARPi

Résumé :

Le cancer de la prostate apparaît comme le cancer le plus fréquent chez l'homme, représentant plus de 23% des cas de cancer. Malgré une baisse globale de son incidence et de la mortalité, son évolution métastatique et résistante à la castration (mCRPC : metastatic castration-resistant prostate cancer) est associée à un taux de survie à 5 ans de l'ordre de 31%. La caractérisation moléculaire des mCRPC a pu montrer que jusqu'à 30% de ces cancers présentent des variants pathogènes dans les gènes de réparation à l'ADN, dont ceux participant à la recombinaison homologue, principalement représentés par les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Ces variants confèrent une sensibilité à une classe récente de thérapies ciblées que sont les inhibiteurs de PARP. Ces molécules, aujourd'hui d'utilisation courante dans le traitement de maintien des cancers de l'ovaire, semblent aussi efficaces dans les mCRPC « BRCA-déficients ». Des études récentes telle que l'essai PROFound dans le mCRPC suggèrent que l'inactivation d'autres gènes participant à la recombinaison homologue peuvent aussi conférer une sensibilité aux inhibiteurs de PARP.

Dans ce contexte, le Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer du Centre François Baclesse a développé en 2017 une analyse des défauts de réparation à l'ADN par séquençage à haut-débit, sur un panel de 69 gènes participant majoritairement à la recombinaison homologue. A ce jour, 148 patients atteints d'un mCRPC ont bénéficié de cette analyse afin de permettre leur inclusion dans des essais cliniques. Pour 42% des patients analysés, un variant pathogène a pu être identifié. 4% des patients possédaient un variant des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, mais aussi 9,5% sur *ATM*, 5,4% sur *CDK12* ou encore 2,7% sur *CHEK2* ou *PALB2*. D'autres voies de signalisation avec un intérêt thérapeutique potentiel ont aussi été explorées. Ainsi, des variants pathogènes de *PTEN* ont pu être identifiés chez 10% des patients, et chez 6,7% concernant *PIK3CA*. Enfin, 13% des analyses se sont révélées non interprétables, majoritairement en raison d'une quantité d'ADN trop faible pour pouvoir réaliser une analyse de qualité. En considérant tous les gènes de notre panel impliqués dans la recombinaison homologue, la proportion de patients possédant un variant pathogène atteint 20%, pouvant permettre une orientation thérapeutique vers les inhibiteurs de PARP. D'autre part, 17% des patients possédaient un variant pathogène sur les gènes de la voie PI3K/AKT/mTOR, ouvrant aussi l'accès potentiel à des thérapies ciblées autres.

L'élargissement de l'exploration des cibles moléculaires actionnables dans le mCRPC pourrait ainsi, en concordance avec les résultats des essais cliniques récents, permettre à une proportion importante des patients de bénéficier de possibilités thérapeutiques les plus adaptées.

Pièce jointe : Abstract_Assises2019_BRCAness_V3.docx

CS33 : Profil génétique des carcinomes rénaux à cellules chromophobes et caractérisation immunohistochimique de l'implication de la voie de signalisation mTOR dans leur tumorigenèse.

Auteurs :

Aurélien Morini (1, 2), Tom Drossart (2), Marc-Olivier Timsit (3, 2), Arnaud Mejean (4), Constance Thibault (5, 2), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (6, 2), Judith Favier (2), Virginie Verkarre (1, 2), Nelly Burnichon (6, 2)

1. Laboratoire de Pathologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. INSERM, Equipe Labellisée par la Ligue contre le Cancer, PARCC, Université Paris, Paris, France
3. Service d'Urologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
4. Service d'Urologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Service d'Oncologie, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
6. Laboratoire de Génétique, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP.Centre), Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Mots clefs : Carcinomes rénaux à cellules chromophobes, séquençage NGS, validation immunohistochimique, Tissue MicroArray, voie mTOR

Résumé :

Introduction :

Les Carcinomes Rénaux à Cellules Chromophobes (ChRCC) sont des tumeurs rares, représentant 5 à 10 % des tumeurs du rein. Leur profil génétique est peu connu mais l'étude du TCGA de 2014 avait notamment retrouvé des altérations génétiques somatiques au sein de gènes codant pour des protéines impliquées dans la voie de signalisation mTOR. L'objectif de notre étude était d'effectuer une caractérisation génétique précise d'une cohorte de ChRCC, complétée par un phénotypage immunohistochimique, tout en clarifiant le rôle de la voie mTOR.

Matériel et méthodes :

A partir d'une cohorte monocentrique rétrospective de 247 cas ChRCC, opérés dans les hôpitaux Necker et Georges Pompidou (Paris) entre 2001 et 2018, nous avons sélectionné 20 cas représentatifs de ChRCC non métastatiques, pour lesquels leurs profils génétiques et immunohistochimiques ont été étudiés.

Nous avons réalisé l'étude génétique somatique (ADNs tumoraux extraits de fragments congelés) et constitutionnelle (ADNs leucocytaires) par séquençage nouvelle génération. Nous avons utilisé un panel maison (SeqCap EZ HyperCap, Roche®) ciblé de 29 gènes incluant les gènes de prédisposition aux tumeurs du rein et de la tumorigenèse rénale comprenant *FLCN*, *PTEN*, *TP53*, *TSC1*, *TSC2* et *MTOR*. Un bloc de Tissue MicroArray (TMA) a été construit, regroupant 40 échantillons (fixés en formol et inclus en paraffine) des 20 tumeurs (2 par tumeur) avec leur tissu rénal sain correspondant. Nous avons effectué l'étude immunohistochimique avec des anticorps ciblant les protéines pour lesquelles des altérations génétiques avaient été identifiées ainsi que Akt, Akt-P, p70S6K, p70S6K-P et 4EBP1-P, protéines de la voie de signalisation mTOR. Le marquage a été évalué à l'aide d'un H-score (intensité (de 0 à +3) multipliée par le pourcentage de cellules marquées).

Résultats :

Six variations d'intérêt ont été identifiées au niveau somatique (5 sur le gène *TP53* et une sur *MTOR*) ainsi qu'une variation constitutionnelle du gène *TSC2*. L'immunomarquage de la protéine TP53 n'a pas permis de discriminer les tumeurs mutées des autres tumeurs. En revanche, les 2 tumeurs porteuses d'une altération génétique dans la voie mTOR, présentaient un marquage fort des protéines ciblant cette voie, comparativement au tissu rénal sain, et aux 18 autres tumeurs, où le marquage était faible ou absent.

Conclusion :

Les mutations du gène *TP53* sont les plus fréquemment impliquées dans la tumorigenèse des ChRCC, mais non prédictibles par une étude immunohistochimique. En revanche, il existe une excellente corrélation entre l'expression immunohistochimique des protéines Akt, Akt-P, p70S6K, p70S6K-P et 4EBP1-P, et les altérations génétiques de la voie mTOR. Une étude plus large, portant sur l'ensemble de la cohorte et incluant des formes métastatiques de ChRCC, est en cours, ce qui pourrait permettre de mieux évaluer l'impact d'altérations dans la voie mTOR comme marqueurs pronostics et prédictifs chez les patients atteints de ChRCC.

CS34 : Evaluation multicentrique en « vraie vie » de l'impact du séquençage haut débit sur la prise en charge des patients atteints d'hémopathie maligne myéloïde.

Auteurs :

Sophie Vantighem (1), Pierre Peterlin (2), Sylvain Thépot (3), Audrey Ménard (1), Viviane Dubruille (2), Camille Debord (1), Thierry Guillaume (2), Soraya Willeme (1), Amandine Le Bourgeois (2), Alice Garnier (2), Catherine Godon (1), Olivier Theisen (1), Marion Eveillard (1), Jacques Delaunay (4), Hervé Maisonneuve (5), Nadine Morineau (5), Bruno Villemagne (5), Stéphane Vigouroux (5), François Subiger (6), Elsa Lestang (7), Marion Loirat (7), Anne Parcelier (8), Pascal Godmer (8), Mélanie Mercier (8), Adrien Trebouet (9), Lenaig Le Clech (10), Ronan Le Calloch (10), Céline Bossard (11), Anne Moreau (11), Valérie Ugo (12), Mathilde Hunault (3), Philippe Moreau (2), Steven Le Gouill (2), Patrice Chevallier (2), Marie C Béné (13), Yannick Le Bris (13, 14)

1. Hématologie biologie, CHU Nantes, Nantes, France
2. Hématologie clinique, CHU Nantes, Nantes, France
3. Hématologie clinique, CHU Angers, Angers, France
4. Hématologie clinique, Goupe Confluent, Nantes, France
5. Hématologie clinique, CHD Vendée, La Roche S/ Yon, France
6. Hématologie biologie, CHD Vendée, La RocheS/ Yon, France
7. Hématologie clinique, CH St Nazaire, St Nazaire, France
8. Hématologie clinique, CH Vannes, Vannes, France
9. Hématologie clinique, CH Lorient, Lorient, France
10. Hématologie clinique, CH Quimper, Quimper, France
11. Anatomopathologie, CHU Nantes, Nantes, France
12. Hématologie biologie, CHU Angers, Angers, France
13. Hématologie Biologique, CHU de Nantes, Nantes, France
14. CRCNA, UMR1232, INSERM, Nantes, France

Mots clefs : NGS myélodysplasie syndrome myéloprolifératif

Résumé :

Le développement du séquençage haut-débit (*next generation sequencing*, NGS) a permis d'améliorer la connaissance du paysage génomique des hémopathies malignes. Les nouveaux biomarqueurs que sont les mutations somatiques (MS) n'ont cependant pas encore trouvé leur place dans la stratégie diagnostique et thérapeutique. Cette étude observationnelle multicentrique a évalué l'impact des MS détectées en NGS sur la prise en charge des hémopathies myéloïdes chroniques (HMC).

Tous les patients ayant bénéficié d'une étude moléculaire, prescrite en réunion de concertation pluridisciplinaire, entre Octobre 2014 et Mars 2019 ont été inclus. Un panel de 34 gènes a été appliqué à l'analyse d'ADN de sang périphérique ou de moelle osseuse selon une méthode Haloplex avec la technologie MiSeq Illumina.

Dans un premier groupe (A, N=94) cette analyse visait à la recherche d'une hématoïèse clonale (HC) pour confirmer ou infirmer un diagnostic d'ICUS (Idiopathic Cytopenia of Undetermined Significance) ou CCUS (*Clonal Cytopenia of Undetermined Significance*, N=37) de syndrome myélodysplasique (SMD) de syndrome mixte MDS/NMP(N=16), d'anémie réfractaire (N=16) ou de néoplasie myéloproliférative (NMP, N=25) sur la base des recommandations OMS. Dans un second groupe (B), le but était de mesurer l'impact thérapeutique des MS en fonction des données de la littérature.

Au sein du groupe A (N=94), les anomalies principales étaient des cytopénies (68%), une thrombocytose (16%) ou une monocytose (13%). Un caryotype normal avait été retrouvé pour 77% des patients et était non informatif pour 5%. Une HC a été observée chez 31 patients, confirmant un diagnostic de HMC. A l'inverse, l'absence d'HC (N=63) a permis d'exclure l'hypothèse diagnostique initiale dans 50% des cas, tandis qu'aucune information décisive n'était apportée pour 16 patients.

Au sein du groupe B (N=95), des MS pronostiques ont été retrouvées pour 33% des patients, de mauvais pronostic pour 24 d'entre eux. Ces observations ont eu un impact thérapeutique pour 18 patients, avec une greffe de cellules souches hématopoïétiques pour 12 et l'initiation d'un traitement par agent déméthylant pour 1. A l'inverse, une désescalade a pu être proposée à 5 patients avec des marqueurs de bon pronostic ou l'absence de marqueurs de mauvais pronostic.

Au total, l'utilisation du NGS, de façon raisonnée après décision collective, a conduit dans cette étude de vie réelle à l'obtention d'un diagnostic intégré formel dans 83% des cas pour le groupe de patients étudiés à visée diagnostique, avec 33% de confirmation et 50% d'exclusion de l'hypothèse initiale. Il est critique de considérer ces analyses en séquençage haut débit dans le contexte des autres explorations. De plus, dans la cohorte à visée thérapeutique, les résultats du NGS ont conduit à une modification de la prise en charge du patient dans 19% des cas, toujours en prenant en compte l'ensemble des données cliniques et biologiques de chaque patient.

Pièce jointe : Assises 2020.docx

CS35 : Données cliniques et moléculaires issues de la base de données du consortium européen "Care for CMMRD" à propos de 88 patients CMMRD (constitutional mismatch repair deficiency) : discussion des aspects digestifs et du chevauchement phénotypique avec le s

Auteurs :

Chrystelle Colas (1), Hélène Delhomelle (2), Marine Le Mentec (1), Bruno Buecher (1), Jérôme Viala (3), Edouard Cottereau (4), Delphine Bonnet (5), Thierry Frébourg (6), Laurence Faivre (7), Sophie Lejeune (8), Natacha Entz-Werle (9), Julie Tinat (10), Françoise Desseigne (11), Dominique Leroux (12), Arnault Verschuur (13), Nicolas Janin (14), Christine Devalck (15), Sheila Unger (16), Amal Benmoussa (17), Edita Kabickova (18), Maurizio Genuardi (19), Daniel Rueda (20), Yael Goldberg (21), Zohar Levi (22), Clara Ruiz Ponte (23), Danuta Januszkiewicz-Lewandowska (24), Martine Muléris (25), Katharina Wimmer (26), Hans Vasen (27), Laurence Brugières (28)

1. Département de Génétique, PSL Research University, Institut Curie, PARIS, France
2. Département de Génétique, PSL Research University, Institut Curie, Saint Cloud, France
3. Service de Gastro-entérologie et Nutrition Pédiatrique, Hôpital Universitaire Robert-Debré. APHP, PARIS, France
4. Oncogénétique, CHRU Trousseau, Tours, France
5. Gastroentérologie, CHU Purpan, Toulouse, France
6. Département de Génétique et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, , , CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
7. Génétique Médicale, CHU Dijon Bourgogne,, Dijon, France
8. Service de génétique clinique, CHRU Lille, Lille, France
9. Oncopédiatrie, Les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg,, Strasbourg, France
10. Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Oncogénétique, Centre Léon Berard, , Lyon, France
12. Génétique, CHU, Grenoble,, Grenoble, France
13. Oncopédiatrie, Hôpital de la Timone, Marseille, France
14. Génétique, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique
15. HUDERF, ULB, Bruxelles, Belgique
16. Génétique, Centre hospitalier universitaire vaudois, Lausanne, Suisse
17. Génétique, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc
18. Génétique, University Hospital, Prague, République tchèque
19. Génétique, Policlinico Universitario A. Gemelli,, Rome, Italie
20. Génétique, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Espagne
21. Recanati institute of genetics, Rabin Medical Center, Petah Tikva, Israël
22. Gastroenterology Institute, Rabin Medical Center, Petah Tikva, Israël
23. Génétique, Fundacion Pública Galega de Medicina Xenomica, Santiago Compostela, Espagne
24. Department of Pediatric Oncology, Hematology and Bone Marrow Transplantation, Poznań University of Medical Sciences, Poznań, Pologne
25. INSERM U938, Pierre et Marie Curie University, PARIS, France
26. Génétique, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Autriche
27. Gastroenterology, Leiden University Medical Centre, Leiden, Pays-Bas
28. Oncopédiatrie, Gustave Roussy cancer campus, Villejuif, France

Mots clefs : CMMRD, Cancers digestifs, Adénomes, base de donnée, C4CMMRD, Syndrome de Lynch

Résumé :

Le syndrome CMMRD (Constitutional Mismatch Repair Deficiency), dû à des mutations bialléliques constitutionnelles dans un des 4 gènes MMR, est caractérisé par des tumeurs multiples et précoces qui incluent des tumeurs du spectre du syndrome de Lynch. A partir des données de la base européenne du consortium Care For CMMRD (C4CMMRD) nous rapportons la présentation clinique et moléculaire de 88 patients CMMRD avec une description plus particulièrement ciblée sur les aspects digestifs.

Parmi les 156 tumeurs développées par ces patients, on note 39 cancers digestifs, principalement, mais pas exclusivement, au niveau colorectal. Ces cancers sont rapportés chez 28 patients avec un âge médian de 17,5 ans (7-33). Ce type de cancer était la première manifestation de la maladie pour 14 patients et la cause de décès pour 7 patients. Toutes les tumeurs digestives analysées, sauf deux, présentaient une instabilité des microsatellites et toutes, sauf une, une immunohistochimie anormale dans la tumeur. Seulement la moitié d'entre elles présentaient également une perte en tissu sain. Nous disposons des données endoscopiques pour 33 patients. Des adénomes coliques sont rapportés chez tous sauf un, le plus jeune à l'âge de 9 ans. Plus de la moitié de ces patients avait des adénomes multiples (> 10) et tous au moins un adénome avancé. Enfin certaines situations cliniques illustrent un chevauchement phénotypique entre le syndrome CMMRD et le syndrome de Lynch qui peut compliquer le diagnostic.

En conclusion, les patients CMMRD ont une atteinte sévère y compris au niveau digestif avec de multiples adénomes et des cancers précoces à la fois au niveau colique mais aussi sur le reste du tube digestif. Un dépistage précoce et intensif de ces lésions est nécessaire car leur résection permettrait d'éviter leur dégénérescence. Des recommandations de surveillance ont été publiées par le consortium C4CMMRD en 2014 et sont en cours d'évaluation. Le continuum clinique entre syndrome CMMRD et syndrome de Lynch suggère un continuum moléculaire dont le mécanisme est encore en cours d'exploration.

CS36 : Apports des Unique Molecular Index pour la détection de mosaïque germinale par NGS : retour d'expérience dans la néoplasie endocrinienne multiple de type 1.

Auteurs :

Arnaud Lagarde (1, 2), Amira Mohamed (2), Antoine Tabarin (3), Catherine Roche (2), Brigitte Delemer (4), Anne Barlier (1, 2), Pauline Romanet (1, 2)

1. MMG, Aix Marseille Univ, INSERM, Marseille, France
2. Laboratoire de biologie moléculaire, hôpital de La Conception, Marseille, France
3. Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Maladies Métaboliques, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service d'Endocrinologie-Diabète-Nutrition, Hôpital Robert Debré, Reims, France

Mots clefs : mosaïcisme, digital-NGS, NEM1, UMI, MEN1

Résumé :

La néoplasie endocrinienne multiple (NEM1) est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante, due à des anomalies du gène *MEN1*, qui se caractérise par l'association de plusieurs lésions du système endocrines : hyperparathyroïdie (HPT, 90-95%), tumeurs neuroendocrines digestives (TNED, 30-70%), adénomes hypophysaires (HYP, 30-40%), parfois associées à des lésions dites mineures : adénomes surrénaliens, tumeurs carcinoïdes, thymomes ... (1,2). Les analyses constitutionnelles classiques, séquençage et MLPA, sont positives chez plus 90% des patients présentant une NEM1 cliniquement bien authentifiée (1). Quelques cas de mosaïcisme ont été décrits pour le gène *MEN1*, principalement mis en évidence lors de la transmission de la maladie à la descendance (3-5). L'utilisation d'une librairie ciblée QIAseq Targeted DNA Panels (Qiagen) incluant des UMIs (unique molecular index), permet de descendre le seuil de détection des mutations de faible fréquence allélique (FA) en éliminant les erreurs de séquençage. Les UMIs sont constitués de séquences uniques aléatoires (4^{12} possibilités) permettant d'identifier les copies générées à partir d'un même fragment d'ADN au cours des étapes de PCR. Un traitement bio-informatique spécifique avec le logiciel CLC Genomics Workbench (Qiagen) permet de dissocier les reads uniques (ou singleton) des duplicats de PCR, en éliminant les discordances au sein des duplicats de PCR.

Au cours de notre activité de diagnostic, nous avons ainsi mis en évidence 3 variants pathogènes en mosaïque chez des patients atteints de NEM1 (séquençage sur MiseqDx (Illumina)) dont l'analyse par séquençage Sanger + MLPA de première intention était négative. La présence de la variation pathogène a été confirmée par une seconde technique ou sur un second prélèvement.

Patient #1 : HPT à 28 ans, tumeur carcinoïde médiastinale à 35 ans, Hyp à 37 ans

MEN1 NM_130799.2: c.375_376delAT, p.(Ile125fs*54) FA= 5.7 % (profondeur 875X)

Patient #2 : HPT, thymome à 44 ans

MEN1 : c.496C>T, p.(Gln166*) FA= 9.5 % (841X)

Patient #3 : HPT, TNED, thymome, HYP à 60 ans

MEN1 : c.784-9G>A, p.(?) FA= 2.4 % (877X)

Ces premiers cas identifiés au sein du laboratoire montrent que le mosaïcisme germinale est à prendre plus en considération dans les situations d'explorations négatives pour des profils cliniques clairement associés à une NEM1 ou des cas apparents de NEM1 *de novo*.

Cette constatation, nous a orienté vers une analyse rétrospective de nos patients présentant cliniquement une NEM1 mais non élucidée sur le plan génétique, après une phase de validation visant à déterminer les critères qualité et le seuil de sensibilité *ad hoc* permettant de garantir un résultat fiable.

Références:

1. Thakker et al. JCEM 2012
2. Romanet et al JCEM 2019
3. Coppin et al. EJE 2019
4. Farook et al. Endocr. Abstr 2011
5. Klein et al. Genet Med 2005

Pièce jointe : Apports des Unique Molecular Index pour la détection de mosaïque germinale par NGS -resume-oct2019.docx

CS37 : Transmission familiale de chromoanagenesis : à propos de trois familles

Auteurs :

Julie Masson (1, 2), Marion Beaumont (3, 4), Kevin Uguen (3, 5), Céline Pebrel-Richard (6), Mathilde Frétigny (7), Flavie Diguët (3), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (8), Isabelle Perthus (9), Claire Bardel (3), Marianne Till (3), Dominique Boggio (3), Nicolas Chatron (3, 2), Charline Cartellier (10), Audrey Putoux (1, 11), Fabienne Raskin-Champion (12), Jérôme Massardier (10), Christine Vinciguerra (7), Patrick Lutz (13), Bérénice Doray (14), Damien Sanlaville (3, 2), Caroline Schluth-Bolard (3, 2)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Equipe Métabolisme énergétique et développement neuronal, Institut NeuroMyoGène CNRS UMR 5310, INSERM U1217, Université Lyon 1, Lyon, France
3. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
5. Service de Génétique Médicale, CHRU Brest, Brest, France
6. Service de Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
7. Service d'Hématologie Biologique, Biologie moléculaire des pathologies de l'hémostase, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
8. Cellule bio-informatique de la plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
10. Centre Pluri-disciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
11. GENDEV Team, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, CNRS UMR5292, UCBL1, Lyon, France
12. Centre Pluri-disciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
13. Service d'onco-hématologie pédiatrique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
14. Service de génétique, CHU de la Réunion - Hôpital Félix Guyon, Saint-Denis, France

Mots clefs : Chromoanagenesis, recombinaison, méiose, diagnostic prénatal

Résumé :

Les chromoanagenesis regroupent un ensemble de remaniements chromosomiques extrêmement complexes, qui correspondraient à l'éclatement d'un chromosome suivi de sa reconstitution en un événement catastrophique unique. Les chromoanagenesis constitutionnels sont des événements rares, encore peu connus, tant dans leur fréquence que dans leurs origines. La très grande majorité est rapportée comme *de novo*, impliquant préférentiellement la méiose paternelle. Seule une dizaine de cas de transmission familiale a été décrite à ce jour.

Nous rapportons 3 cas de transmission familiale de chromoanagenesis, tous hérités d'un parent sain. Les remaniements ont été caractérisés par caryotype, FISH, ACPA et WGS (Whole Genome Sequencing). Pour 2 des 3 parents, le diagnostic de chromoanagenesis n'a pu être posé qu'après WGS.

Famille 1 : La mère est porteuse d'un remaniement du chromosome 21 impliquant 11 gains (de 197 à 593kb) et une délétion (301 kb). Durant la première grossesse, l'amniocentèse réalisée pour dépistage combiné à risque a montré chez le fœtus un chromosome 21 remanié avec la délétion maternelle (301 kb), un gain de 315 kb et un gain de la partie terminale du bras long (21q21.3qter, 19Mb) intéressant la région critique du syndrome de Down, motivant une IMG. Lors de la seconde grossesse, le fœtus était porteur de deux chromosomes 21 d'aspect normal avec seulement la délétion d'origine maternelle (301kb). La grossesse s'est arrêtée spontanément. Lors de la troisième grossesse, le chromosome 21 remanié maternel a été transmis à l'identique au fœtus. La grossesse est en cours.

Famille 2 : La mère est porteuse en ACPA d'un gain de deux copies de 514kb sur le chromosome X en Xq27. Le WGS a montré que ce gain correspond à la présence deux blocs remaniés identiques associant un gain de 41kb (aucun gène), un gain de 59kb (5 premiers exons du gène *F9*) et un gain de 461kb (2 derniers exons du gène *F9*). Son fils, suivi pour une hémophilie B, a hérité d'un chromosome X recombiné porteur d'un seul bloc de gains et d'une délétion de l'exon 6 du gène *F9*.

Famille 3 : Le père est porteur d'un remaniement du chromosome 10 évoquant une insertion intrachromosomique péracentrique. Le WGS a montré la présence de 15 délétions (de 1,4 à 566kb). Son fils présente un retard des acquisitions et a hérité d'un chromosome 10 recombiné présentant 9 gains (de 22,7kb à 10Mb) et une perte (11,8Mb).

En conclusion, les chromoanagenesis constitutionnels peuvent être associés à un phénotype normal. Leur fréquence est donc très probablement sous-estimée dans la population générale. Malgré leur complexité, ces remaniements peuvent être transmis lors de la méiose maternelle aussi bien que paternelle. Leur recombinaison est possible, mais complètement imprévisible, tout comme la pathogénicité des recombinants. Ces observations illustrent la difficulté du conseil génétique dans ce type de remaniement ainsi que la difficulté de choisir la technique la plus adaptée pour le diagnostic prénatal.

Pièce jointe : Abstract-Transmission Chromo-vfinale.docx

CS38 : Apport de la CGH array en diagnostic prénatal devant la mise en évidence d'une malformation du corps calleux. Etude rétrospective multicentrique d'une série française de 256 fœtus.

Auteurs :

Charlotte Caille (1), Jean-Marie Ravel (1), leila guesh (2), Françoise Devillard (3), Claire Beneteau (2), Mona Massoud (4), Sylvie Odent (5), Estelle Perdriolle (6), Laurence Bourguignon (6), Bruno Leheup (1), Andreea Apetrei (7), Guillaume Benoist (8), Mathilde Renaud (1), Severine Audebert-Bellanger (9), Mathilde Pacault (9), Nathalie Douet-Guilbert (9), Agnes Guichet (10), Clara Houdayer (10), Marie-Thérèse Cheve (11), Perrine Pennamen (12), Frederic Coatleven (13), Genevieve Lefort (1), Celine Bonnet (1), Claude Ferec (9), laetitia lambert (1)

1. Service de génétique médicale, CHRU de Nancy, Nancy, France
2. Service de génétique médicale, CHRU de Nantes, Nantes, France
3. Département de génétique et de la procréation, CHRU de Grenoble, Grenoble, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Bron, Lyon, France
5. Service de génétique médicale, CHRU de Rennes, Rennes, France
6. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Nancy, Nancy, France
7. Service de génétique médicale, CHRU de Caen, Caen, France
8. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Caen, Caen, France
9. Service de génétique médicale, CHRU de Brest, Brest, France
10. Service de génétique médicale, CHRU de Angers, Angers, France
11. Service de Gynécologie-Obstétrique, CH Le Mans, Le Mans, France
12. Service de génétique médicale, CHRU de Bordeaux, Bordeaux, France
13. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : CCM; array CGH; prenatal; antenatal diagnosis

Résumé :

Abstract

Objective. Callous callosum malformation (CCM) is the most common brain abnormality found in antenatal diagnosis and it is difficult to predict its neurological prognosis. The aim of this study is to evaluate the performance of array comparative genomic hybridization (aCGH) prenatal diagnosis in corpus callosum malformations.

Methods. In this French multicenter retrospective study, 256 fetuses with corpus callosum malformation were included. All underwent invasive prenatal diagnosis, and the samples were analyzed using aCGH. CCMs were grouped depending on the presence of additional malformations affecting the brain and/or other organs and the CCM subtype.

Results. Of the 256 fetuses included, 42% had isolated CCM (iCCM). The most frequent CCM was agenesis (N=176, 69%). A total of 56 (24%) chromosomal anomalies were detected prenatally with 38% (N=21) diagnosis by aCGH only. Nine chromosomal anomalies were detected in group of iCCM and 47 of non isolated (niCCM). The risk of chromosomal anomalies is 10% for iCCM, 15% for niCCM associated cerebral malformation, 31% for niCCM associated extracerebral malformation and 54% for niCCM associated cerebral and extracerebral malformation.

Conclusion. CCM is often associated with chromosomal anomalies. This study evaluated the risk of detecting a chromosome anomaly according to whether CCM is isolated or associated with other anomalies. The results of this study are helpful for defining risk during pre-test counselling and during post-test genetic counselling prognosis and management can be more thoroughly apprehended when a specific chromosomal anomaly is detected.

Pièce jointe : Contribution of array CGH in prenatal diagnosis of foetal corpus callosum malformations.pdf

CS39 : Détection précise de disomies uniparentales cliniquement pertinentes à partir des données de séquençage de l'exome

Auteurs :

Kevin Yaury (1), Nicole de Leeuw (2), Helger G Yntema (2), Rolph Pfundt (2), Christian Gilissen (2)

1. Service de Génétique Clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Department of Human Genetics, Radboudumc, Nijmegen, Pays-Bas

Mots clés : Disomie uniparentale, séquençage de l'exome

Résumé :

Introduction : La disomie uniparentale (DUP) est la rare occurrence de deux chromosomes homologues provenant du même parent. Elle est habituellement identifiée par l'analyse des microsatellites ou par SNP-array. Les DUP peuvent être pathogène dues à une modification de l'empreinte parentale, des variations pathogènes homozygotes induites ou à des aneuploïdies en mosaïques de faible intensité. Dans cette étude, nous avons tenté de détecter des DUP cliniquement pertinentes à partir des données de séquençage de l'exome (SE) en solo et en trio.

Méthodes : Pour identifier les DUP, nous avons appliqué soit une méthode basée sur les erreurs héréditaires mendéliennes dans une cohorte de 4.912 SE en trio (tous types de DUP), ou soit une méthode basée sur la déviation absolue de la taille médiane des régions d'homozygotie dans une cohorte de 29.723 SE en solo (isodisomie seulement). L'ensemble des codes et scripts sont disponibles en licence libre : <https://github.com/kyauy/UPDive>.

Résultats : Nous avons réussi à identifier trois DUP mixtes, trois isodisomies et deux DUP segmentaires précédemment détecté par SNP array. De plus, nous avons identifié dans notre cohorte trois nouvelles DUP segmentaires et 11 nouvelles isodisomies. Parmi elles, trois sont impliquées dans un trouble de l'empreinte parentale. Par exemple, une isodisomie maternelle du chromosome 7 (associée au syndrome de Silver-Russell) a été détectée et correspond au phénotype du patient. Deux DUP sont localisées sur une variation pathogène homozygote, ce qui signifie qu'un seul parent serait porteur hétérozygote de la variation respective et change le conseil génétique. Par exemple, une variation non-sens homozygote (NM_000123.3:c.1096C > T (p.(Arg366*))) du gène ERCC5 associé au syndrome cérébroculofaciosquelettique type-3 a été détectée sur une disomie segmentaire maternelle du chromosome 13. L'identification d'une DUP est de signification inconnue pour les huit autres patients.

Conclusions : La DUP peut être facilement identifiée à partir du SE en solo ou en trio. Cette découverte peut être cliniquement pertinente pour les patients. Nous proposons que l'analyse des DUP soit appliquée en routine diagnostique dans les pipelines de SE cliniques, car elle augmente le rendement diagnostique et peut changer le conseil génétique.

CS40 : Résultats du séquençage d'exome en prénatal devant une anomalie du corps calleux sur une série de 49 fœtus : faisabilité, intérêt et limites

Auteurs :

solveig HEIDE (1), Myrtille SPENTCHIAN (2, 3), Stéphanie VALENCE (4), Marie-Laure MOUTARD (4), Thierry BILLETTE DE VILLEMEUR (4), Corinne MACH (5), Elodie LEJEUNE (5), Valérie OLIN (5), Claude ESTRADE (5), Aurélie WAERNESYCKLE (5), Sabina KARAGIC (5), Julien BURATTI (5), Catherine GAREL (6), Cyril MIGNOT (1), Valérie LAYET (7), Vassilis TSATSARIS (8), Marie-Amélie ROCCHISANI (9), Sébastien MOUTTON (10), Matthieu MILH (11), Magali GORCE (12), Marta SPODENKIEWICZ (13), Geneviève QUENUM MIRAILLET (14), Sandra CHANTOT BASTARAUD (14), Mathilde NIZON (15), Marie VINCENT (15), Sandra MERCIER (15), Claire BENETEAU (15), Vincent DES PORTES (16), Elise BOUCHER (17), Agnès GUET (18), Laurent MANDELBROT (19), Alexandra BENACHI (20), Audrey PUTOUX (21), Jean-Marie JOUANNIC (22), Boris KEREN (23), Delphine HERON (24)

1. UF de Génétique Médicale, APHP.Sorbonne Université, GH Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
2. UF de Génétique Médicale, APHP.Sorbonne Université, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. CRMR Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Service de Neurologie Pédiatrique, APHP.Sorbonne Université, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. UF de Génomique du Développement, APHP.Sorbonne Université, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Service de Radiologie Pédiatrique, APHP.Sorbonne Université, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
7. Service de Génétique Clinique, CH du Havre, Le Havre, France
8. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Cochin, Paris, France
9. Service de Réanimation et Médecine Néonatale, Hôpital Cochin, Paris, France
10. Centre de génétique, Hôpital d'enfants CHU Dijon Bourgogne - Hôpital François Mitterrand, Dijon, France
11. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital La Timone, APHM, Marseille, France
12. Service de Génétique Clinique, CHU d'Angers, Angers, France
13. Service de Génétique Clinique, CHU de Reims, Reims, France
14. Service de Cytogénétique, APHP.Sorbonne Université, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
15. Service de Génétique Clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
16. Service de Neurologie Pédiatrique, CHU de Lyon, HCL, Lyon, France
17. Service de Génétique Clinique, CHU de Besançon, Besançon, France
18. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
19. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
20. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Kremlin Bicêtre, Clamart, France
21. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
22. Service de Médecine Foetale, APHP.Sorbonne Université, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
23. UF de Génomique du Développement, GH Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
24. UF de Génétique Médicale, GH Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

Mots clefs : Prénatal, WES, Exome, Anomalie du corps calleux

Résumé :

Introduction : Le diagnostic d'une anomalie du corps calleux (ACC) est le plus souvent réalisé en prénatal lors de l'échographie du 2^{ème} trimestre. Lorsqu'elle est isolée, le pronostic neuro-développemental est très variable (70 à 80% des enfants ont un développement dans les normes, et 20 à 30% une déficience intellectuelle), et dépend essentiellement de la cause génétique sous-jacente. Actuellement, seules les causes chromosomiques, qui représentent une minorité des causes génétiques d'ACC, sont recherchées en prénatal (caryotype et analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)).

L'objectif principal de notre étude était d'étudier la faisabilité du séquençage d'exome (WES) en trio dès la découverte de l'ACC en prénatal afin d'augmenter les chances d'en faire le diagnostic étiologique.

Patients et méthodes : Entre septembre 2018 et septembre 2019, 49 trios ont été inclus. Le terme moyen était de 27 SA (21,7 à 34 SA). 36 ACC étaient isolées (ou associées à un signe mineur) et 13 ACC étaient associées à au moins une autre malformation, ou à plus de 2 anomalies mineures. Le WES était réalisé avec le kit MEDExome (ROCHE) sur ADN fœtal extrait du liquide amniotique. Seules les variations pathogènes ou probablement pathogènes (classes 4 et 5) dans les gènes connus d'ACC et/ou de DI étaient rendus. Les données secondaires n'étaient pas recherchées.

Résultats : Le résultat du WES a été rendu dans un délai moyen de 23.6 jours (14j-48j). Dans 2/49 cas, le résultat n'a été disponible qu'en post-natal (accouchement prématuré dans un cas, inclusion à un terme très tardif dans le second cas).

Une variation ponctuelle pathogène ou probablement pathogène a été mise en évidence dans 8/49 cas (16 %) (PPP2R1A, KIF1A, KANSL1, ASXL3, SHROOM4, BRAT1, PTPN11, TUBA1A). De plus, un CNV pathogène a été identifié par WES dans 3/49 cas (6 %) (del 17q21, del 2q22, del 6qter), confirmé par l'ACPA qui était réalisée en parallèle. Parmi ces diagnostics, 3 étaient des ACC apparemment isolées après IRM fœtale (PPP2R1A, KANSL1, PTPN11).

Dans 10/11 cas (91%) où le diagnostic était établi, il s'agissait de syndromes avec handicap intellectuel constant. 7/11 couples (63%) se sont orientés vers une IMG. 3 couples ont souhaité poursuivre la grossesse (KANSL1, BRAT1, del 6qter), parmi lesquels un a choisi un accompagnement palliatif néonatal (BRAT1). Dans un cas, le résultat n'a été disponible qu'après la naissance (PTPN11).

Discussion : Les résultats de cette étude permettent de montrer la faisabilité du séquençage d'exome en prénatal dans cette indication d'incertitude pronostique. Dans 22% des cas, l'établissement d'un diagnostic étiologique a permis d'aider les couples à prendre une décision plus éclairée concernant l'issue de la grossesse. Cette approche, qui pourrait être étendue à d'autres malformations à pronostic incertain, nécessite néanmoins une réflexion collégiale et une information adaptée en raison des questions éthiques liées au séquençage haut débit en prénatal.

CS41 : Architecture du génome et pathologies: l'exemple des CNVs en 16p11.2

Auteurs :

Alexandre Reymond (1), Giannuzzi Giuliana (1), Männik Katrin (1)

1. Centre Intégratif de Génomique, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

Mots clefs : CNV, 16p11.2, evolution, GWAS

Résumé :

Les délétions et les duplications récurrentes en 16p11.2 sont l'une des causes les plus fréquentes de troubles psychiatriques et neuro-développementaux. Ces réarrangements sont présents chez 1% des personnes atteintes d'autisme et de schizophrénie. L'IMC et le périmètre crânien sont tous deux corrélés négativement au nombre de copies 16p11.2.

En utilisant des données de biobanques, nous avons découvert que le nombre de copies de 16p11.2 est aussi corrélé avec l'âge de la ménarche (AdIM) et à des troubles de l'appareil reproducteur. À l'appui de ces observations, les modèles murins 16p11.2 présentent des malformations des organes reproducteurs et une apparition de la puberté altérée. Nous avons mis en évidence une corrélation négative entre les copies de 16p11.2 et le volume de l'hypothalamus chez l'homme et la souris. Le knock-out et la surexpression d'*ASPHD1*, un gène de cette région principalement exprimé dans le cerveau et l'hypophyse, modifient le nombre de neurones libérant de la GnRH. Au total, nos données démontrent le pouvoir d'une approche interdisciplinaire pour élucider l'étiologie de maladies complexes.

Les réarrangements pathogènes 16p11.2 sont engendrés par recombinaisons homologues non-alléliques de duplications segmentaires (*low-copy repeats* ou LCR) spécifiques à l'espèce humaines. Ces dernières sont apparues au début de la lignée humaine moderne et ont augmenté rapidement en fréquence jusqu'à se fixer dans la population. Cela suggère que leur expansion présente un avantage évolutif qui l'emporte sur l'instabilité chromosomique. Ces LCRs sont polymorphes en nombre de copies et incluent 3 à 8 copies de *BOLA2*, un gène impliqué dans la maturation des protéines cytosoliques Fer-Soufre. Afin d'étudier l'avantage potentiel sur le métabolisme du fer offert par l'expansion rapide de *BOLA2*, nous avons évalué les traits hématologiques et la prévalence de l'anémie chez 379'385 témoins et des personnes ayant perdu ou gagné des copies de *BOLA2* (del et dup 16p11.2). La délétion 16p11.2 est fortement associée à une anémie ($p = 4e-7$, OR = 5), en particulier l'anémie ferriprive. Si nous stratifions ces résultats par le nombre de copies de *BOLA2*, nous observons une association entre un faible nombre de copies du gène et l'anémie ($P = 2e-3$) en particulier chez les individus avec trois copies (6 sur 14 ; 43%). Conformément aux données humaines, le modèle murin de la délétion 16p11.2 et les souris déficientes en *Bola2* montrent des signes précoces de carence en fer, une diminution du taux d'hémoglobine, une réduction du nombre de globules rouges et une augmentation de la protoporphyrine-zinc. Nos résultats indiquent que *BOLA2* participe à l'homéostasie du fer *in vivo*. Son expansion rapide pourrait avoir contribué à protéger les hommes d'une carence en fer, notre espèce ayant élargi avec succès son aire écologique au prix d'une prédisposition accrue aux réarrangements associés à l'autisme.

Pièce jointe : 16p11_syndrome_AReymond_AssisesTours.docx

CS42 : Analyse par puce à ADN « single nucléotide polymorphism » chez 223 familles d'enfants nés avec un hypospadias distal isolé

Auteurs :

Adrien Bloch (1), Matthieu Peycelon (2), Jean-Pierre Siffroi (1), Sandra Chantot-Bastaraud (1), Geneviève Quenum-Miraillet (1), Fernanda Frade (3), Thomas Blanc (4), Capucine Hyon (1), Muriel Houang (5), Laetitia Martinierie (6), Annabel Jaouen-Paye (2), Christine Grapin (2), Georges Audry (3), Alaa Elghoneimi (2), Serge Amselem (1), Marie Legendre (1), Liza Ali (2)

1. Génétique et Embryologie Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Chirurgie Pédiatrique Urologique et Viscérale, Hôpital Robert-Debré, Paris, France
3. Chirurgie Pédiatrique Viscérale et Néonatale, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Chirurgie Viscérale Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Explorations Endocriniennes Pédiatriques, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

Mots clefs : Génétique, Puce, ADN, CNV, hypospadias, pédiatrie, cytogénétique

Résumé :

But de l'étude. L'hypospadias est l'anomalie congénitale des organes génitaux externes du garçon la plus fréquente. Son incidence est en constante augmentation bien que les causes restent encore inconnues. Des facteurs endocriniens, vasculaires et environnementaux ont été incriminés et l'origine génétique en cas de forme mineure reste probablement sous-estimée. L'objectif de cette étude était de réaliser une étude pangénomique par puce à ADN « SNP » chez des enfants nés avec un hypospadias distal isolé et leurs parents.

Méthodes. Une cohorte de 284 enfants a été établie depuis 2011 dans laquelle 223 garçons présentent un hypospadias distal isolé sans consanguinité ni origine familiale. L'ADN germinale de ces patients a été extrait des lymphocytes sanguins selon la technique habituelle. Un caryotype standard puis une analyse pangénomique par puce à ADN « SNP 12 chips (Illumina®) » ont été réalisés pour tous les patients.

Résultats. Dans cette cohorte, 41 anomalies (18,4%) pouvant être en lien avec la survenue d'un hypospadias distal isolé ont été identifiées par puces à ADN. L'étude de ségrégation familiale a mis en évidence un caractère héréditaire dans six cas. Une seule translocation 46,XY,t(7;11)(p14;q23) *de novo* a été visible sur le caryotype. Des variations du nombre de copies susceptibles d'être impliquées dans cette pathologie étaient présentes chez 30 patients : 17 duplications, trois délétions, six double-duplications, trois délétions, deux délétions/duplications et une translocation avec duplication, qui englobent un total de 25 gènes candidats. L'étude pangénomique a retrouvé des régions d'homozygotie > 2 Mb chez cinq patients, qui pourraient abriter des mutations à l'état homozygote dans des gènes candidats. L'étude de ségrégation familiale n'a mis en évidence aucun caractère héréditaire.

Conclusion. L'analyse pangénomique par puces à ADN a trouvé de façon surprenante 15,7% anomalies susceptibles d'être en lien avec la survenue d'un hypospadias distal isolé non héréditaire. L'utilisation de ces nouveaux outils d'analyse génétique semble essentielle à la compréhension des mécanismes de survenue de cette pathologie malgré un conseil génétique potentiellement difficile.

CS43 : Séquençage de génomes après ACPA et séquençage d'exome trio négatifs : 27% de diagnostic positif avec une interprétation limitée aux régions exoniques et variations de structure

Auteurs :

Frédéric Tran Mau-Them (1, 2), Alexandre Plagos (2), Ange-Line Bruel (2, 1), Patrick Callier (3), Sebastien Moutton (4), Sophie Nambot (5, 2), Daphne Lehalle (2), Nolwenn Jean (5), Julian Delanne (5), Caroline Racine (5), Julien Thevenon (2), Charlotte Poe (1), Thibaud Jouan (2), Martin Chevarin (2), Marjolaine Willems (6), Christine Coubes (6), David Genevieve (6, 7), Nada Houcinat (5), Alice Masurel (4), Anne-Laure Mosca-Boidron (3), Emilie Tisserand (2), Arthur Sorlin (8), Bertrand Isidor (9), Solveig Heide (10), Alexandra Afenjar (11), Diana Rodriguez (12), Cyril Mignot (10), Delphine Heron (10), Marie Vincent (9), Perrine Charles (10), Sylvie Odent (13), Christel Dubourg (14), Anne Faudet (10), Boris Keren (15), Benjamin Cogne (16), Anne Boland (17), Robert Olaso (17), Jean-François Deleuze (17), Yannis Duffourd (4), Laurence Faivre (5, 2), Christophe Philippe (3, 1), Christel Thauvin (18, 2), Antonio Vitobello (2, 1)

1. Unité Fonctionnelle d'Innovation diagnostique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
2. Inserm - Université de Bourgogne UMR1231 GAD, CHU Dijon, Dijon, France
3. Laboratoire de Cytogénétique et Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
4. Service de Génétique des Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
5. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du Développement et syndrome malformatifs » de l'Est, CHU Dijon, Dijon, France
6. Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs ADOOR, CHU Montpellier, Montpellier, France
7. Unité Inserm U1183, CHU Montpellier, Montpellier, France
8. Service de génétique médicale, CHU Nancy, Nancy, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
10. Département de Génétique, CHU La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
11. Département de génétique et embryologie médicale, CHU Armand Trousseau, Paris, France
12. Centre de Référence de Neurogénétique et Service de Neurologie Pédiatrique, CHU Armand Trousseau, Paris, France
13. Génétique, CHU Rennes, Rennes, France
14. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
15. Département de Génomique du développement, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
16. Institut du thorax, CHU Nantes, Nantes, France
17. Institut de Biologie François Jacob, CNRGH, Evry, France
18. Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : séquençage de génome, anomalies de structures, SV, anomalie du développement, déficience intellectuelle.

Résumé :

Les anomalies du développement et la déficience intellectuelle (AD/DI) affectent environ 3% de la population. Leur diagnostic repose sur l'expertise clinique, l'analyse chromosomique sur puce à ADN, la recherche du syndrome X-fragile ± l'étude de gènes ciblés orientés par les données cliniques, et plus récemment, le séquençage d'exome (ES). Actuellement, l'ensemble de ces analyses permettent de poser un diagnostic étiologique chez environ 30-50% des patients. Le séquençage de génome (GS) est donc une véritable opportunité pour ces patients car il permet une meilleure couverture exonique, la détection de variations non exoniques et l'analyse de variations de structures (SV) non décelables par d'autres méthodes cytogénétiques.

Chez 51 patients (22 garçons et 29 filles - âge moyen 13.8 ans), un GS (moyenne 30X) en trio a été réalisé. Le pipeline bio-informatique a inclus la détection des variations codantes par Haplotype Caller (GATK), des variations du nombre de copie (CNV) et des SVs par 2 approches complémentaires basées sur l'estimation de la profondeur (Control-FREEC) et les anomalies de paires et de lectures coupées (LUMPY).

Les 51 patients présentaient en moyenne 100 fois plus de variations introniques qu'exoniques et environ 2.500 SVs. En moyenne par individu, 23 variations *de novo* (3 exoniques et 20 introniques) et plus de 10.000 variations bialléliques (20 exoniques et 10.000 introniques) impliquaient des gènes OMIM morbides. Pour les SVs, en moyenne, 8 étaient rares et impactaient des gènes OMIM morbides.

Un diagnostic positif a été posé chez 14/51 patients (27%), incluant 8 SNVs, 1 CNV et 5 SVs. Les SNVs impliquaient *CYFIP2*, *EIF3F*, *FOXG1*, *KMT2D*, *MAGEL2*, *PURA*, *SMARCE1* et *ZMIZ1*. Lors de l'ES, ces variations n'avaient pas été retenues car non impliquées en pathologie humaine au moment de l'analyse (*CYFIP2*, *EIF3F*, *ZMIZ1*), mal capturée (*PURA*) ou mal interprétées (*FOXG1*, *KMT2D*, *MAGEL2*, *SMARCE1*). Le CNV était une délétion partielle de *GATAD2B*. Les SVs incluaient 2 inversions *de novo* (*BCL11A* et *MEF2C*), 1 translocation (*FBN1*) et 2 SVs complexes (inversion-délétion de *CASK* et *WWOX*). La SV de *WWOX* était *en trans* d'1 SNV. La majorité de ces anomalies n'étaient pas décelables par des stratégies de cytogénétiques conventionnelles ou d'ES avec détection de CNVs. Des VSI ont été identifiées chez 19/51 patients (37%) incluant 23 SNVs et 3 SVs. Parmi les SNVs, 2 impactaient des gènes hautement candidats pour une nouvelle implication en pathologie humaine.

En conclusion, le GS présente un intérêt indéniable pour le diagnostic des patients avec AD/DI, même après un ES en trio. Son interprétation, rendue difficile par la quantité importante et la complexité des variations, s'avère actuellement restreinte aux variations exoniques et de structures. Seule une analyse intégrée des données de GS et de RNAseq avec des outils bioinformatiques combinant ces données permettrait d'étendre l'interprétation de ces données aux régions introniques et intergéniques.

CS44 : Conservation in silico des domaines topologiquement associés en population témoin, impact sur l'interprétation des CNV

Auteurs :

Thomas Smol (1, 2), Florence Petit (3, 2), Elise Boudry-Labis (1), Sonia Bouquillon (1), Perrine Brunelle (1), Mélanie Rama (1), Catherine Roche-Lestienne (1), Sylvie Manouvrier-Hanu (3, 2), Jamal Ghoumid (3, 2)

1. Institut de génétique médicale, CHU Lille, Lille, France
2. EA7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
3. Clinique de Génétique, CHU Lille, Lille, France

Mots clefs : TAD, CNV, OMIM, SYSID

Résumé :

Introduction. L'implication des ruptures de frontières de domaines topologiquement associés (TAD) est maintenant bien établie comme mécanisme responsable de pathologies humaines. Cependant, hormis un faible nombre de maladies, les ruptures de frontières de TAD ne semblent pas être *a priori* un mécanisme fréquent de pathologies génétiques. Aussi, nous avons cherché à déterminer en population générale et à l'échelle du génome, quels étaient les TAD dont les frontières n'étaient jamais déletés et leur contenu en gène. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux TAD impliquant des gènes responsables de déficiences intellectuelles.

Méthode. Nous nous sommes appuyés sur les données publiées de cartographies des TAD dans différents modèles cellulaires et sur les données publiques de variations du nombre de copies de segments génomiques (CNV) en population générale. Les coordonnées génomiques de 307430 microdélétions provenant des bases DGV, GnomAD, des annotations bénignes de ClinVar et DECIPHER, ainsi que des CNV témoins de publication (Coe *et al.*, *Nat. Genet.*, 2014) ont été utilisées. Douze jeux de données de Hi-C ont été croisés avec les coordonnées des CNV. Certains TAD, qualifiés de robustes, ont été identifiés sans aucune frontière touchée par un CNV de la population générale. Les contenus génique entre ces TAD robustes et les TAD non robustes ont été comparés, à la recherche d'un éventuel enrichissement en gènes des bases OMIM et SysID.

Résultats. Les 12 séries de Hi-C comportent une médiane de 2837 TAD d'une taille médiane de 700 kb. Le pourcentage médian de TAD conservés est de 39.1% [38.1% - 40.6%]. Les TAD non robuste présentent un enrichissement plus important en gènes que les TAD robustes : 10.6 gènes/TAD vs 10.0 ($p < 8.5e^{-3}$). Les TAD robustes comprennent un plus grand nombre de gènes OMIM : 5.5 gènes OMIM/TAD vs 5.2 ($p = 0.001$) représentant respectivement 59.8% et 23.3% du contenu moyen en gènes de ces 2 groupes ($p < 2.2e^{-16}$). Le contenu en gènes associés à des pathologies neuro-développementales dominantes de la base SysID est également supérieur : 0.4 gènes/TAD vs 0.3 gènes/TAD ($p = 0.04$). Ainsi, les TAD robustes regroupent 64.08% des gènes OMIM et 36.70% des gènes de la base SysID.

Conclusion. Ces données suggèrent que l'expression des gènes pourrait être moins sensible aux ruptures de frontières de TAD. L'analyse du contenu en gènes des deux types de TAD suggère que les TAD robustes contiennent moins de gènes, mais plus de gènes responsables de pathologies humaines et en particulier de trouble du neurodéveloppement. Ces gènes semblent sanctuarisés dans les TAD robustes. Il est donc très intrigant de ne pas observer plus fréquemment de réarrangement de frontières de TAD robustes en pathologies humaine. Est-ce dû à des mécanismes de compensation moléculaire de tels réarrangements ? Ou à une résolution habituelle trop faible pour l'identification de micro-réarrangements à ces *loci* ?

CS45 : Modélisation et quantification de l'impact des CNVs sur l'intelligence générale.

Auteurs :

Pauline Monin (1, 2), Catherine Schramm (2, 3), Elise Douard (2, 3), Mor Absa Loum (2, 3), Maude Auger (2), Martineau Jean-Louis (2), Zohra Saci (2), Celia Greenwood (4, 5), Guillaume Huguet (2, 3), Sébastien Jacquemont (2, 3)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Laboratoire Jacquemont, Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada
3. Faculté de médecine, département de pédiatrie, Université de Montréal, Montréal, Canada
4. Department of Epidemiology, Biostatistics and Occupational Health, McGill University, Montréal, Canada
5. Lady Davis Institute, Jewish General Hospital, Montréal, Canada

Mots clefs : CNV (Variant du Nombre de Copie), QI (Quotient Intellectuel), neurodéveloppement, pLI (probabilité d'être intolérant aux variants perte de fonction), ratio obs/exp (nombre de variants observés / nombre de variants attendus).

Résumé :

Contexte

Des variants du nombre de copie (CNVs) pathogènes sont identifiés chez 10 à 15% des patients référés pour troubles neurodéveloppementaux. Néanmoins, l'impact de ces CNVs sur la cognition reste mal quantifié car la majorité d'entre eux sont trop rares pour être étudiés individuellement. Dans une récente étude, nous avons développé un modèle linéaire, basé sur des scores d'annotations géniques, capable de prédire la taille de l'effet de toute délétion sur le quotient intellectuel (QI). Cependant, l'impact des duplications et des gènes ayant des tailles d'effet extrêmes n'a pu être clairement modélisé.

Objectif

L'objectif est d'identifier les caractéristiques du contenu génique des CNVs permettant de prédire leur impact sur les traits cognitifs.

Méthodes

Nous avons analysé un grand jeu de données combinant les mesures d'intelligence générale (QI ou facteur général) et les CNVs de 20,151 individus de la population générale (5 cohortes) et 7,008 individus issus de 4 cohortes autistiques (Simons Simplex Collection, MSSNG, Autism Genome Project, et Simons foundation Powering Autism Research for Knowledge). Le modèle linéaire se base sur les gènes inclus dans les CNVs selon leurs probabilité d'être intolérant à l'haploinsuffisance (pLI), ou selon leurs ratio du nombre de variants perte de fonction (LoF) observés / nombre de LoF attendus (LoF obs/exp). Des méta- et méga-analyses ont été effectuées entre les cohortes. La validation du modèle a été effectuée en comparant sa prédiction aux observations de la littérature pour 26 CNVs psychiatriques récurrents.

Résultats

La méta-analyse n'a pas montré d'hétérogénéité significative entre les différentes cohortes, y compris entre les cohortes autistiques, et nous avons pu répliquer l'estimation de l'impact des délétions sur l'ensemble des cohortes. La méga-analyse a montré que la délétion d'1 unité de pLI entraîne une perte de 2.3 points de QI (0.15 Z-score, SE=0.01, P=4.17⁻²⁵). L'estimation pour les duplications est 3 fois plus basse avec une perte de 0.75 points de QI (0.05 Z-score, SE=0.01, P=1.40⁻⁹) par unité de pLI dupliquée.

Nous avons également quantifié l'impact des gènes significativement enrichis en variants *de novo* dans les populations neurodéveloppementales: leurs effets sont 6 à 13 fois plus important.

Les résultats observés avec le modèle appliqué sur le ratio LoF obs/exp sont similaires. Les 2 scores d'annotations sont donc aussi performants l'un que l'autre.

La concordance des estimations du modèle avec les données de la littérature s'élève à 75% pour les délétions et 72% pour les duplications.

Conclusion

Notre modèle, entraîné sur près de 34,500 CNVs répartis dans l'ensemble du génome, estime avec fiabilité l'impact des délétions et des duplications sur l'intelligence générale. Grâce à ces observations, un outil a été développé et est disponible en ligne pour les cliniciens. Cet outil leur permet d'estimer la contribution des CNVs rares non documentés détectés chez leurs patients.

Pièce jointe : abstract_assises_CNV_PaulineMONIN.docx

CS46 : Identification de voies métaboliques associées au risque de cancer différencié de la thyroïde par analyse pangénomique

Auteurs :

Om Kulkarni (1), Pierre-Emmanuel Sugier (2), Julie Guibon (2), Christine Lonjou (1), Jean-François Deleuze (3), Anne Boland-Auge (3), Delphine Bacq-Baian (3), Céline Besse (3), Carole Rubino (2), Marie-Christine Boutron-Ruault (2), Evgenia Ostroumova (4), Ausrele Kesminiene (4), Pascal Guénel (2), Florent De Vathaire (2), Thérèse Truong (2), Fabienne Lesueur (1)

1. Inserm U900, Institut Curie, Mines ParisTech, PSL University, Paris, France
2. Inserm U1018, CESP, Université Paris-Saclay, Université Paris-Sud, Villejuif, France
3. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Département de l'Institut de Biologie François Jacob, CEA, Evry, France
4. Section Environnement et Rayonnements, Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon, France

Mots clefs : cancer différencié de la thyroïde, analyse pangénomique, SNPs, ontologie

Résumé :

Une étude d'association pangénomique réalisée par le consortium EPITHYR a identifié quatre régions du génome associées au risque de développer un cancer différencié de la thyroïde (CDT) : 2q35 incluant les gènes *DIRC3* et *IGFBP5*, 8p12 incluant le gène *NRG1*, 9q22 incluant le gène *FOXO1* et 14q13 proche de *NKX2-1*. Les analyses effectuées ont considéré un par un chacun des 530 000 polymorphismes nucléotidiques (SNPs) génotypés, comme cela est classiquement utilisé. Cette approche peut néanmoins manquer de puissance pour détecter des SNPs interagissant avec d'autres SNPs. Notre objectif a été d'utiliser une stratégie basée sur les voies biologiques et les interactions protéiques connues afin d'identifier des ensembles de gènes appartenant à une même classe d'ontologie pouvant influencer l'apparition du CDT.

Notre étude a concerné 2089 cas de CDT et 2475 témoins d'origine européenne de sept études cas-témoins rassemblées dans le cadre du consortium EPITHYR et génotypés à l'aide de la puce Illumina OncoArray (environ 530 000 SNPs). Après un contrôle de qualité strict des SNPs génotypés, 460 437 SNPs ont été conservés pour l'analyse et 458 486 SNPs ont été localisés dans ou à proximité de 19 129 gènes. Ces gènes ont été assignés à des fonctions biologiques à l'aide des bases de données KEGG (361 définitions), REACTOME (1698 définitions) et GO (5203 processus biologiques, 1059 fonctions moléculaires et 652 composants cellulaires). L'analyse statistique a consisté à déterminer les voies biologiques ou les classes d'ontologie pouvant contenir un excès de gènes significativement associés au CDT à l'aide du logiciel VEGASPathway.

Notre analyse a mis en évidence 21 voies biologiques décrites dans KEGG et 75 décrites dans REACTOME qui contiennent en excès des gènes associés au CDT au seuil de $P < 0.05$. Les voies KEGG incluent notamment les fonctions liées au métabolisme du cholestérol, des glucides et des acides aminés tandis que les annotations de REACTOME permettent d'identifier en plus les voies de signalisation en aval du récepteur tyrosine kinase erbB2 (HER2) et régulant l'expression de ce récepteur.

Pour décrire les réseaux de gènes associés au CDT, nous avons ensuite utilisé l'algorithme EW_dmGWAS qui intègre les annotations sur les interactions protéines-protéines de la base HINT et les données du Cancer Genome Atlas de 59 CDT et du tissu normal associé pour prioriser les gènes dont l'expression est altérée dans les tumeurs. Nous avons ainsi identifié 54 modules enrichis avec les définitions de KEGG (2) ou REACTOME (52) au seuil $P_{FDR} < 0.05$, dont les voies liées au métabolisme de l'amidon et du saccharose, à la glycogénolyse, au métabolisme du glycogène et au métabolisme de l'insuline.

Cette étude montre l'avantage d'utiliser une approche permettant l'analyse de nombreux marqueurs génétiques simultanément. Elle a permis de caractériser de nouvelles voies biologiques impliquant des gènes susceptibles d'augmenter le risque de ce cancer.

Pièce jointe : Abstract_Assises_EPITHYR_Lesueur.pdf

**CS47 : Gestion des données secondaires dans le cadre des analyses pangénomiques par séquençage haut débit (projet FIND) :
le point de vue des laboratoires**

Auteurs :

Gaetan LESCA (1), Boris KEREN (2), Yannis DUFFOURD (3, 4), Ange-Line BRUEL (3, 4), Arthur SORLIN (3, 4), Frédéric TRAN MAU-THEM (3, 4), Julien BURATTI (2), Damien SANLAVILLE (5), Marie FAOUCHER (5), Claire GOURSAUD (5), Audrey LABALME (5), Marianne TILL (5), Nicolas CHATRON (5), Pierre-Antoine ROLLAT-FARNIER (5), Charles-Patrick EDERY (5), Delphine HERON (2), Céline VERSTUYFT (6), Association Nationale des Praticiens de Génétique ANPGM (7), Christel THAUVIN (3, 4), Laurence FAIVRE (8, 4), Christophe PHILIPPE (9)

1. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Département de génétique, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
3. Unité Fonctionnelle « Innovation diagnostique dans les maladies rares », laboratoire de génétique moléculaire, plate-forme de biologie hospitalo-universitaire, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental disorders, FHU TRANSLAD, Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
5. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Service de Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, CHU Bicêtre, Paris, France
7. Réseau français de laboratoires de référence, <https://anpgm.fr>, -, France
8. Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement et syndromes malformatifs", CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
9. Laboratoire d'innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : Analyses pangénomiques , données secondaires

Résumé :

Le séquençage à haut débit (SHD) pangénomique offre de nouvelles opportunités de diagnostic dans le contexte des maladies rares. Il permet d'aboutir plus fréquemment à un diagnostic primaire (but de la consultation génétique), il peut aussi conduire à la découverte de variations non en lien avec la pathologie du patient. Ces données secondaires (si recherchées activement), ou incidentes (découvertes fortuites), peuvent donner lieu à des actions préventives ou curatives s'intégrant dans une démarche de médecine personnalisée. Le fait de proposer aux patients d'avoir accès aux données secondaires ou incidentes reste largement débattu en France et à l'étranger. Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet de recherche FIND (PREPS 2016) « les données secondaires produites par SHD en diagnostic ; du besoin des patients aux modalités organisationnelles », avec 3 CRMR AnDDI-Rares participants (Dijon, Lyon, Paris Pitié). Selon le protocole, seules les variations pathogènes ou probablement pathogènes pour trois catégories de DS sont transmises au généticien prescripteur si le patient y a consenti. Le groupe 1 comprend les variations dans des gènes responsables d'une prédisposition à une maladie à révélation tardive accessible à une prévention (122 gènes, liste ACMG élargie), le groupe 2 est constitué des 114 gènes ayant des implications pour le conseil génétique (pathologies AR ou RLX). Un 3^e groupe plus restreint comprend 2 gènes avec 5 variations pharmacogénétiques ciblées d'intérêt clinique.

Nous présentons les résultats pour 330 patients qui ont bénéficié de la recherche de DS dans les données de SHD de l'exome dans le cadre du projet FIND. À ce stade de l'étude (312 patients analysés), des DS ont été retrouvées chez 48 patients (15,4%) avec une répartition dans les groupes 1 (16 patients - 5%), 2 (21 patients - 6,7%) et 3 (13 - 4%). Deux patients (4%) présentaient deux DS (groupes 2 et 3). La cause de la pathologie n'a pas été élucidée pour la moitié des patients qui recevait une DS. De nombreux laboratoires experts ont été mis à contribution (20 laboratoires différents pour 52 DS candidates) lorsque les données disponibles étaient insuffisantes. Dans tous les cas, les laboratoires ont répondu très rapidement (délai de réponse 1 heure à 1 semaine) et de façon détaillée, permettant ainsi d'orienter les biologistes pour la classification des DS candidates. L'avis d'un laboratoire de référence a été nécessaire pour la moitié des DS rendues. Les gènes ayant nécessité le plus grand nombre de demandes d'avis sont *CYP21A2*, *VWF* et *BRCA1/2*. La recherche de données secondaires issues des données de SHD pangénomiques, leur interprétation et le rendu aux généticiens prescripteurs impactent de façon importante les laboratoires aux niveaux de leur activité (temps technicien/bio-informaticien/biologiste mesurés dans l'étude et coûts des tests génétiques ciblés) et de leur organisation au niveau national (mise à contribution du réseau de laboratoires experts).

Pièce jointe : Abstract FIND_Lesca et al_Assises de génétique Tours 2020.docx

CS48 : Prise en compte de l'hétérogénéité phénotypique des patients dans les tests d'association avec des variants rares

Auteurs :

Ozvan Bocher (1), Gaëlle Marenne (1), Thomas Ludwig (1, 2), Kévin Uguen (1, 3), Arnaud Boulling (1), Virginie Scotet (1), Carine L'Hostis (1, 4), Isabelle Gourlaouen (1), Claude Férec (1, 3), Gérald Le Gac (1, 3), Hervé Perdry (5), Emmanuelle Génin (1)

1. , Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 Brest, France, Brest, France

2. , CHU Brest, Brest, France, Brest, France

3. Génétique moléculaire et d'histocompatibilité, CHU Brest, Brest, France, Brest, France

4. , Association Gaëtan Saleün, Brest, France, Brest, France

5. , CESP Inserm, U1018, UFR Médecine, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Villejuif, 94807, France, Villejuif, France

Mots clefs : Tests d'association, Variants rares, Sous-phénotypes, Tests de fardeau, SKAT

Résumé :

Les méthodes de séquençage de nouvelle génération nous permettent aujourd'hui d'explorer le rôle des variants génétiques rares dans les maladies. Pour rechercher des associations avec des variants rares, des méthodes statistiques spécifiques ont été développées. Ces méthodes sont de deux types : (1) les tests de fardeau dans lesquels un score génétique est calculé par individu et par gène, puis comparé entre les individus, et (2) les tests de variance qui s'intéressent à la dispersion des effets génétiques. Ces différents tests ont été développés pour étudier des traits binaires (malade/non malade) ou quantitatifs. Ils ne permettent pas de comparer aux témoins des sous-groupes de malades basés, par exemple, sur la sévérité de la maladie ou son âge d'apparition (précoce/tardif). Cette hétérogénéité phénotypique peut cependant résulter d'une hétérogénéité génétique et ne pas en tenir compte peut conduire à un manque de puissance des tests. Afin de tenir compte de l'hétérogénéité phénotypique dans les tests d'association avec variants rares, nous avons réalisé des extensions des tests de fardeau et de variance. Nous avons étudié les propriétés statistiques de ces tests à l'aide de simulations et montré les gains de puissance obtenus sous différents modèles génétiques. Nous avons également pu étudier dans quelles situations il était préférable d'utiliser les tests de fardeau ou les tests de variance. Enfin, nous avons confirmé les résultats de ces simulations sur des données réelles de séquençage issues d'une étude sur l'hémochromatose chez des patients non porteurs homozygotes de la mutation HFE p.C282Y. Nous avons pu, à l'aide de nos méthodes, comparer les patients hétérozygotes composites HFE p.C282Y/p.H63D et les autres patients aux données de séquence d'un panel de témoins de référence (projet FranceGenRef du labex GENMED). Nous avons implémenté les tests d'association sur variants rares et leurs extensions dans le package R Ravages (<https://github.com/genostats/Ravages>). Ce package permet de réaliser ces différents tests et d'évaluer leur puissance par simulations.

CS49 : PRME DISSEQ - Evaluation des différentes stratégies de technologies de séquençage par haut débit (panel et exome) dans le diagnostic des patients atteints de déficience intellectuelle : efficacité et discordances

Auteurs :

Ange-Line Bruel (1, 2), Bénédicte Gérard (3), Amélie Piton (3), Frédéric Tran Mau-Them (1, 4), Arthur Sorlin (5, 6), Anne-Laure Sorly (7), Didier Lacombe (8), Sylvie Manouvrier (9, 10), Patrick Edery (11, 12), Nicole Philip (13, 14), David Genevieve (15, 16), Alain Verloes (17, 18), Sylvie Odent (19), Julien Thevenon (1, 20), Annick Toutain (21, 22), Bonneau Dominique (23), Salima El Chehadeh-Djebbar (24), Martine Doco-Fenzy (25), Bertrand Isidor (26), Alice Goldenberg (27), Catherine Vincent-Delorme (28), Odile Boute-Benejean (29), Laetitia Lambert (30), Marie-Laure Asensio (31), Patrick Callier (1, 4), Yannis Duffourd (32, 4), Catherine Lejeune (31), Christine Binquet (31), Christophe Philippe (1, 4), Laurence Faivre (1, 20), Christel Thauvin-Robinet (1, 20)

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. Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology, Center for Scientific Research, UMR7104, Illkirch, France
4. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
5. UMR1231 GAD, Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
6. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du Développement et syndromes malformatifs », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, CHU DIJON, Dijon, France
7. Direction Clinique de la Recherche et de l'Innovation, CHU DIJON, Dijon, France
8. Service de génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
9. Centre de référence maladies rares pour les anomalies du développement Nord-Ouest, CHU de Lille, Lille, France
10. EA7364, Université de Lille, Lille, France
11. Department of Medical Genetics, Women Mothers and Children's Hospital, Lyon Hospices Civils, Lyon, France
12. CNRS UMR 5292, INSERM U1028, Claude Bernard Lyon 1 University, Lyon, France
13. Service de génétique médicale, CHU de Marseille, Marseille, France
14. INSERM, MMG, Aix Marseille Université, Marseille, France
15. Département de génétique médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
16. INSERM U1183, Université de Montpellier, Montpellier, France
17. Département de Génétique, AHP-Robert DEBRE University Hospital, Paris, France
18. INSERM UMR1141, USPC University, Paris, France
19. Service de génétique clinique, CHU Rennes, Rennes, France
20. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France
21. Service de génétique, CHU de Tours, Tours, France
22. UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Tours, France
23. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France
24. Centre de génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
25. Service de Génétique, CHU de Reims, Reims, France
26. Service de Génétique Médical, CHU Nantes, Nantes, France
27. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles Nicolle, CHU Rouen, Rouen, France
28. Service de Génétique Clinique Guy Fontaine, CHRU de Lille-Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
29. Centre de référence maladies rares pour les anomalies du développement Nord-Ouest, CHU de Lille, Lille, France
30. UF de génétique médicale, Maternité régionale, CHU de Nancy, Nancy, France
31. EPICAD LNC-UMR1231, Burgundy & Franche Comte University, Dijon, France
32. FHU-TRANSLAD, Équipe EA42271 GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France

Mots clés : Déficience intellectuelle, DISSEQ, Exome

Résumé :

Le diagnostic de la déficience intellectuelle (DI) reposait jusqu'à récemment sur l'expertise clinique, l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), la recherche du syndrome X-fragile (FRAXA) et l'étude de gènes ciblés. Si l'expertise clinique ne permet pas de cibler l'étude de gènes en particulier, ces différents outils aboutissent à un diagnostic chez seulement 20% des patients sans diagnostic clinique, au prix parfois de nombreux examens biologiques coûteux. La génétique médicale connaît actuellement un véritable bouleversement technologique par le développement du séquençage haut débit (SHD), permettant l'analyse de panels de gènes ciblés et d'exome (ES).

Le PRME DISSEQ a pour objectif d'évaluer l'efficacité de différentes stratégies de SHD dans le diagnostic des patients atteints de DI à partir d'une cohorte de 330 patients (205 hommes/127 femmes) et sans investigation génétique antérieure. Trois stratégies ont été réalisées en parallèle à l'aveugle: stratégie classique (ACPA+FRAXA+séquençage de gènes ciblés), stratégie 1 (ACPA+FRAXA+panel DI459 solo) et stratégie 2 (FRAXA+ES solo).

A ce jour, environ un tiers de la cohorte a été analysée. Parmi les 39 résultats positifs (15 CNV, 25 SNV, 1 FRAXA dont 3 double hits), 16 ont été diagnostiqués par la stratégie classique (41%), 34 par la stratégie 1 (87%) et 35 par la stratégie 2 (90%) ; 35 présentaient une variation sporadique, 3 une variation héritée d'un parent, 3 des variations bialléliques et 1 un FRAXA. Seuls 30/41 variations causales (73%) ont été identifiés par la stratégie 1 (FRAXA+ACPA+panel DI459) et la stratégie 2 (FRAXA+ES), soit un taux de discordance de 27% : 5/11 retenus uniquement par la stratégie 2 car le gène causal est absent du panel, et 6/11 retenus uniquement par la stratégie 1 par discordance d'interprétation. Ces discordances étaient principalement liées à une présentation clinique atypique. Par ailleurs, la stratégie 2 a permis d'identifier des variations dans de nouveaux gènes candidats chez 3 patients.

Ces premiers résultats (ensemble des résultats disponible en fin d'année 2019) montrent que les discordances entre le panel et l'ES sont dues à l'absence des gènes causaux dans le panel et à une discordance d'interprétation dans des phénotypes atypiques pour l'ES, mais non par défaut de couverture de l'ES. Ceci conforte l'importance d'une double interprétation. Le panel ne permet pas d'identifier les variations des gènes récemment associés à la DI et montre également des limites pour identifier les CNVs, devant ainsi être couplé à l'ACPA. A l'inverse, l'ES semble efficace pour identifier SNVs et CNVs y compris dans les gènes récemment associés à la DI et dans des nouveaux gènes candidats. Cependant, le grand nombre de données disponibles pour l'ES peut conduire à un défaut d'interprétation des variations. L'approche de séquençage en trio pourrait limiter la non considération de certaines variations dans des gènes connus, non retenues du fait de phénotypes atypiques.

CS50 : L'haploinsuffisance du gène *SIN3B*, membre du complexe co répresseur Sin3/HDAC, est responsable de déficience intellectuelle syndromique et/ou d'autisme

Auteurs :

Xenia Latypova (1, 2), Marie Vincent (3), Alice Mollé (4), Oluwadamilare A. Adebambo (5), Cynthia Fourgeux (4), Tahir N. Khan (5, 6), Alfonso Caro (7), Monica Rosello (7), Dmitriy Niyazov (8), Damien Lederer (9), Marie Deprez (10), Yline Capri (11), Peter Kannu (12), Anne-Claude Tabet (13), Jonathan Levy (13), Emmelien Aten (14), Nicolette den Hollander (14), Jagdeep Walia (15), Ladonna L Immken (16), Pawel Stankiewicz (17), Kirsty McWalter (18), Sharon Suchy (18), Raymond J. Louie (19), Shannon Bell (19), Roger E. Stevenson (19), Justine Rousseau (20), Catherine Willem (21), Christelle Retiere (21, 22), Xiang-Jiao Yang (23), Philippe M. Campeau (20), Francisco Martinez (7), Jill A. Rosenfeld (17), Cédric Le Caignec (24), Sébastien Küry (24), Sandra Mercier (24), Kamran Moradkhani (24), Solène Conrad (24), Thomas Besnard (24), Benjamin Cogné (24), Nicholas Katsanis (5), Stéphane Béziau (25), Jeremie Poschmann (4), Erica E. Davis (5), Bertrand Isidor (25, 26)

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. Center for research in transplantation and Immunology, UMR1064, CHU-Nantes, Inserm, Université de Nantes, Nantes, France
5. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
6. Department of biological sciences, National University of Medical Sciences, Rawalpindi, Pakistan
7. Unidad de Genética, Grupo de Investigación Traslacional en Genética, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Espagne
8. Department of Pediatrics, Ochsner Clinic, New Orleans, Etats-Unis
9. Centre de Génétique Humaine, IPG, Gosselies, Belgique
10. Service de neuropédiatrie, Clinique Saint Elizabeth, Namur, Belgique
11. Service de génétique médicale, Hôpital Robert Debré, Paris, France
12. Division of Clinical and Metabolic Genetics, The Hospital for Sick Children, Toronto, Canada
13. Service de cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
14. Department of Clinical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-Bas
15. , Kingston General Hospital Research Institute, Kingston, Canada
16. Genetics department, Dell Children's Medical Center of Central Texas, Austin, Etats-Unis
17. Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
18. , GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
19. , Greenwood Genetic Center, Greenwood, Etats-Unis
20. , Sainte-Justine Hospital, Montréal, Canada
21. , Etablissement Français du Sang, Nantes, France
22. CRCINA, INSERM, CNRS, Université d'Angers, Université de Nantes, Nantes, France
23. Rosalind & Morris Goodman Cancer Research Center and Department of Medicine, McGill University, Montréal, Canada
24. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
25. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
26. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France

Mots clefs : régulation transcriptionnelle, complexe Sin3, déficience intellectuelle, *SIN3B*, acétylation, poisson zèbre

Résumé :

Les variants de gènes responsables de régulation transcriptionnelle sont des contributeurs majeurs aux pathologies neurodéveloppementales. Le complexe Sin3 assure un rôle central dans la désacétylation des histones et la répression transcriptionnelle, par modulation de l'activité de l'HDAC 1/2. Parmi les deux paralogues vertébrés du complexe Sin3, *SIN3A* et *SIN3B*, le gène *SIN3A* est connu pour être responsable de déficience intellectuelle syndromique. Les conséquences cliniques de l'haploinsuffisance de *SIN3B* n'ont pas été caractérisées à ce jour. Nous décrivons une nouvelle entité associant une déficience intellectuelle, des anomalies morphologiques, ainsi que de façon variable des troubles du spectre autistique, malformations congénitales, et anomalies du corps calleux. Un des patients est également atteint d'autisme isolé. En utilisant les techniques d'analyse chromosomique par puce à ADN ou de séquençage d'exome, et à travers la mise en commun de données lors de collaborations internationales, nous avons identifié chez neuf patients des délétions ou variants nucléotidiques hétérozygotes de *SIN3B*. Cinq patients sont porteurs de délétions hétérozygotes incluant *SIN3B*, ayant permis de définir une région minimale d'intérêt de 230 kb en 19p13.11, deux individus ont une substitution non synonyme rare et deux individus une délétion d'un nucléotide à l'origine d'un décalage du cadre de lecture et d'un codon stop. Afin de caractériser *in vivo* les conséquences de l'ablation de *SIN3B* et confirmer la pathogénicité des variants non synonymes, nous avons inactivé l'orthologue du gène chez le poisson zèbre par édition génomique et suppression transitoire. Nous montrons chez les larves, après inactivation, une perturbation de l'architecture cranio-faciale et des anomalies des axones commissuraux, soutenant l'hypothèse d'un rôle essentiel de *SIN3B* dans la croissance et la formation des structures antérieures. L'absence de restauration du phénotype associé à l'inactivation transitoire lors de l'injection d'ARNm variant nous permet de classer les deux variants non synonymes identifiés comme perte de fonction. Enfin, afin de préciser les conséquences moléculaires des variants de *SIN3B*, nous avons quantifié les activités des éléments cis-régulateurs par Chip-seq. Les profils d'acétylation obtenus sont similaires à ceux mis en évidence en cas d'haploinsuffisance de *SIN3A* : l'inactivation de *SIN3B* est associée à l'hyperacétylation d'une fraction de régions régulatrices dans les cellules mononucléées sanguines. En conclusion, nos résultats confirment le rôle crucial du complexe Sin3 dans le développement du système nerveux central et définissent le paysage épigénétique associé à la perturbation de son fonctionnement. Nous démontrons ainsi que l'haploinsuffisance de *SIN3B* est responsable chez l'Homme de déficience intellectuelle syndromique et/ou d'autisme.

CS51 : Protéasomopathies neurodéveloppementales causées par des altérations des gènes de sous-unités de la particule régulatrice 19S

Auteurs :

Sébastien KÜRY (1, 2), Frédéric EBSTEIN (3), Geeske M. VAN WOERDEN (4, 5), Thomas BESNARD (1), Cory ROSENFELT (6), Victoria MOST (7), Anna HAJDUKOWICZ (3), Virginie VIGNARD (2), Wallid DEB (1), Benjamin COGNE (1), Dustin BALDRIDGE (8), Cara FORSTER (9), Cyril MIGNOT (10), Boris KEREN (10), May MALICDAN (11), Siddharth SRIVASTAVA (12), Lesley ADES (13), Jennifer Ann BRAULT (14), Hind AL SAIF (15), Damara ORTIZ (16), Consortium PSMC3/PSMC5 (1), David GENEVIEVE (17), Richard REDON (2), Bertrand ISIDOR (1), Peter W.R. HILDEBRAND (18), Francois BOLDUC (6), Ype ELGERSMA (4, 5), Elke KRÜGER (3), Stéphane BEZIEAU (1)

1. Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. l'Institut du Thorax, INSERM, CNRS, Université de Nantes, Nantes, France
3. Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie, Universitätsmedizin Greifswald, Greifswald, Allemagne
4. Department of Neuroscience, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas
5. ENCORE Expertise Center for Neurodevelopmental Disorders, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas
6. Department of Pediatrics, University of Alberta, Edmonton, Canada
7. Institut für Biochemie, Universität Leipzig, Leipzig, Allemagne
8. Pediatrics, Washington University in St. Louis, St. Louis, Etats-Unis
9. -, GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
10. Département de Génétique, APHP, Paris, France
11. Medical Genetics Branch, NHGRI/NIH, Bethesda, Etats-Unis
12. Department of Neurology, Boston Children's hospital, Boston, Etats-Unis
13. Department of Clinical Genetics, The Children's Hospital at Westmead, Westmead, Australie
14. Department of Medicine, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, Etats-Unis
15. Department of Human and Molecular Genetics, Virginia Commonwealth University School of Medicine, Richmond, Etats-Unis
16. One Children's Hospital Drive, UPMC Children's Hospital of Pittsburgh, Pittsburgh, Etats-Unis
17. Département de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
18. Institut für Medizinische Physik und Biophysik, Universität Leipzig, Leipzig, Allemagne

Mots clefs : Protéasome, pathologie neurodéveloppementale, PSMC3, PSMC5, études fonctionnelles, modèles animaux

Résumé :

Contexte : La dégradation des protéines par le protéasome est essentielle à la protéostase des cellules eucaryotes. La rareté des variants pathogènes présents dans la cinquantaine de gènes directement impliqués dans la fonction protéasomale suggère qu'ils exercent une pression de sélection négative en compromettant la viabilité cellulaire. Par contraste avec les maladies auto-inflammatoires récessives induites par des altérations de la particule catalytique 20S du protéasome 26S, nous avons récemment décrit une pathologie neurodéveloppementale, le syndrome Stankiewicz-Isidor (MIM : 617516), causée par des variants *de novo* de *PSMD12*, gène de la sous-unité Rpn5 de la particule régulatrice 19S.

Méthodes : Grâce à une collaboration internationale nous avons recruté 21 individus atteints d'un retard du développement et porteurs de 19 variants probablement pathogènes dans deux autres gènes de la particule régulatrice 19S, *PSMC3* et *PSMC5*. Ces derniers codent pour des ATPases impliquées dans le dépliage et la translocation du substrat à dégrader vers le cœur protéolytique de la particule 20S. A partir de lymphocytes T d'individus atteints, nous avons évalué l'effet fonctionnel des variants sur l'activité du protéasome 26S et examiné leur impact possible sur les principales voies du neurodéveloppement. Nous avons enfin eu recours à des modèles *in vivo* murins et de drosophiles pour étudier leurs conséquences sur la fonction neuronale et le comportement.

Résultats : Les 19 variants candidats identifiés chez 21 individus non apparentés se distribuent en : 5 variants *de novo* dans *PSMC3* chez 6 individus et 14 variants (13 *de novo*, un homozygote) dans *PSMC5* chez 15 individus. La majorité des variants est localisée dans le domaine ATPase des deux sous-unités. Les individus porteurs d'un variant dans *PSMC3* présentent un retard de développement et des anomalies fréquentes à l'IRM cérébrale ?, ainsi que des anomalies cardiaques et/ou squelettiques, alors que les individus porteurs d'un variant dans *PSMC5* présentent majoritairement une déficience intellectuelle et des troubles du comportement. Nous avons observé une altération de la fonction du protéasome caractérisée par une diminution significative de son activité de type chymotrypsine, ainsi que par une accumulation de conjugués d'ubiquitine, une activation de la réponse UPR (unfolded protein response) et une altération de l'activité mTOR.

Conclusion : Ces résultats nous permettent d'élargir la liste des gènes codant pour des sous-unités de la particule protéasomique 19S responsables de troubles du neurodéveloppement. Les altérations des gènes *PSMC3* et *PSMC5* perturbent les systèmes de dégradation des protéines ainsi que la voie mTOR. Des analyses protéomiques et l'examen de modèle animaux sont en cours et devraient nous permettre d'approfondir nos connaissances sur cette catégorie, de description très récente et en pleine évolution, de protéasomopathies neurodéveloppementales.

CS52 : Elargissement du spectre phénotypique et des mécanismes physiopathologiques liés aux mutations dans le gène *EIF2S3***Auteurs :**

Stéphanie Moortgat (1)

1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique

Mots clefs : *EIF2S3*, syndrome MEHMO, poisson-zèbre, CRISPR/Cas9, apoptose cérébrale**Résumé :**

Le syndrome MEHMO (acronyme pour Mental deficiency with epileptic seizures, hypogonadism and hypogenitalism, microcephaly and obesity) est une forme rare de déficience intellectuelle syndromique liée au chromosome X, causée par des mutations hémizygotiques dans le gène *EIF2S3*. Ce gène code pour la sous-unité γ du complexe trimérique eIF2 qui joue un rôle primordial dans l'initiation de la synthèse protéique. Une mutation récurrente dans le gène *EIF2S3* (p.Ile465Serfs*4) entraînant un décalage du cadre de lecture a été identifiée chez des patients sévèrement atteints tandis que les quelques mutations faux-sens rapportées sont plutôt responsables d'un phénotype incomplet de déficience intellectuelle, microcéphalie, retard de croissance et épilepsie. Nous avons identifié une nouvelle mutation faux sens (c.433A > G, p.Met145Val) à l'état hémizygotique chez un sujet masculin présentant une déficience intellectuelle légère, microcéphalie et cryptorchidie. Nous avons choisi le poisson-zèbre comme modèle *in vivo* vertébré pour confirmer la pathogénicité de cette mutation ainsi que de trois autres mutations faux sens décrites dans la littérature. En effet, l'inactivation transitoire du gène *eif2s3* orthologue du poisson-zèbre par injection d'oligonucléotides (morpholinos) entraînait un phénotype de microcéphalie partiellement compensé par la co-injection d'ARN humain *EIF2S3* sauvage, et non par celle d'ARN muté. La réalisation de différentes lignées mutantes stables par la technique de CRISPR/Cas9 a complété ces premières expériences et a permis la reproduction de la microcéphalie chez le poisson-zèbre. Des études d'immunofluorescence et d'apoptose au départ de ces différentes lignées ont montré que ce déficit était dû, en partie du moins, à une augmentation de la mort de cellules neuronales à un stade précoce du développement. Au niveau pancréatique, des études d'immunofluorescence et d'hybridation *in situ* ont révélé une diminution du nombre tant des cellules β sécrétrices d'insuline que des progéniteurs pancréatiques, non liée à de l'apoptose. Enfin, des études complémentaires au départ de cultures fibroblastiques de patients avec mutation faux sens ont montré la présence de la protéine eIF2 γ mais aucune apoptose n'a été mise en évidence, ni en condition de base, ni après utilisation d'inducteurs d'apoptose. En conclusion, nous confirmons l'élargissement du spectre phénotypique chez les patients avec mutation faux sens dans le gène *EIF2S3* et nous suggérons que le syndrome MEHMO soit spécifiquement lié à une mutation récurrente (p.Ile465Serfs*4) dans ce gène. Nous décrivons un modèle poisson-zèbre robuste qui récapitule le phénotype humain observé. Outre l'apoptose retrouvée de façon inconstante dans nos expériences, nos études fonctionnelles sur poisson zèbre et sur cultures fibroblastiques amènent de nouvelles perspectives physiopathologiques et suggèrent des défauts précoces de différenciation cellulaire.

CS52 : Elargissement du spectre phénotypique et des mécanismes physiopathologiques liés aux mutations dans le gène *EIF2S3*

Auteurs :

Stéphanie Moortgat (1), Isabelle Manfroid (2), Hélène Pendeville (3), Stephen Freeman (4), Valérie Benoit (1), Ahmad Merhi (5), Christophe Philippe (6, 7), Laurence Faivre (8, 9), Isabelle Maystadt (1)

1. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique
2. Laboratory of Zebrafish Development and Disease Models (ZDDM), , GIGA-Research, Tour B34, Université de Liège, Liège, Belgique
3. Zebrafish Platform, GIGA-Research, Tour B34, Université de Liège, Liège, Belgique
4. Imaging and Flow Cytometry Platform, GIGA-Research, Tour B34, Université de Liège, Liège, Belgique
5. IPG BioBank, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies (Charleroi), Belgique
6. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental disorders, Université de Bourgogne-Franche Comté, FHU TRANSLAD, Dijon, France
7. Unité Fonctionnelle « Innovation diagnostique dans les maladies rares », laboratoire de génétique moléculaire, plate-forme de biologie hospitalo-universitaire, CHU Dijon, Dijon, France
8. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est », Hôpital d'Enfant, CHU Dijon, Dijon, France
9. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France

Mots clefs : EIF2S3, syndrome MEHMO, poisson-zèbre, CRISPR/Cas9, apoptose cérébrale

Résumé :

Le syndrome MEHMO (acronyme pour Mental deficiency with epileptic seizures, hypogonadism and hypogenitalism, microcephaly and obesity) est une forme rare de déficience intellectuelle syndromique liée au chromosome X, causée par des mutations hémizygotiques dans le gène *EIF2S3*. Ce gène code pour la sous-unité γ du complexe trimérique eIF2 qui joue un rôle primordial dans l'initiation de la synthèse protéique. Une mutation récurrente dans le gène *EIF2S3* (p.Ile465Serfs*4) entraînant un décalage du cadre de lecture a été identifiée chez des patients sévèrement atteints tandis que les quelques mutations faux-sens rapportées sont plutôt responsables d'un phénotype incomplet de déficience intellectuelle, microcéphalie, retard de croissance et épilepsie. Nous avons identifié une nouvelle mutation faux sens (c.433A > G, p.Met145Val) à l'état hémizygotique chez un sujet masculin présentant une déficience intellectuelle légère, microcéphalie et cryptorchidie. Nous avons choisi le poisson-zèbre comme modèle *in vivo* vertébré pour confirmer la pathogénicité de cette mutation ainsi que de trois autres mutations faux sens décrites dans la littérature. En effet, l'inactivation transitoire du gène *elf2s3* orthologue du poisson-zèbre par injection d'oligonucléotides (morpholinos) entraînait un phénotype de microcéphalie partiellement compensé par la co-injection d'ARN humain EIF2S3 sauvage, et non par celle d'ARN muté. La réalisation de différentes lignées mutantes stables par la technique de CRISPR/Cas9 a complété ces premières expériences et a permis la reproduction de la microcéphalie chez le poisson-zèbre. Des études d'immunofluorescence et d'apoptose au départ de ces différentes lignées ont montré que ce déficit était dû, en partie du moins, à une augmentation de la mort de cellules neuronales à un stade précoce du développement. Au niveau pancréatique, des études d'immunofluorescence et d'hybridation *in situ* ont révélé une diminution du nombre tant des cellules β sécrétrices d'insuline que des progéniteurs pancréatiques, non liée à de l'apoptose. Enfin, des études complémentaires au départ de cultures fibroblastiques de patients avec mutation faux sens ont montré la présence de la protéine eIF2 γ mais aucune apoptose n'a été mise en évidence, ni en condition de base, ni après utilisation d'inducteurs d'apoptose. En conclusion, nous confirmons l'élargissement du spectre phénotypique chez les patients avec mutation faux sens dans le gène *EIF2S3* et nous suggérons que le syndrome MEHMO soit spécifiquement lié à une mutation récurrente (p.Ile465Serfs*4) dans ce gène. Nous décrivons un modèle poisson-zèbre robuste qui récapitule le phénotype humain observé. Outre l'apoptose retrouvée de façon inconstante dans nos expériences, nos études fonctionnelles sur poisson zèbre et sur cultures fibroblastiques amènent de nouvelles perspectives physiopathologiques et suggèrent des défauts précoces de différenciation cellulaire.

CS53 : Integration of polygenic scores, copy-number variants, inbreeding and ancestry increases the yield of genetic diagnostics for neurodevelopmental disorders in a large group of >13,000 individuals

Auteurs :

Claire Leblond-Manry (1), Freddy Cliquet (1), Myriam Rachid (2), Alexandre Mathieu (1), Julien Fumey (3), Amaury Vaysse (3), Thomas Rolland (1), David-Alexandre Tregouet (4, 5), Boris Keren (6), Julien Buratti (1), Sandra Chantot-Bastaraud (7), Eva Pipiras (8), Jonathan Lévy (2), Celine Dupont (2), Laurence Perrin (9), Alain Verloes (10), Anna Maruani (11, 1), Delphine Heron (12), Cyril Mignot (13), Brigitte Benzacken (14), Loïc De Pontual (15), Sandra Whalen (16), Jean-Pierre Siffroi (17), David Germanaud (18), Valérie Biran (19), Richard Delorme (20), Thomas Bourgeron (3), Anne-Claude Tabet (21)

1. Unité GHFC, département de neurosciences, Institut Pasteur, paris, France
2. UF de Cytogénétique -Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, paris, France
3. Unité GHFC, département de neurosciences, Institut Pasteur, Paris, France
4. UPMC , Univ. Paris 06, , Paris, France
5. INSERM, UMR S 1166, Team Genomics & Pathophysiology of Cardiovascular Diseases, , APHP, Paris, France
6. génétique chromosomique, Hôpital Pitié Salpêtrière, paris, France
7. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, paris, France
8. Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction,, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Bondy, France
9. Service de génétique clinique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, Paris, France
10. Service de génétique clinique, APHP, Paris, France
11. Service de psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, paris, France
12. Service de génétique clinique, CHU La Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France
13. Service de génétique clinique, CHU La Pitié Salpêtrière, APHP, paris, France
14. UF de Cytogénétique , Hopital Jean-Verdier, Bondy, France
15. Service de pédiatrie, Hôpital Jean Verdier, APHP, Bondy, France
16. Service de génétique clinique, CHU Trousseau, APHP, Paris, France
17. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
18. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
19. Service de néonatalogie, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
20. Département de psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, Hopital Robert Debré, Unité GHFC-Institut Pasteur, paris, France
21. UF de Cytogénétique -Département de Génétique/ Unité GHFC, département de neurosciences, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France/Institut Pasteur, Paris, France, paris, France

Mots clefs : polygenic scores, copy-number variants, ancestry, SNP array, neurodevelopmental disorders

Résumé :

Introduction: We analyzed the largest group to date of individuals from France with neurodevelopmental disorders (NDD) coming from four hospitals of AP-HP, France (Robert Debré, Trousseau, La Pitié Salpêtrière, Jean Verdier). The data from 8,300 patients, 2,000 relatives and 2,955 controls were collected from two Illumina SNP array platforms over 5 years (2013-2017). Patients were grouped according to the biomedicine agency categories: syndromic intellectual disability (S-ID; N=3047), multiple congenital anomalies (N=1025), isolated ID (N=1058), autism (N=1864) and other (N=1742). The CNVs were called using QuantiSNP and PennCNV and then compared to CNV partition, the algorithm used for diagnosis. Genotyping data were also used to estimate the ancestry and to compute the inbreeding coefficient as well as the polygenic score for different traits such as autism and intelligence.

Results: The analysis of this large sample of patients with NDD revealed several important results: First, QuantiSNP and PennCNV outperform CNV partition for the detection of CNVs. The new algorithms could increase the yield of genetic diagnosis (e.g. three patients with SHANK3 deletions were identified). Second, patients with S-ID, ID or autism had a higher burden of CNV affecting genes associated with NDD/autism or expressed in the brain or intolerant for deleterious mutation ($pLI > 0.9$) compared to controls. Interestingly patients with autism had also higher polygenic scores for autism compared to controls ($p < 10^{-22}$) or other diagnostic categories ($p < 10^{-3}$), confirming the strong polygenic contribution to autism. Third, we could find that a high level of inbreeding was a risk for S-ID and ID, but not for autism. Finally, the role of several genes will be discussed such as TRPM1, SHANK3, PTGER3, OTUD7A, MTMR10, PTGER3, SDHA, PIGW, HNF1B, GGNBP2, CCDC127, ACACA, KLF13, VPS37D, SPNS1, RIMBP3, BAZ1B and ATXN2L. These genes might be important to understand the shared and specific mechanisms leading to different clinical trajectories.

Conclusion: Our large-scale French study of NDD, combining new genetic approaches, provides a better yield of genetic diagnostic for NDD. It results from the collaboration between clinicians and quantitative geneticists through data sharing, standardization and multi-level analyses. In order to go further, more data such as whole genome sequencing and standardized clinical data from deep phenotyping will be necessary to provide better diagnostic and prognostic insight. We also observed a very high degree of heterogeneity in the ancestry of the population, which will require match ancestry controls in order to provide diagnostic to all individuals attending to the hospital in France, not only those from European descents for which we have control data.

CS54 : Rendement diagnostique du séquençage d'exome dans le trouble du spectre de l'autisme

Auteurs :

Thomas Husson (1, 2), Lecoquierre François (1), Kevin Cassinari (3), Charbonnier Camille (4), Quenez Olivier (4), Goldenberg Alice (3), Guerrot Anne-Marie (1), Richard Anne-Claire (4), Anne-Claire Brehin (1), Soleimani Maryam (3), Taton Romain (5), Maud Rotharmel (6), Antoine Rosier (5), Pascal Chambon (3), Le Meur Nathalie (3), Joly-Helas Géraldine (3), Saugier-Weber Pascale (3), Anne Boland (7), Deleuze Jean-François (7), Robert Olasso (7), Thierry Frebourg (3), Gael Nicolas (3), Olivier Guillin (4, 2), Dominique Campion (4, 2)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen, CHU de Rouen, ROUEN, France
2. Département de recherche, Centre Hospitalier du Rouvray, SOTTEVILLE-Lès-ROUEN, France
3. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Centre Ressources Autisme Normandie Seine Eure, CH du Rouvray, SOTTEVILLE-Lès-ROUEN, France
6. Département de recherche, CH du Rouvray, SOTTEVILLE-Lès-ROUEN, France
7. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, Evry, France

Mots clés : Trouble du spectre de l'autisme, génétique, séquençage à haut débit

Résumé :

Le TSA (Trouble du Spectre de l'Autisme) est caractérisé par l'apparition précoce de difficultés persistantes dans les interactions sociales associées à un caractère restreint des activités. Le déterminisme génétique du TSA est complexe, incluant de nombreux facteurs génétiques. Ces dernières années, un très important effort de recherche a permis l'identification de plusieurs centaines de facteurs de risque génétique dans le TSA, répartis en 3 grandes catégories : (1) gènes responsables de troubles neurodéveloppementaux monogéniques dont l'autisme est l'une des manifestations possibles, (2) CNVs récurrents associés à l'autisme dans des études cas/témoins et (3) gènes présentant un excès de mutations tronquantes de novo dans les études de trios. Il importe maintenant de retranscrire ces avancées sur le rôle des variants rares de fort impact en des termes directement utilisables par les cliniciens à l'issue de la consultation de génétique recommandée par la HAS pour tout patient avec TSA. Pour cela, nous avons établi des critères stricts pour la classification des gènes à risque ainsi que pour l'interprétation des variants et conduit une étude pilote sur 253 patients adressés à notre consultation suite à un diagnostic établi par notre centre de ressources autisme.

Nous avons séquençé l'exome de ces patients, dont 68 présentaient une déficience intellectuelle comorbide et 90 avaient reçu un diagnostic de syndrome d'Asperger. Notre *pipeline* bio-informatique a permis la détection des variants nucléotidiques et des variations du nombre de copies (*copy-number variation*, CNV). Nous avons utilisé des critères stringents pour la conception d'une liste de 217 gènes associés au TSA de façon certaine ou probable et classé ces gènes dans l'une au moins des trois catégories précédemment décrites. Pour les variants retenus, la transmission a été obtenue par séquençage Sanger des parents.

Nous avons détecté un variant génétique conférant un risque de TSA chez 19,7% des patients (IC95% : [15%-25,2%]), dont 18 sont des CNVs (7,1% [4,3%-11%]) et 32 des variants nucléotidiques (12,6% [8,8%-17,4%]). Lorsque l'échantillon a été séparé en sous-groupes cliniques, les patients avec déficience intellectuelle présentaient le taux de détection de variants pathogènes le plus élevé (30,1% [20,2%-43,2%]). Le groupe de gènes présentant un excès de variations *de novo* tronquantes (n= 81) est le plus fort contributeur de variants à risque chez nos patients. Les récentes grandes études de trio ayant permis leur découverte ont donc un impact majeur pour le diagnostic étiologique du TSA.

Dans la mesure où il n'y a pas actuellement de preuve d'une implication *nécessaire* et *suffisante* de ces gènes dans le TSA, nous recommandons d'éviter le terme « gènes/variants causaux de TSA » lors du rendu diagnostique et de préférer le terme « facteur de risque génétique de TSA ». Les implications de ces résultats en terme de conseil génétique seront discutées.

CS55 : Description de la série française des patients porteurs de variations bialléliques pathogènes du gène *NTHL1* issue des laboratoires du GGC**Auteurs :**

Flavie Boulouard (1), Edwige Kasper (1), Marie-Pierre Buisine (2), Gwendoline Lienard (1), Stéphanie Vasseur (1), Sandrine Manase (1), Michel Bauau (3), Virginie Bubien (4), Florence Coulet (5), Véronica Cusin (6), Marion Dhooge (7), Lisa Golmard (8), Vincent Goussot (9), Nadim Hamzaoui (10), Elodie Lacaze (11), Sophie Lejeune (12), Jacques Mauillon (1), Stéphane Pinson (13), Jean-Marc Rey (14), Camille Tlemsani (15), Christine Toulas (16), Nancy Uhrhammer (17), Gaëlle Bougeard-Denoyelle (1), Thierry Frebourg (1), Claude Houdayer (1), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Les laboratoires du Groupe Génétique et Cancer (GGC) (18)

1. Département de Génétique et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Inserm et Université de Rouen, Rouen, France
2. Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Oncogénétique Moléculaire, CHU de Lille, Inserm UMR-S 1172, Université de Lille, CHU de Lille, Inserm et Université de Lille, Lille, France
3. Département de Biochimie-biologie moléculaire, Pharmacologie, génétique médicale, CHU Henri Mondor, Créteil, France
4. Département de BioPathologie, Unité d'Oncogénétique - Laboratoire de génétique moléculaire, CLCC Institut Bergonié, Bordeaux, France
5. Département de Génétique, CHU Paris - Sorbonne Université - GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Département de Génétique, CHU Paris - Sorbonne Université - GH La Pitié Salpêtrière - Charles Foix - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Service de gastro-entérologie, CHU Paris Centre - Hôpital Cochin, Site Cochin, Paris, France
8. Service de Génétique - Unité de Génétique constitutionnelle, CLCC Institut Curie, PSL Research University, Paris, France
9. Département de biologie et pathologie des tumeurs, CLCC Georges-François Leclerc, Dijon, France
10. Service de génétique et biologie moléculaire - Biologie, Pharmacie, pathologie, CHU Paris Centre - Hôpital Cochin, Site Cochin, Paris, France
11. Service de génétique médicale, GH du Havre - Hôpital Jacques Monod, Le Havre, France
12. Clinique de Génétique, CHU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
13. Service de Génétique Moléculaire et Clinique - Unité Médicale de Génétique des Cancers et des Maladies Multifactorielles, CHU de Lyon HCL - GH Est, Lyon, France
14. Laboratoire de Biologie des Tumeurs Solides - Pôle Biologie Pathologie, CHU de Montpellier - Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
15. Service de Cancérologie, CHU Paris Centre - Hôpital Cochin, Site Cochin, Paris, France
16. Laboratoire d'oncogénétique - laboratoire de Biologie médicale oncologique, Institut Universitaire du Cancer Toulouse - Oncopole, Toulouse, France
17. Laboratoire de Biologie Médicale OncoGènAuvergne - Unité d'Oncogénétique, CLCC Jean Perrin, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
18. Génétique, Unicancer, Paris, France

Mots clefs : *NTHL1*, prédisposition héréditaire, cancer colorectal, polyposé

Résumé :

Les variations pathogènes bialléliques du gène *NTHL1* (Nth Like DNA Glycosylase 1) codant une glycosylase impliquée dans le mécanisme de réparation de l'ADN par excision de base (BER), sont décrites comme responsables d'une prédisposition au cancer colorectal et au développement de polypes adénomateux multiples. Actuellement, seuls 34 patients porteurs de variations pathogènes bialléliques de *NTHL1* appartenant à 22 familles ont été rapportés. Le spectre tumoral des porteurs d'une variation biallélique du gène *NTHL1* est dominé par les cancers colorectaux mais d'autres tumeurs de localisations variées ont été rapportées : cancers du sein, tumeurs cérébrales, cancers urothéliaux, carcinomes basocellulaires, cancers hématologiques et cancers de l'endomètre. Actuellement, le gène *NTHL1* n'est pas analysé au titre du diagnostic en France, même s'il est inclus dans des panels recherche. L'objectif de cette étude nationale consiste à documenter le nombre et le phénotype des patients porteurs d'une variation biallélique du gène *NTHL1* identifiée dans les laboratoires du Groupe Génétique et Cancer. Le gène *NTHL1* est principalement analysé dans un contexte de polyposé ou de cancer colorectal mais aussi dans le cadre d'un panel recherche élargi. Parmi les 10 centres effectuant l'analyse du gène, nous avons recueilli les données de 10 nouveaux patients porteurs de variations bialléliques du gène *NTHL1* issus de 9 familles différentes. Il s'agit de 6 variants distincts rapportés à l'état homozygote ou hétérozygote composite. La plupart des patients ayant bénéficié d'une coloscopie (7/8) ont présenté des polypes adénomateux et/ou hyperplasiques avec un âge moyen au diagnostic de 52 ans [24-63]. Nous rapportons dans cette série un cancer du côlon à 58 ans, un cancer duodénal à 52 ans, un cancer de l'endomètre à 51 ans, un sarcome sinonasal à 46 ans, deux cancers du sein à 42 ans et 47 ans, deux carcinomes basocellulaires à 40 ans et 64 ans, un cancer du pancréas à 54 ans, un cancer de la prostate à 47 ans et un ostéosarcome à 54 ans avec l'existence de 3 cas de tumeurs primitives multiples. Il s'agit de la deuxième série en nombre de patients rapportés. Ce travail national, en augmentant les connaissances sur le spectre phénotypique des porteurs d'altérations

bialléliques du gène *NTHL1*, encouragerait l'inclusion de ce gène dans le panel Tube digestif du Groupe Génétique et Cancer avec recommandations de prise en charge digestive adaptées aux patients à haut risque. En revanche, l'établissement de recommandations de surveillance liée au risque des autres cancers nécessite des études épidémiologiques approfondies.

CS56 : Recommandations nationales du Groupe Génétique et Cancer - Unicancer sur les modalités d'analyses en panels multi-gènes dans les prédispositions héréditaires aux tumeurs du tube digestif**Auteurs :**

Marion DHOOGHE (1), Stéphanie BAERT-DESURMONT (2), Carole CORSINI (3), Nadine ANDRIEU (4), Valérie BONADONA (5), Pascaline BERTHET (6), Bruno BUECHER (7), Olivier CARON (8), Odile COHEN-HAGUENAUER (9), Christine LASSET (5), Capucine DELNATTE (10), Antoine DE PAUW (7), Sophie DUSSART (5), Dominique LEROUX (11), Christine MAUGARD (12), Jessica MORETTA-SERRA (13), Cornel POPOVICI (13), Chrystelle COLAS (7), Catherine NOGUES (13)

1. Gastroentérologie, Hôpital Cochin, Paris, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire - Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
3. Service de Génétique, CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Inserm - Epidémiologie génétique du cancer, Institut Curie, Paris, France
5. Unité Clinique d'Oncologie Génétique, Centre Léon-Berard, Lyon, France
6. Service d'Oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen, France
7. Département d'Oncologie Génétique, Institut Curie, Paris, France
8. Département d'Oncogénétique, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
9. Unité d'Oncogénétique, GH Saint-Louis-Lariboisière-Fernand-Widal, Paris, France
10. Unité d'Oncogénétique, Institut Cancérologique de l'Ouest - René Gauducheau, Nantes, France
11. Département d'Hématologie, Onco-Génétique et Immunologie, CHU de Grenoble - Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
12. Consultation d'oncogénétique, CHU de Strasbourg - Hôpital Civil, Strasbourg, France
13. Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers - Oncogénétique clinique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

Mots clefs : Cancer colorectal, polyposé colique, séquençage NGS, panel

Résumé :**INTRODUCTION**

Face à une suspicion de prédisposition héréditaire aux cancers du tube digestif avec ou sans polyposé, le séquençage de nouvelle génération (NGS) permet d'analyser simultanément un grand nombre de gènes. Des panels de gènes dits «digestifs», ont été récemment mis en place et sont couramment utilisés dans de nombreux laboratoires de génétique moléculaire français. En l'absence de recommandations nationales, il existe des disparités dans la composition de ces panels et dans la prise en charge des patients porteurs de mutations délétères.

MATERIELS ET METHODES

Afin d'harmoniser ces nouveaux panels, le Groupe Génétique et Cancer (GGC)-Unicancer a constitué un groupe de travail de 19 experts (génétiiciens cliniciens et moléculaires, conseiller en génétique, gastroentérologues et épidémiologistes français) qui ont procédé à une revue de la littérature pour 31 gènes jugés d'intérêt en cas de suspicion de prédisposition héréditaire aux tumeurs gastro-intestinales.

Le groupe a identifié les articles comportant des estimations de risques tumoraux. Leurs résultats et éventuels biais ont été discutés afin de valider une liste des gènes dont le risque estimé semblait suffisamment fiable et élevé pour une utilisation clinique.

En raison de leur statut bien établi, les gènes MMR et APC n'ont pas été évalués. Pour le gène *MUTYH*, seuls les risques associés aux mutations délétères mono alléliques ont été étudiés.

Ont été retenus pour constituer le panel, les gènes dont les mutations sont associées à un risque de tumeurs du tube digestif et / ou à un phénotype digestif bien établis, justifiant une prise en charge spécifique.

RESULTATS

Ce travail a permis de définir un panel de 14 gènes d'intérêt clinique confirmé : *APC*, *BMPR1A*, *CDH1*, *EPCAM*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH* (mutations bi-allélique), *PMS2*, *POLD1*, *POLE*, *PTEN*, *SMAD4* et *STK11* que le GGC-Unicancer recommande d'utiliser lors d'une suspicion de prédispositions aux cancers du tube

digestif.

Les raisons de l'exclusion des 17 autres gènes ont été argumentées.

L'insuffisance des estimations des risques tumoraux associés a mené à l'exclusion de gènes, en particulier *CTNNA1*, *MSH3* et *NTHL1*, malgré des arguments physiopathologiques très évocateurs comme leur implication dans certaines voies moléculaires.

Les recommandations de dépistage, de prévention et le conseil génétique ont été discutés pour tous les gènes évalués.

CONCLUSION

Face à une suspicion de prédisposition héréditaire aux cancers du tube digestif avec ou sans polypose, le groupe GGC-Unicancer recommande d'utiliser ce panel de 14 gènes d'intérêt clinique établi.

En raison de l'évolution rapide des connaissances, une mise à jour annuelle de la littérature est prévue pour améliorer ce panel en cas de données nouvelles sur des gènes candidats.

Des études génétiques et épidémiologiques sont nécessaires pour mieux estimer les risques associés aux gènes non sélectionnés dans le panel actuel.

CS57 : Développement et validation d'un essai fonctionnel TP53 rapide sur prélèvement sanguin

Auteurs :

Sabine Raad (1), Marion Rolain (2), Sophie Coutant (1), Céline Derambure (1), Raphaël Lanos (1), Emilie Bouvignies (2), Stéphanie Vasseur (2), Edwige Kasper (1), Abdellah Tebani (3), Stéphanie Baert-Desurmont (4), Soumeiya Bekri (3), Gaëlle Bougeard (1), Thierry Frébourg (1), 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 Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
3. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Biochimie Métabolique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, 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 : TP53, p53, test fonctionnel, Li-Fraumeni, cancer, prédisposition génétique

Résumé :

Chez un patient atteint d'un cancer, l'identification d'une variation constitutionnelle pathogène de *TP53* a un impact médical majeur, à la fois pour la prise en charge thérapeutique (chirurgie élargie plutôt que radiothérapie et chimiothérapie complémentaire pour réduire le risque de tumeurs secondaires) et pour son suivi et celui des apparentés porteurs, suivi incluant IRM corps entier, IRM cérébrale et IRM mammaire. Le défi majeur pour les laboratoires diagnostiques est l'interprétation des variations détectées dans ce gène qui sont majoritairement des variations faux-sens. Le nombre de variants de *TP53* à interpréter est en évolution rapide suite à l'intégration récente de ce gène dans les panels élargis tels que ceux dédiés aux prédispositions génétiques aux cancers du sein et de l'ovaire. Notre équipe a développé il y a quelques années un test fonctionnel simple pour évaluer l'impact de variants sur l'activité transcriptionnelle de p53. Ce test réalisé dans le contexte génétique des patients nécessite l'établissement d'une lignée lymphoblastoïde, ce qui n'est pas compatible avec les exigences du diagnostic en termes de délai. Nous avons donc développé un essai fonctionnel réalisé directement sur le sang des patients et permettant d'obtenir rapidement un résultat en 7 jours. Après prélèvement sur tube EDTA, les cellules mononuclées du sang sont isolées et stimulées pendant 48h avec une combinaison de mitogènes, puis exposées pendant 8 heures à la doxorubicine afin d'induire un stress génotoxique. La réponse transcriptionnelle médiée par p53 est évaluée à la fois par RT-QMPSF et RT-MLPA mesurant l'expression de (i) 10 gènes cibles de p53, (ii) de *TP53* lui-même, (iii) de 3 gènes contrôles insensibles au stress génotoxique et (iv) d'un gène marqueur du stress génotoxique. Ce test rapide permet également de révéler de façon simultanée l'impact d'altérations sur les niveaux de transcrit du gène *TP53*. Nous avons à ce jour réalisé cet essai fonctionnel sur près de 80 prélèvements de cas index ou d'apparentés adressés à notre laboratoire pour analyse de *TP53* parmi lesquels 18 étaient porteurs d'un variant de *TP53*. Le test a été réalisé en aveugle en parallèle du criblage mutationnel. Les variants de classe 4 et 5 ont été clairement identifiés dans ce test par un score fonctionnel réduit par rapport aux individus de génotype sauvage. Parmi ces variants, les mutations aboutissant à un codon stop prématuré (mutation frameshift, mutation d'épissage) ont été révélées par une réduction des niveaux de transcrits de p53 par le NMD (*nonsense-mediated mRNA decay*). A l'aide de ce test, nous avons maintenant entrepris d'analyser des variants de signification biologique inconnue de *TP53* et d'évaluer la réponse transcriptionnelle liée à p53 dans les cellules de patients très évocateurs d'un Li-Fraumeni sans mutation détectée des régions codantes de *TP53* afin de démasquer d'éventuelles altérations cryptiques. * S.RAAD et M. ROLAIN contribution égale

CS58 : Ostéosarcome primaire sans rétinoblastome et variant pathogène constitutionnel RB1 à faible pénétrance : une nouvelle entité clinique du syndrome de prédisposition héréditaire lié à RB1?**Auteurs :**

Marion Imbert-Bouteille (1), Marion Gauthier-Villars (2), Dominique Leroux (3), Isabelle Meunier (4), Isabelle Aerts (5), Livia Lumbroso-Le Rouic (6), Sophie Lejeune (7), Capucine Delnatte (8), Caroline Abadie (8), Pascal Pujol (9), Claude Houdayer (10, 11), Carole Corsini (9)

1. Département de génétique médicale, CHU Montpellier, Université Montpellier, Montpellier, France
2. Département de biologie tumorale, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France
3. Département de génétique médicale, CHU Grenoble, Grenoble, France
4. Centre national des maladies rares, Troubles héréditaires de la rétine et du nerf optique, CHU Montpellier, Université Montpellier, Montpellier, France
5. Département d'oncologie pédiatrique, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France
6. Département d'oncologie oculaire, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France
7. Département de génétique médicale, CHRU Lille, Lille, France
8. Oncogénétique, Site de l'Institut de cancérologie de l'Ouest René Gauducheau, Saint-Herblain, France
9. Service de génétique médicale, Unité d'oncogénétique clinique, CHRU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
10. Département de génétique, CHU de Rouen, Université Normandie, Inserm U1245, Rouen, France
11. F76000 et Université Normandie, UNIROUEN, Inserm U1245, Centre de Normandie pour la génomique et la médecine personnalisée, Université et INSERM, Rouen, France

Mots clefs : gène RB1, sarcome, ostéosarcome, mutation à faible pénétrance, dépistage, IRM corps entier, nouvelle entité

Résumé :

Introduction: Le rétinoblastome (Rb) est une tumeur maligne intraoculaire rare de l'enfant dont la survie globale est élevée. La prédisposition au Rb est liée à des mutations constitutionnelles du gène *RB1* avec une forte pénétrance dans la majorité des cas, mais des variants rares de *RB1* à faible pénétrance sont également connus. Les patients avec un antécédent personnel de rétinoblastome ont un sur-risque de développer une tumeur maligne (primitive) secondaire, principalement un ostéosarcome et/ou un sarcome des tissus mous. Néanmoins, le risque de survenue d'ostéosarcome primaire chez les porteurs de mutation germinale *RB1* n'ayant pas développé de rétinoblastome n'a encore jamais été rapporté.

Méthode : Nous décrivons un patient sans Rb qui a développé un ostéosarcome à 17 ans dans un contexte familial de sarcome.

Résultats: De manière inattendue, les analyses génétiques ont identifié une mutation germinale à faible pénétrance du gène *RB1* [NM_000321.2: c.45_76dup; p. (Pro26Leufs*50)]. Huit autres patients porteurs de mutations *RB1* à faible pénétrance, issus de la littérature et de la cohorte française de l'Institut Curie, ont également développé des ostéosarcomes et sarcomes sans Rb au préalable.

Conclusion : Nous proposons que la survenue initiale d'un sarcome ou d'un ostéosarcome primaire pourrait être une nouvelle présentation clinique de la prédisposition héréditaire liée aux variants pathogènes de *RB1* à faible pénétrance. D'une part, une vigilance clinique accrue est nécessaire dans ces familles afin de dépister les tumeurs malignes primaires et secondaires telles que les sarcomes ou les ostéosarcomes. D'autre part, en complément de la surveillance ophtalmologique se discute la réalisation d'une surveillance radiologique par IRM corps entier chez les apparentés asymptomatiques porteurs de la mutation *RB1* de faible pénétrance.

Pièce jointe : abstract assises 2020 Corsini et al définitif.pdf

CS59 : Identification de potentielles séquences régulatrices distantes des gènes de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire.**Auteurs :**

Nicolas GOARDON (1), Agathe RICOU (2), Alexandre ATKINSON (2), Edwige LEMOISSON (3), Marilyne GUILLAMIN (3), Victor BARRAUX (4), Alain BATALLA (4), Germain ROUSSELET (5, 6), Sophie KRIEGER (2), Laurent CASTERA (2), Laurent POULAIN (3), Paul-Henri ROMEO (5, 6), Thierry FREBOURG (7, 8), Dominique VAUR (9)

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. 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. Inserm U1086, CLCC Centre François Baclesse., Caen, France
4. Radiothérapie, CLCC Centre François Baclesse., Caen, France
5. DSV-iRCM-LRTS, CEA, Fontenay aux Roses, France
6. INSERM U967, CEA, Fontenay aux Roses, France
7. INSERM U1245. Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Université de Normandie, Rouen, France
8. Département de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Rouen, France
9. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée., Centre Hospitalier Universitaire, Caen, France

Mots clefs : Prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire, Séquences régulatrices, TAD, Capture-C

Résumé :

Près de 5 % des cancers du sein et de l'ovaire correspondent à des formes familiales liées à une prédisposition génétique. Depuis ces deux dernières décennies, de nombreuses mutations délétères conférant des niveaux de risques variables en fonction du gène affecté ont été décrites. De même, de nombreuses études pangénomiques ont mis en évidence l'existence de SNPs conférant un risque faible. Ces différentes mutations et SNPs ainsi que leur combinaison ne peuvent néanmoins expliquer l'ensemble des situations cliniques évocatrices d'un risque génétique augmenté. Cette hérédité manquante pourrait ainsi être due à des situations multigéniques ou oligogéniques mais aussi à des événements présentant un déterminisme monogénique et affectant les séquences non codantes du génome. En effet, plusieurs études génomiques ont démontré que pour de nombreuses pathologies humaines incluant le cancer, les variants rares ne se cantonnent pas au 2% codant du génome mais qu'une grande majorité se situe dans des régions du génome occupées par des protéines liant l'ADN. Ces variants pourraient dès lors altérer des séquences régulatrices proximale ou distante, et ainsi l'expression des gènes associés. Afin d'identifier les séquences régulatrices à distance des gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C* et *RAD51D*) peu caractérisées, nous avons utilisé la méthode de capture de la conformation des chromosomes « capture-C » qui combine la technologie de capture d'oligonucléotides, la technologie 3C et le séquençage à haut débit permettant ainsi d'interroger à haute résolution dans un seul test les interactions en cis et potentiellement en trans pour des centaines de locus sélectionnés. Dans un premier test, nous avons pu ainsi identifier des régions d'interactions avec les promoteurs de chacun de ces gènes dans des cellules primaires mammaires sauvage ou irradiées afin d'induire des cassures double brin de l'ADN. Ces zones d'interaction se situent entre une dizaine de Kb et jusqu'à 1 Mb en amont ou aval du promoteur des gènes étudiés. De plus, certaines de ces zones d'interaction interagissent de manière différentielle en fonction de l'irradiation ou non des cellules. La comparaison des données de la capture-C avec les données de Hi-C de la littérature montre que certaines interactions ne sont pas comprises dans le domaine d'association topologique (TAD) ou se trouve le gène correspondant et montre ainsi des interactions inter-TADs. Aucune interaction en trans n'a pu être observée dans ces conditions. L'identification des potentielles séquences régulatrices distantes des gènes *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C* et *RAD51D* sera répliquée dans les cellules mammaires puis poursuivie dans des cellules primaires ovariennes et prostatiques afin d'identifier les séquences régulatrices tissu spécifique. L'impact de variants affectant ces séquences sera ensuite étudié dans le cadre de la prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire.

CS60 : Caractérisation de 200 variations hétérozygotes du gène PMS2 identifiées chez 195 patients français présentant un syndrome de Lynch**Auteurs :**

Qing Wang (1), Julie Leclerc (2), Gaëlle Bougeard (3), Sylviane Olschwang (4), Stéphanie Vasseur (5), Kévin Cassinari (3), Denis Boidin (6), Cedrick Lefol (1), Pierre Naïbo (1), Thierry Frebourg (3), Marie-Pierre Buisine (2), Stéphanie Baert-Desurmont (3), (GGC) Le Groupe Génétique et Cancer (7)

1. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle HCL-CLB, Centre Léon Bérard, Lyon, France
2. Institut de Biochimie et Biologie moléculaire, CHU de Lille, et Inserm UMR-S 1172, Centre de Recherche Jean-Pierre Aubert, Université de Lille, Lille, France
3. Département de Génétique et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Inserm et Université de Rouen, Rouen, France
4. Aix Marseille Université, INSERM GMGF UMR 1251; Département de Génétique Médicale, Hôpital Européen & Groupe Ramsay Générale de Santé, Hôpital Clairval, Marseille, France
5. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Institut de Biochimie et Biologie moléculaire, CHU de Lille, Lille, France
7. CRLCC et CHU, Unicancer, Paris, France

Mots clefs : prédisposition héréditaire au cancer, syndrome de Lynch, PMS2, défaillance du système de réparation MMR

Résumé :

Une variation pathogène hétérozygote du gène *PMS2* est identifiée chez environ 5 % des patients présentant un syndrome de Lynch. Cependant cette contribution est probablement sous-estimée et la description du phénotype associée limitée, compte-tenu de la complexité des techniques d'analyse requises, liées à l'existence de nombreux pseudogènes très homologues. Nous rapportons 200 variations hétérozygotes du gène *PMS2*, incluant 112 variations distinctes, identifiées chez 195 patients français, analysés dans les laboratoires de Lille, Lyon et Rouen. Nous avons classé, selon les critères InSiGHT et NGS-Diag adaptés de l'ACMG, 67 % des variations en pathogènes (classe 5), 7 % en probablement pathogènes (classe 4) et 26 % en variations de signification inconnue (classe 3). Les réarrangements génomiques représentaient 18 % des altérations. Nous avons mis en évidence des variations récurrentes, notamment la variation c.137G > T, p.(Ser46Ile) identifiée chez 18 % des patients, et pour laquelle nous avons exploré l'hypothèse d'un effet fondateur. Dans cette série, les 161 patients porteurs d'une variation de classe 4 ou 5 de *PMS2*, ont présenté leur première tumeur à 49 ans en moyenne. Il s'agissait majoritairement d'un cancer colorectal (80 %) ou d'un cancer de l'endomètre (8 %). De manière remarquable, sept patients ont développé un cancer colorectal avant l'âge de 30 ans, le plus jeune à 21 ans. Seuls 6 % des patients porteurs d'une variation pathogène appartenaient à une famille répondant aux critères d'Amsterdam (II). Les tumeurs des patients porteurs de variations pathogènes de *PMS2* présentaient une instabilité microsatellitaire (96 %) et une perte d'expression isolée de la protéine PMS2 en immunohistochimie (76 %), confirmant ainsi la valeur prédictive positive des analyses somatiques. Nous confirmons donc sur cette série de 195 patients français (i) la faible pénétrance globale des variations pathogènes du gène *PMS2*, en soulignant toutefois que cela n'exclut pas la survenue de cas précoces de cancers (5 % avant 30 ans) et donc l'implication de facteurs modificateurs, et (ii) la haute valeur prédictive positive de la perte d'expression isolée de la protéine PMS2, vis-à-vis d'une altération constitutionnelle du gène. Le gène *PMS2*, malgré sa complexité d'analyse spécifique, est désormais inclus dans les panels de gènes de prédisposition au cancer colorectal, mais également au syndrome sein/ovaire, ce qui conduit à l'identification d'un nombre croissant de variations de signification inconnue, dont la présence doit être confirmée par une méthode indépendante du NGS garantissant l'analyse spécifique du gène *PMS2*. Dans ce contexte, cette série de 200 variations interprétées constitue un atout majeur pour harmoniser l'expertise d'interprétation au niveau national et international.

Pièce jointe : Abstract PMS2 assises Tours 2020 VF.docx

CS61 : Impact psychosocial du test génétique prédictif dans les maladies cardiaques héréditaires : étude PREDICT.

Auteurs :

Céline Bordet (1), Sandrine Brice (2), Carole Maupain (1), Estelle Gandjbakhch (3, 1), Bertrand Isidor (4), Aurélien Palmyre (5), Alexandre Moerman (6), Annick Toutain (7), Sylvie Odent (8), Anne Claire Brehin (9), Laurence Olivier Faivre (10), Caroline Rooryck Thambo (11), Elise Schaefer (12), Karine Nguyen (13), Delphine Dupin Deguine (14), Cecile Rouzier (15), Pierre Simon Jouk (16), Marylin Lackmy Port Lis (17), Isabelle Denjoy (18), Stephanie Staraci (1), Rafik Mansouri (1), Amine Bekhechi (1), Ibticem Raji (1), Veronique Fressart (19), Flavie Ader (19), Pascale Richard (19), Sophie Tezenas du Montcel (20), Marcela Gargiulo (21, 22), Philippe Charron (1, 23)

1. Centre de référence des maladies cardiaques héréditaires, service de génétique clinique, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique, F75013, Paris, France
3. Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 6, ICAN, Département de Cardiologie, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Département de génétique clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
5. Département de génétique clinique, CHU Ambroise Paré, Paris, France
6. Département de génétique clinique, CHU de Lille, Lille, France
7. Département de génétique clinique, CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau, Tours, France
8. Département de génétique clinique, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
9. Département de génétique clinique, CHU de Rouen, Rouen, France
10. Département de génétique clinique, CHU Dijon Bourgogne - Hôpital François Mitterrand, Dijon, France
11. Département de génétique clinique, CHU Dijon Bourgogne - Hôpital François Mitterrand, Bordeaux, France
12. Département de génétique clinique, CHU de Strasbourg - Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
13. Département de génétique clinique, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
14. Département de génétique clinique, CHU de Toulouse - Hôpital Purpan, Toulouse, France
15. Département de génétique clinique, CHU de Nice - Hôpital l'Archet 2, Nice, France
16. Département de génétique clinique, CHU de Grenoble site Nord - Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
17. Département de génétique clinique, CHU de Guadeloupe, Pointe à Pitre, France
18. Département de cardiologie, centre de référence des maladies cardiaques héréditaires, CHU Paris Nord-Val de Seine - Hôpital Xavier Bichat-Claude Bernard, Paris, France
19. UF de cardiogénétique et myogénétique moléculaire et cellulaire, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
20. Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique, Département de Santé Publique, F75013, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
21. Institut de Myologie, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
22. Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis de Santé Publique, Medical Information Unit, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
23. Sorbonne Université, INSERM, UMR_S 1166 and ICAN Institute for Cardiometabolism and Nutrition, CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : maladies cardiaques héréditaires, test génétique prédictif, impact psychologique.

Résumé :

Les maladies cardiaques héréditaires ont un mode de transmission le plus souvent autosomique dominant. Ces pathologies exposent au risque de troubles du rythme et/ou d'insuffisance cardiaque. L'expression cardiaque est le plus souvent retardée à l'âge adulte et la pénétrance parfois incomplète. Depuis 1999 un test génétique prédictif est disponible pour les apparentés asymptomatiques. Il permet d'identifier ceux qui ne sont pas à risque de développer la maladie et ceux qui nécessitent un suivi médical spécifique. L'impact psycho-social du test génétique prédictif est cependant mal connu dans ces pathologies.

L'objectif est d'évaluer l'impact psychologique et socio-professionnel de la révélation du statut génétique sur des consultants adultes ayant réalisé un test génétique prédictif pour une maladie cardiaque héréditaire.

Il s'agit d'une étude multicentrique (20 centres en France). L'avis et le vécu des consultants a été recueilli via des auto-questionnaires comprenant : échelle d'anxiété STAI, échelle d'impact de l'évènement (IES), évaluation du protocole de la consultation, de l'impact socio-professionnel, des modifications des relations familiales. Dans l'étude prospective, trois auto-questionnaires ont été remplis à différents moments et dans l'étude rétrospective un seul à distance du rendu de résultat.

Un total de 517 consultants (42.3 ± 16.7 ans, 60.6% femmes) ont été inclus (prospectif N=264 ; rétrospectif N=253). Les principales motivations pour réaliser le test étaient : 65.3% « pour lever le doute », 64.0%, « pour les enfants », 34.9% « pour bénéficier d'une surveillance médicale ». La majorité des consultants n'ont pas exprimé de regret à l'issue du test (2.3% ont regretté). Le résultat n'a pas entraîné de changement socioprofessionnel ni de changement dans les relations familiales dans 60,7% des cas (étude prospective). L'étude rétrospective met en évidence plus de changements dans le statut socioprofessionnel et/ou dans les relations familiales (changements perçus comme favorables ou défavorables) chez les porteurs de mutations ($p < 0,0001$). Le niveau d'anxiété (STAI) augmente avant le résultat du test et diminue pour revenir au niveau de base. Les sujets initialement anxieux sont plus susceptibles d'être anxieux après le résultat du test ($p < 0,0001$), quel que soit le résultat du test (étude prospective). Les sujets ayant des antécédents de dépression étaient plus susceptibles de développer de l'anxiété ($p=0,004$), quel que soit le résultat du test (étude rétrospective).

Nos résultats montrent que contrairement à l'idée reçue, le bénéfice médical n'est pas la motivation première des consultants réalisant un test génétique prédictif en cardiogénétique. La révélation du statut génétique n'entraîne pas ou peu d'impact négatif au niveau psychologique et socio-professionnel, lorsque la démarche est réalisée au sein d'une équipe ayant une expertise en médecine prédictive.

CS62 : Les attitudes de populations françaises envers l'annonce de la découverte d'anomalies génétiques non sollicitées

Auteurs :

Marion Rosier (1), Myriam Guedj (1), Patrick Calvas (2, 3), Sophie Julia (2, 4), Christelle Garnier (2), Anne Cambon-Thomsen (4), Maria Teresa Muñoz Sastre (1)

1. Laboratoire CERPPS, Université Toulouse - Jean Jaurès, Toulouse, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse, France
3. U563, CHU Purpan, Toulouse, France
4. U1027, Université Toulouse III - Paul Sabatier, Toulouse, France

Mots clefs : Génétique médicale, Découverte non sollicitée, NGS, Annonce au patient, Ethique biomédicale

Résumé :

L'utilisation des techniques de séquençage nouvelle-génération permet de détecter un nombre croissant d'anomalies génétiques non sollicitées. La découverte de ces informations soulève des questions éthiques concernant le retour de ces données au patient. Le but de notre étude était de mettre en évidence les points de vue des personnes issues du grand public, des patients suivis en service de génétique médicale, et des professionnels de santé concernant l'acceptabilité de l'annonce, à un patient, de la découverte d'une anomalie non sollicitée dans diverses situations. Nous avons interrogé 449 participants afin qu'ils évaluent si la décision du médecin concernant l'annonce de résultats non sollicités leur semble appropriée. Pour ce faire, deux jeux de 36 scénarios ont été présentés aux participants. Ces deux jeux diffèrent sur la pénétrance de la maladie (multifactorielle ou monogénique) et ont été créés à l'aide de toutes les combinaisons possibles de trois facteurs (l'information et le consentement du patient sur la découverte d'une anomalie non sollicitée ; la prévention et le traitement de la maladie non sollicitée ; la décision du médecin pour annoncer les résultats non sollicités). Les profils de réponses ont été regroupés en six clusters différents. Les résultats montrent que les patients, les personnes issues du grand public et les professionnels de santé prennent tous en considération les aspects éthiques, mais les professionnels de santé prennent en considération les aspects médicaux dans une plus large mesure que les deux autres populations dans l'acceptabilité de l'annonce des découvertes non sollicitées.

Pièce jointe : Résumé assises génétique médicale - Tours 2020.docx

CS63 : Les tests génétiques vus par les médecins non généticiens : Une collaboration à amplifier avec les généticiens.

Auteurs :

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

1. Service de Génétique Clinique et Centre Référence "Déficiences Intellectuelles de causes rares" (CRDI), Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
2. INSERM U1086, Anticipe, Normandie Université, Caen, France
3. Département de sociologie, IMTA, Nantes, France
4. Faculté de Droit, Université Rennes 1, Rennes, France
5. Service de Génétique Clinique, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
6. Pôle de santé publique, CHU Rennes, Rennes, France
7. , Alliance Maladies Rares, Rennes, France
8. Service de génétique clinique, CLAD Ouest, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
9. Espace régional de réflexion Ethique Normandie - Médecine légale et Droit de la santé, CHU Caen, Caen, France

Mots clefs : Examen des caractéristiques génétiques d'une personne, bonnes pratiques

Résumé :

Faisant le constat d'une prescription massive d'un examen des caractéristiques génétiques d'une personne (ECGP) dans toutes les disciplines médicales et à tous les âges de la vie, la génétique est devenue une étape courante et indispensable de la prise en charge des patients. Pourtant, ces pratiques sont caractérisées par une incertitude entre l'essor technologique de la connaissance du génome et les applications pour le diagnostic, les soins, et la prévention.

Par ailleurs, de par ses spécificités en termes d'interprétations, de risque héréditaire ou de tests présymptomatiques, l'ECGP fait l'objet d'un encadrement juridique contraignant ainsi que de recommandations de bonnes pratiques. Cet essor de données réglementaires autour des droits des personnes (notamment en termes d'information individuelle et à la parentèle, de formalisation du consentement et de protection de la personne) et un décalage avec les pratiques caractérisent également ce domaine médical.

Il nous est apparu indispensable d'explorer ces pratiques auprès des médecins **non** généticiens, qui sont et deviendront de plus en plus premiers acteurs de cette prescription. En effet des questions majeures accompagnent la prescription et le retour de résultats dans les années à venir et les équipes n'ont pas à ce jour de réponses ni de référentiels toujours clairs. Ces situations peuvent générer de grandes incertitudes et disparité de pratiques.

Nous avons donc conçu une étude qualitative selon une méthodologie de nature sociologique avec des entretiens de médecins prescripteurs inclus dans des focus groups. Une grille d'entretiens a été élaborée après une étude exploratoire. Le champ d'études a été restreint à 4 régions administratives (Bretagne, Pays de Loire, Centre et Normandie) et à deux disciplines médicales complémentaires et emblématiques de l'utilisation courante des tests génétiques selon des capacités différentes de traitement et de prévention : l'oncologie et la neurologie. Nous avons ainsi pu mener 6 focus groups réunissant 22 médecins issus des 2 spécialités de neurologie et onco-endocrinologie au cours de l'année 2018 (Angers, Caen, Nantes, Orléans, Rennes et Tours).

Après accord des participants, ces entretiens ont fait l'objet d'un enregistrement et d'une retranscription pour réaliser une analyse de contenu ayant pour but de documenter les divers registres et critères auxquels se réfèrent spontanément les professionnels pour apprécier les modalités de recours à cet examen, sa justification, son organisation, ses effets voulus et non-voulus.

Les points saillants de ces analyses de contenu seront présentés. En particulier, les tensions générées par cet ECGP et les vacillements professionnels induits conduisent à une demande de renforcements des

collaborations entre généticiens et non-généticiens.

CS64 : Tests génétiques préconceptionnels : résultats d'une première enquête française

Auteurs :

Valérie Bonneau (1, 2), Mathilde Nizon (3), Xénia Latypova (4, 5), Aurélie Gaultier (6), Eugénie Hoarau (1, 2), Stéphane Bézieau (7), Guy Minguet (8), Mauro Turrini (9), Maud Jourdain (1, 2), Bertrand Isidor (7, 10)

1. Département de Médecine Générale, Université de Nantes, Nantes, France
2. USR 3491, Maison des Sciences de l'Homme Ange Guepin, Nantes, France
3. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
5. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
6. Plateforme de Méthodologie et de Biostatistique, CHU Nantes, Nantes, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
8. , Ecole des Mines, Nantes, France
9. Droit et Changement Social UMR 6297, Maison des Sciences de l'Homme Ange Guépin, Université de Nantes, Nantes, France
10. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France

Mots clefs : dépistage génétique préconceptionnel, pathologie génétique récessive, médecine de la reproduction

Résumé :

Introduction

Les tests génétiques préconceptionnels ont jusqu'à très récemment uniquement concerné certaines communautés, ethnies, ou familles pour lesquelles un surrisque de maladie génétique était identifié. Un nouveau type de test préconceptionnel pourrait maintenant être proposé à la population générale. Ce test permet d'évaluer le risque pour un couple d'avoir un enfant atteint de certaines maladies génétiques rares, autosomiques récessives ou liées à l'X. Accessible à l'étranger, il n'est pas encore autorisé en France. L'objectif de notre étude était d'évaluer l'opinion de la population française concernant l'utilisation de ce type de tests.

Matériel et méthodes

L'étude repose sur un questionnaire, disponible en version imprimée et sur le logiciel de sondage en ligne Sphinx®, du 10 novembre 2017 au 05 mars 2018. Il a été proposé à la population générale via des *mailing-lists* personnelles et d'associations, ainsi que sur des réseaux sociaux et au sein de cabinets médicaux. Une analyse descriptive a été réalisée et complétée par une analyse multivariée, par régression logistique, avec comme variable à expliquer l'opinion favorable à l'accès au test en France.

Résultats

Mille cinq cent soixante-huit personnes ont participé à l'étude, 91 % sont favorables à l'accès à ce type de test en France et 57 % réaliseraient le test en cas de projet parental. Soixante-treize pour cent sont favorables à un test accessible sous prescription médicale et 78 % sont en faveur d'un remboursement par la sécurité sociale. Dix-neuf pour cent ne souhaiteraient pas recourir à ce test. Les principaux arguments avancés par les opposants au test sont les convictions éthiques et morales, l'inquiétude que ce test pourrait engendrer et la possible remise en question du projet parental. La majorité des participants estime que ce test est une véritable avancée médicale, mais qu'il peut également engendrer un risque de surmédicalisation de la grossesse et une dérive eugéniste.

Discussion

Notre étude rapporte une opinion largement favorable à l'accès au test en France, prescrit par un médecin, ainsi qu'à son remboursement. Cependant, chez les sujets ayant un projet parental et bien qu'ils soient directement concernés par cet examen, nous mettons en évidence une tendance moins favorable à l'accès au test en France. Bien que le test soit considéré comme une avancée médicale qui permettrait de diminuer le risque de handicap pour la descendance, les risques de dérive eugéniste et d'inquiétude générée par ces tests sont également évoqués par la majorité des participants. Le parcours de soins des futurs utilisateurs de ce test est un des enjeux de la diffusion du dépistage génétique préconceptionnel, puisque les informations dont ils disposeront et la réalisation éventuelle du test dépendront des ressources des professionnels de santé consultés.

Pièce jointe : Tests génétiques préconceptionnels_résultats d'une première enquête française.docx

**CS65 : Tests génétiques par les sociétés « DTC » : mise en garde sur des pratiques dangereuses et rappel des fondamentaux
requis avant tout test génétique « prédictif »**

Auteurs :

Antoine DE PAUW (1), Mathias SCHWARTZ (1), Chrystelle COLAS (1), Lisa GOLMARD (1), Dominique STOPPA-LYONNET (1, 2)

1. Service de génétique, Institut Curie, Paris, France

2. INSERM U830 - Université Paris Descartes, Institut Curie - Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : Test génétique, conseil génétique, médecine prédictive, société DTC, WGS

Résumé :

Alors qu'il est aujourd'hui interdit en France de pratiquer des tests génétiques en dehors d'une prescription médicale ou d'une décision de justice, de plus en plus de nos concitoyens peuvent avoir accès à des données concernant leur génome en passant par des sociétés privées étrangères travaillant, *via* internet, en Direct To Consumer (DTC). Ces sociétés proposent, pour quelques centaines d'euros, un séquençage du génome (WGS : Whole Genome Sequencing) qui leur permet d'estimer les risques de développer un certain nombre de maladies génétiques mendéliennes ou multifactorielles.

Sous couvert d'une meilleure connaissance des risques et de la possibilité d'agir sur son mode de vie, voire de mettre en place une surveillance adaptée, et arguant de l'autonomie de décision de chacun, ces sociétés « DTC » vendent ces tests sans engager leur responsabilité en expliquant qu'elles ne fournissent aucun conseil médical. Par ailleurs, les offres commerciales proposées sont contraires aux principes fondamentaux qui régissent la réalisation des tests génétiques en France : nécessité d'une information claire et loyale avant la réalisation d'un test, nécessité de recueillir le consentement basé sur un choix éclairé de la personne, dispositif permettant des tests de qualité (autorisation des laboratoires, agrément des généticiens moléculaires), et restitution du résultat lors d'une consultation médicale pour transmettre des recommandations de prise en charge pour la personne et ses apparentés.

Les pratiques de ces sociétés « DTC » seront illustrées avec le cas d'un homme asymptomatique de 33 ans qui a sollicité en urgence la consultation de génétique de l'Institut Curie après avoir réalisé un WGS *via* internet et avoir été informé par e-mail de l'identification de deux variants pathogènes, l'un du gène *TP53* responsable du syndrome de Li-Fraumeni et l'autre du gène *APC* responsable de la polypose adénomateuse familiale. Aucun des principes fondamentaux de la pratique de génétique médicale rappelés plus haut n'a été respecté et la qualité du test génétique s'est avérée désastreuse puisqu'il s'agissait, après vérification, de deux faux positifs. Nous montrerons que ce test, en plus d'avoir généré une anxiété majeure, a conduit à la réalisation d'examens de dépistage invasifs et a généré des dépenses de santé inutiles.

Alors que la révision de la loi de bioéthique est examinée au Parlement et que certains plaident pour une libéralisation de l'accès des tests *via* internet, il nous apparaît indispensable de défendre les principes d'encadrement des tests génétiques mis en œuvre dès la loi de 1994 et de poursuivre les développements technologiques et de recherche qui permettent d'aller vers des estimations individuelles de risque les plus précises possible. Il nous revient également de communiquer clairement auprès de la population et de nos collègues non généticiens sur le caractère dangereux que peuvent avoir ces tests s'ils ne sont pas réalisés dans un cadre strict.

Pièce jointe : Abstract Assises Tours - Séquençage du génome entier par les sociétés DTC V3.docx

CS66 : La maladie génétique s'invite dans la famille, conséquences pour la fratrie

Auteurs :

Eva TOUSSAINT (1)

1. génétique médicale, chu Pellegrin, Bordeaux, France

Mots clefs : psychologie, fratrie, maladie génétique, systémie

Résumé :

En systémie on sait bien qu'« il est impossible de ne pas communiquer » , dans ma pratique de psychologue dans un service de génétique médicale, il m'est impossible de ne pas prendre en compte la famille lorsque je rencontre quelqu'un porteur d'une maladie génétique.

Si cela concerne un enfant alors immédiatement la question des parents et de leur souffrance s'impose et souvent on est attentif à la souffrance de la fratrie que dans un second temps.

Il sera question dans cette présentation de voir comment la fratrie vit l'intrusion de la maladie génétique et du handicap qui en découle le plus souvent. Que la fratrie naisse "avec ça" ou que cela vienne faire interruption au cours de la vie. Ce tiers, non invité, va être support de changement, de représentations, de fantasmes. il peut construire ou détruire la fratrie. En tout cas il interroge l'individu sur les liens fraternels.

Notre propos prendra en compte les spécificités liées à la composante génétique de la maldie qui soulèvent de nombreuses questions pour la fratrie:

aQu'est-ce que cela représente pour un enfant d'entendre parler de maladie « génétique » ?

aUne maladie rare est ce que cela veut dire que l'on est exceptionnel ou seul ?

aPeut-on avoir une maladie qui n'a pas de nom ?

aY a-t-il dans le groupe famille des sous-groupes : malade/pas malade ? porteur/pas porteur ?

aA qui ressemble mon frère/ma sœur ? A nous ? A ceux avec la même maladie ?

aPourquoi il n'y a pas de médicament si on connaît la maladie ?

CS67 : Analyse par séquençage à haut débit ciblé d'une cohorte de 352 patients porteurs de malformations congénitales des membres

Auteurs :

Fabienne ESCANDE (1, 2), Anne-Sophie JOURDAIN (1, 2), Malika BALDUYCK (1, 2), Perrine BRUNELLE (1, 3), William DUFOUR (3), Elise BRISCHOUX-BOUCHER (4), Cindy COLSON (5), Anne DIEUX (3), Marion GERARD (5), Jamal GHOUIM (3, 2), Fabienne GIULIANO (6), Alice GOLDENBERG (7), Philippe KHAU VAN KIEN (8), Daphné LEHALLE (9), Gilles MORIN (10), Sébastien MOUTTON (9), Thomas SMOL (11, 2), Clémence VANLERBERGHE (3), Florence PETIT (3, 2), Sylvie MANOUVRIER-HANU (3, 2)

1. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
2. EA7364 RADEME, Université Lille, Lille, France
3. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHU Lille, Lille, France
4. Centre de Génétique Humaine, CHU Besançon, Besançon, France
5. Centre de Génétique, CHU Caen, Caen, France
6. Service de Médecine Génétique, CHUV Lausanne, Lausanne, Suisse
7. Service de Génétique Médicale, CHU Rouen, Rouen, France
8. UF de Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU Nîmes, Nîmes, France
9. Centre de Référence pour les Anomalies du développement, Département de Génétique Médicale, CHU Dijon, Dijon, France
10. Centre d'activité de Génétique et d'Oncogénétique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
11. Institut de Génétique Médicale, CHU Lille, Lille, France

Mots clefs : Malformations des membres, NGS, panel ciblé

Résumé :

Les syndromes malformatifs touchant les membres constituent un groupe de pathologies cliniquement et génétiquement hétérogènes. Plus de 150 gènes et de nombreux remaniements génomiques impliqués dans des formes syndromiques ou non syndromiques d'anomalies des membres ont été décrits en pathologie humaine. En raison de cette importante hétérogénéité génétique, une proportion élevée de patients reste sans diagnostic moléculaire. Depuis 2002, notre équipe s'est impliquée dans le diagnostic génotypique de ces pathologies avec la mise en place progressive de l'analyse de gènes impliqués dans le développement des membres. Au cours de ces dernières années, les avancées en matière de séquençage à haut débit ont permis la mise en place de nouvelles stratégies diagnostiques. Nous rapportons, ici, la première grande série de patients atteints de syndromes malformatifs touchant les membres analysés par séquençage à haut débit ciblé.

Le recrutement a été réalisé sur une période de 3 ans. Trois cent cinquante patients, cas index, ont été inclus et classés en 7 grandes catégories phénotypiques après évaluation clinique centralisée : anomalies radiales, ectrodactylies, autres anomalies réductionnelles, brachydactylies, polydactylies, anomalies de fusion et hypo/aplasies patellaires. Quarante-trois à 52 gènes ou séquences régulatrices ont été étudiés par une technologie à haut débit par capture permettant la détection des variations ponctuelles (SNP) et des variations du nombre de copies (CNV).

Au total, 134 SNP et 26 CNV ont été identifiés chez 152 patients. Soixante-douze de ces variants n'avaient encore jamais été rapportés dans la littérature. Cent trente variants ont été classés comme pathogènes ou probablement pathogènes permettant une confirmation diagnostique chez 124 patients, soit un rendement diagnostique moyen de 35,2%. Ce taux est meilleur dans les formes syndromiques (43%) que dans les formes isolées (26%). Une analyse de la cohorte en fonction des différentes catégories phénotypiques montre que le rendement varie de 9,5% dans le groupe des anomalies réductionnelles à 95% dans le groupe des hypo/aplasies patellaires, confirmant qu'une évaluation clinique minutieuse des patients est indispensable.

Les résultats de cette étude montrent également que, pour le diagnostic moléculaire de ces pathologies, l'approche par séquençage à haut débit de cibles bien choisies constitue un outil efficace et rentable en pratique clinique puisqu'il nous a permis d'améliorer notre rendement diagnostique de 7,7%. Sept pour cent des altérations identifiées dans la cohorte correspondant à des CNV, il est aujourd'hui indispensable d'inclure la détection de ce type d'altérations dès les premières investigations moléculaires.

Pièce jointe : Résumé Assises 2020 Escande F.doc

CS68 : Expérience du Fast-Exome en moins de 16 jours en réanimation néonatale : projet REUNIR

Auteurs :

Marjolaine WILLEMS (1), Guilaine Boursier (2), Kevin YAUY (3), Deborah MECHIN (4), Nathalie RUIZ-PALLARES (5), Christine Coubes (6), Lucile PINSON (3), Constance WELLS (3), Patricia BLANCHET (3), Marion IMBERT-BOUETILLE (3), Thomas GUIGNARD (5), Jacques PUECHBERTY (3), Emmanuelle HAQUET (3), Odile PIDOUX (7), Sabine DURAND (8), Mahlia BADR (8), Christophe MILESI (7), Julien BALEINE (8), Gilles CAMBONIE (8), Floriane HEMERY (8), Maelle DEREURE (9), Olivier ARDOUIN (4), Marie-Christine PICOT (10), Renaud MESNAGE (8), Florence MASSON (8), Valentin RUAULT (3), Lucile MAZIERES (3), Isabelle TOUITOU (5), David Geneviève (6), Mouna BARAT-HOUARI (5)

1. Génétique Médicale, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France
3. Service de Génétique Médicale, hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France
4. Département de génétique moléculaire, pôle de biologie pathologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
5. Laboratoire des maladies rares et auto-inflammatoires, CHU de Montpellier, Montpellier, France
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France
7. Service de réanimation néonatale et soins intensifs de néonatalogie, Service de Génétique Médicale, hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
8. Service de réanimation néonatale et soins intensifs de néonatalogie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
9. Département d'Informatique Médicale, hôpital la Colombière, CHU de Montpellier, Montpellier, France
10. Unité de Recherche Clinique, hôpital La Colombière, CHU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : fast-exome, néonatalogie, réanimation

Résumé :

L'établissement du diagnostic étiologique d'une pathologie congénitale à révélation néonatale est une étape indispensable pour guider la prise en charge des patients et proposer un conseil génétique adapté. L'apparition des nouveaux outils de génétique pangénomiques a permis de raccourcir drastiquement les délais et d'augmenter considérablement les performances diagnostiques.

Dans le cadre de l'étude montpellieraine REUNIR (Rapide Exome en Unité de Néonatalogie soins Intensifs Réanimation) financée par un appel d'offre interne, nous avons proposé d'évaluer la faisabilité et l'efficacité de la mise en place d'un circuit « d'urgence », afin de réduire le temps de production d'un exome-trio avec résultat définitif dans un délai maximum de 16 jours. L'étude a prévu l'inclusion de 10 enfants, âgés de 0 à 12 mois, hospitalisés en réanimation, présentant un syndrome malformatif et/ou une détresse neurologique pour lesquels une origine génétique est suspectée, sans orientation diagnostique certaine.

A l'heure actuelle, nous avons inclus 6 enfants, âgés de 8 à 60 jours, présentant une hypotonie (5/6), des convulsions (2/6), une malformation cardiaque (2/6), des anomalies cranio-faciales (2/6), une insuffisance rénale (1/6).

Les librairies ont été préparées par SureSelect QXT Human All Exon V7 (Agilent), puis séquencées par NextSeq® 500/550 Mid Output Kit v2, Illumina. L'analyse et l'interprétation de l'exome en RCP post-test ont pu être réalisées en moyenne en 12 jours (8-14).

Le rendu de résultats aux parents a pu être effectué en moins de 16 jours pour tous les patients. Le résultat était positif chez 3 patients avec identification de mutation dans les gènes *NSD1* (n=1), *MTM1* (n=1), *KCNQ2* (n=1). Le résultat a modifié la prise en charge pour ces patients : il a permis de surseoir à la réalisation de biopsie musculaire (n=1), ponction lombaire (n=1), bilan métabolique (n=3), d'adapter le traitement épileptique spécifiquement chez le patient présentant une mutation *KCNQ2*, d'orienter le patient présentant une mutation *MTM1* vers un protocole thérapeutique. Deux patients sont décédés (âges de décès : 6 et 113 jours). L'identification de la mutation *MTM1*, héritée, a permis de proposer un conseil génétique adapté pour les apparentés concernés, incluant plusieurs femmes avec projet parental.

Le nombre de patients inclus est faible mais ces résultats préliminaires semblent néanmoins similaires à ceux rapportés au sein des séries les plus récentes (Wu et al. 2019). Au total, à l'heure actuelle, nous confirmons la faisabilité au sein d'un CHU français et l'intérêt du fast-exome chez des nourrissons dans des situations d'urgence en réanimation, permettant d'épargner des examens invasifs et/ou coûteux, d'identifier un diagnostic dans la moitié des cas, et d'améliorer spécifiquement la prise en charge. Ce projet nous a amené à réfléchir aux modalités d'organisation des différentes équipes protagonistes afin de réduire les délais de rendu de résultat aux familles.

Pièce jointe : Abstract_Fastexome-AssisesMW1910.docx

CS69 : Intérêt du séquençage de l'exome en "solo" dans les néphropathies indéterminées des jeunes adultes dans le contexte du Plan France Médecine Génomique 2025

Auteurs :

Alice Doreille (1), Laure Raymond (2), Anne-Sophie Lebre (3), Laurent Mesnard (1)

1. Urgences Néphrologiques et Transplantation Rénale, Tenon, Paris, France
2. Laboratoire de génétique, Eurofins Biomnis, Lyon, France
3. département de Génétique, La Pitié Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : néphrologie, adulte, exome, plan france médecine génomique 2025

Résumé :

Introduction

En néphrologie adulte, les examens de génétique sont rarement prescrits et le plus souvent dans des cas archétypaux avec histoire familiale. En France, les tests génétiques habituellement réalisés sont des panels de gènes, sélectionnés au mieux selon le phénotype du patient. Depuis un an, nous avons mis en place une approche par séquençage de l'exome en première intention chez les adultes jeunes avec néphropathie d'origine indéterminée. Nous avons évalué le rendement diagnostique et les répercussions cliniques de cette approche, ceci dans le contexte des pré-indications du plan France Médecine Génomique 2025 (PFMG2025).

Patients & Méthodes

Dans le cadre du soin courant, depuis septembre 2018, les patients incidents de moins de 45 ans, avec une néphropathie d'origine indéterminée, ont été prélevés pour un séquençage d'exome. Les patients atteints d'une polykystose dominante étaient exclus de l'étude. L'ADN génomique a été extrait, les régions codantes de l'exome (33 mégabases) ont été enrichies avec le kit Twist Human Core Exome, puis séquencées en paired-end sur NextSeq500 (Illumina). La ségrégation des variants a été étudiée par séquençage Sanger ciblé chez les apparentés, le cas échéant.

Résultats

Cent patients non apparentés ont été séquencés en 12 mois. Le séquençage de l'exome a permis de poser un diagnostic de certitude chez 33 patients, soit un **rendement diagnostique de 33%**.

La majorité des patients ont été **analysés en exome « solo »**, les deux parents n'étant disponibles pour un trio que dans 13 cas (dont 3 ayant abouti à un diagnostic de certitude).

Les principaux diagnostics génétiques étaient des basalopathies (n=10, 30 %) et des ciliopathies (n=9, 27%). **Ces résultats étaient le plus souvent inattendus**, avec des phénotypes relativement pauvres ou peu typiques. Dans tous les cas, après « reverse phenotyping », le diagnostic génétique a eu des conséquences : nouvelle perspective clinique, conseil génétique, aide pour la sélection des donneurs en cas de don vivant apparenté.

Parmi les 100 patients séquencés, **seuls 21 patients auraient éligibles pour le PFMG2025**, dont 3 ont abouti à un diagnostic.

Conclusion

Avec un rendement diagnostique important, des conséquences cliniques et thérapeutiques majeures et un coût mesuré, notre étude montre l'intérêt du séquençage de l'exome « solo » en 1ère intention dans les néphropathies indéterminées des jeunes adultes. Le critère obligatoire de l'étude en « trio » pour l'accès des patients au PFMG2025 est a posteriori restrictif en regard de notre expérience. Les diagnostics posés ont souvent été inattendus, validant l'intérêt d'une approche pangénomique d'emblée. En complément de cette étude, 4 patients avec trio ont été inclus dans le cadre du PFMG2025. L'analyse bioinformatique des séquences des génomes en trio est en cours et nous permettra de comparer les stratégies diagnostiques.

Pièce jointe : Table1_WES.pdf

CS70 : 5 années d'expérience diagnostique du séquençage haut débit de l'exome : des anomalies du développement à la médecine génomique des maladies rares

Auteurs :

Christel THAUVIN (1, 2), Ange-Line BRUEL (1), Antonio VITOBBELLO (1, 3), Frédéric TRAN MAU-THEM (1, 3), Arthur SORLIN (1, 4), Anne-Sophie DENOMME-PICHON (1, 4), Sophie NAMBOT (1, 2), Julien THEVENON (1, 5), Paul KUENTZ (1), Virginie QUERE (1, 6), Julian DELANNE (1, 5), Sébastien MOUTTON (1, 5), Daphné LEHALLE (1, 5), Nolwenn JEAN-MARCAIS (1, 5), Pierre VABRES (1, 6), Physician's Group Orphanomix (7), Martin CHEVARIN (1, 4), Charlotte POE (1, 4), Anne-Laure MOSCA-BOIDRON (1, 8), Patrick CALLIER (1, 8), Emilie TISSERAND (1), Yannis DUFFOURD (1, 4), Christophe PHILIPPE (1, 4), Laurence FAIVRE (1, 5)

1. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental disorders, Université de Bourgogne-Franche Comté, FHU TRANSLAD, Dijon, France
2. Centre de Référence Maladies Rares "Déficiences Intellectuelles de causes rares", FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Unité Fonctionnelle «Innovation diagnostique dans les maladies rares », laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
4. Unité Fonctionnelle «Innovation diagnostique dans les maladies rares », laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
5. Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement et syndromes maformatifs", FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Centre de Référence Maladies Dermatologiques en Mosaïques MAGEC, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
7. Le groupe des généticiens cliniciens Orphanomix inclut Alain Verloes (CHU Paris, France), Alexandra Karsenti (CHU Paris-Est, France), Alice Goldenberg (CHU Rouen, France), Aurélie Jacquette (CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, France), Béatrice Jouret (CHU Toulouse, France), Béatrice Laudier (CHU Orléans, France), Christine Coubes (CHU Montpellier, France), Christine Francannet (CHU Clermont-Fd, France), Daphné Lehalle (CHU Créteil, France), David Geneviève (CHU Montpellier, France), Delphine Heron (CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, France), Didier Lacombe (CHU Bordeaux, France), Elise Schaefer (CHU Strasbourg, France), Elodie Lacaze (CH Le Havre, France), Emmanuel Jacquemin (CHU Paris-Sud, France), Fabienne Prieur (CHU St-Etienne), Fanny Laffarge (CHU Clermont-Fd, France), Florence Petit (CHRU Lille, France), François Feillet (CHU Nancy, France), Gilles Morin (CHU Amiens, France), Gwenaëlle Diene (CHU Toulouse, France), James Lespinasse (CH Chambéry, France), Jeanne Amiel (CHU Paris, France), Judith Melki (CHU Paris-Sud, France), Laëtizia Lambert (CHU Nancy, France), Laurence Perrin (CHU Paris, France), Lucile Pinson (CHU Montpellier, France), Marie-Line Jacquemont (CHU Réunion, France), Marie-Pierre Cordier-Alex (CHU Lyon, France), Marine Lebrun (CHU St-Etienne, France), Marion Gérard-Blanluet (CHU Caen, France), Marjolaine Willems (CHU Montpellier, France), Massimiliano Rossi (CHU Lyon, France), Nicolas Chassaing (CHU Toulouse, France), Nicole Philip (CHU Marseille, France), Renaud Touraine (CHU St-Etienne, France), Salima El-Chehadeh (CHU Strasbourg, France), Séverine Audebert-Bellanger (CHU Brest, France), Sophie Blesson (CHU Tours, France), Yline Capri (CHU Paris, France), CHU, Dijon, France
8. Laboratoire de cytogénétique et génétique moléculaire, FHU TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : séquençage haut débit, exome, anomalies du développement, médecine génomique

Résumé :

Le diagnostic étiologique des patients atteints de maladies rares (MR) est un véritable enjeu de santé publique. En France, elles affectent plus de 6 millions de personnes, dont la moitié demeure actuellement sans cause génétique identifiée. La grande hétérogénéité clinique et génétique des MR est un véritable défi diagnostique pour le généticien. Depuis une dizaine d'années, la génétique médicale connaît un véritable bouleversement technologique avec le développement des techniques de séquençage à haut débit, permettant l'analyse de panels de gènes ciblés, de l'exome (ES) et du génome (GS).

Pionnière dans le domaine en France, notre équipe a réalisé depuis 2014 un ES diagnostique chez 1592 atteints de MR (515 positifs (33%) et 153 non concluants (10%)). Initialement, l'ES (gènes OMIM) était effectué en solo pour des raisons économiques chez les patients atteints d'anomalies du développement et/ou déficience intellectuelle (AD/DI) après ACPA normale, avec un diagnostic positif chez environ 25%. Au fil des années, nous avons développé une stratégie d'optimisation de l'analyse bioinformatique (détection des CNV +2% et des mutations de l'ADN mitochondrial +0,3%) et de l'interprétation des données (augmentation du nombre de bases de données interrogées dans le pipeline bioinformatique, RCP hebdomadaire, double lecture et pools parentaux). Une réanalyse annuelle des données, qui permet en moyenne de conclure chez 7% des patients négatifs, est également disponible à la demande des patients/cliniciens. Actuellement, le rendement diagnostique de l'ES avec pools parentaux chez les patients atteints de AD/DI sans diagnostic clinique évident s'élève à 37%. Fort de cette expérience, l'analyse d'ES a progressivement été étendue à d'autres MR telles que les maladies neurogénétiques/musculaires (77 patients), avec un taux diagnostique de 33% et la nécessité de développer de nouvelles expertises clinico-biologiques et des liens avec les réseaux de laboratoires experts. Nous avons également mis en place un circuit d'urgence pour la réanimation néonatale et le diagnostic prénatal. Par ailleurs, une réanalyse des données en recherche translationnelle (extension aux gènes non-OMIM) s'est avérée très performante avec l'identification d'environ 90 nouveaux gènes causaux, grâce à une interrogation systématique de l'ensemble de nos données et un partage de données des variations candidates sur des plateformes dédiées (GeneMatcher, DECIPHER, PhenomeCentral), qui pourront être complétées par le projet Solve-RD. Une projection de l'analyse systématique des données secondaires (différentes listes de gènes) a permis d'en évaluer les difficultés, les verrous à lever et les conséquences sur l'organisation des soins.

Notre expérience confirme la faisabilité et l'intérêt majeur d'implanter le SHD pangénomique en diagnostic de 1^{ère} intention et de poursuivre l'analyse des données en recherche translationnelle afin de lutter contre l'impasse diagnostique dans les MR.

CS71 : Identification et caractérisation de deux nouveaux sites d'expansions TTTTA/TTTCA responsables d'épilepsie myoclonique familiale.

Auteurs :

Christel Depienne (1), Rahel T. Florian (2), Florian Kraft (3), Elsa Leita (2), Sabine Kaya (2), Stephan Klebe (4), Eloi Magnin (5), Anne-Fleur van Rootselaar (6), Julien Buratti (7), Sebastian Giesselmann (3), Nikolai Tschernoster (8), Janine Altmueller (8), Anaide Lamiral (5), Lionel Thivard (9), Felix Rosenow (10), Karl Martin Klein (10), Mark Bennett (11), Eric LeGuern (7), Pierre Labauge (12), Melanie Bahlo (11), Tijssen Marina A.J. (13), van den Maagdenberg Arn M.J.M. (14), Mark Corbett (15), Jozef Gecz (15), consortium FAME (16)

1. Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen, Essen, Allemagne
2. Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, Essen, Allemagne
3. Institut für Humangenetik, Medical Faculty, RWTH Aachen University, Aachen, Allemagne
4. Department of Neurology, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, Essen, Allemagne
5. Département de neurologie, CHU Jean Minjoz, Besançon, France
6. the Departments of Neurology and Clinical Neurophysiology, Academic Medical Centre, Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
7. Département de génétique, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Cologne Center for Genomics, Center for Molecular Medicine Cologne (CMMC), University of Cologne, Cologne, Allemagne
9. Département de neurologie, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
10. Department of Neurology, Epilepsy Center Frankfurt Rhine-Main, Goethe University, Frankfurt, Allemagne
11. Population Health and Immunity Division, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne, Australie
12. Department of Neurology, Gui de Chauliac University Hospital, Montpellier, France
13. University Medical Centre Groningen, University of Groningen, Groningen, Pays-Bas
14. Department of Neurology and Department of Human Genetics, Leiden University Medical Centre, Leiden, Pays-Bas
15. School of Biological Sciences, School of Medicine, Robinson Research Institute, and South Australian Health and Medical Research Institute, The University of Adelaide, Adelaide, Australie
16. , The University of Adelaide, Adelaide, Australie

Mots clefs : expansion, répétition, microsatellite, pentamères, réarrangement génomiques, séquençage de génome, séquençage nanopore, peignage moléculaire, épilepsie, tremblement cortical, myoclonus

Résumé :

L'épilepsie myoclonique adulte familiale (Familial Adult Myoclonic Epilepsy ou FAME) est une maladie autosomique dominante caractérisée par un tremblement cortical ou myoclonique, fréquemment associé à des crises d'épilepsie. Plusieurs loci sur les chromosomes 8, 2 et 5 avaient été identifiés dans les années 1999-2009 mais la cause de la maladie est restée inconnue pendant près de 20 ans. En 2018, des expansions de pentamères TTTTA/TTTCA ont été identifiées dans un intron du gène *SAMD12* sur le chromosome 8 dans des familles d'origine japonaise. En 2017, nous avons séquençé le génome et le transcriptome de 6 membres atteints et deux membres non atteints de deux grandes familles liées respectivement aux chromosomes 2 et 5 sans trouver de variants ponctuels ou variants de structure altérant des régions codantes. La recherche d'expansion dans ces familles a permis d'identifier deux nouveaux sites de l'expansion de TTTTA/TTTCA dans les gènes *STARD7* et *MARCH6* qui ont été confirmés par RP-PCR (repeat-primed PCR). Nous avons utilisé le séquençage par nanopores et la technique de peignage moléculaire pour caractériser la longueur et la structure des expansions chez plusieurs membres atteints de deux familles françaises avec expansions dans le gène *MARCH6*. Ces analyses ont montré que les expansions ont une taille moyenne comprise entre 4 et 13 kb, avec un nombre de répétitions total supérieur à 800. Nous avons également observé une variabilité très importante de la taille et de la structure des expansions dans les cellules du sang périphérique. Chez les individus porteurs d'une très grande expansion (> 10 kb), des microréarrangements complexes au site de l'expansion représentant jusqu'à 20% des allèles pathogènes ont été détectés, suggérant que ces expansions riches en AT sont très instables et que cette instabilité peut s'accompagner de réarrangements génomiques. L'étude de l'expression de *MARCH6* et *STARD7* dans le sang et les fibroblastes n'a pas permis de montrer d'impact de la présence des expansions sur l'expression des gènes dans lesquelles elles se situent. Ces résultats confirment que l'épilepsie de type FAME est liée à des expansions pentamériques introniques identiques dans gènes distincts localisés sur différents chromosomes. Mis à part leur expression cérébrale, ces gènes ne semblent pas avoir de lien fonctionnel entre eux, suggérant que l'expansion est pathogène indépendamment du gène récipient. Nous apportons pour la première fois la preuve de la grande instabilité de ces expansions et de l'existence de microréarrangements au site de l'expansion.

CS72 : La dérégulation de FOXP1 peut en partie expliquer les caractéristiques cliniques observées chez les patients ARX

Auteurs :

Gaëlle Friocourt (1), Marc Kéruzoré (2), Delphine Héron (3), Sophie Bertrand (4), Fanny Rochefort (4), Anne Reboul (5), Tatjana Nazir (5), Amandine Brun (5), Anne Cheylus (5), Cyril Mignot (3), Boris Keren (3), Bénédicte Gérard (6), Gérald Bussy (5), Yves Paulignan (5), Annick Toutain (7), Isabelle Mortemousque (7), Brigitte Gilbert-Dussardier (8), Fabienne Prieur (9), Renaud Touraine (9), Nouchine Hadjikhani (10), Randy Gollub (10), Isabelle Bobillier-Chaumont (4), Vincent des Portes (11), Aurore Curie (11)

1. UMR1078, Inserm, Brest, France
2. INSERM UMR1078, Brest University, Brest, France
3. génétique médicale, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Institut des Sciences Cognitives, UMR 5304, CNRS, Lyon, France
5. L2C2, ISC, CNRS UMR5304, CNRS, Lyon, France
6. laboratoire de diagnostic génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
7. service de génétique, CHU Tours, Tours, France
8. service de génétique, CHU Poitiers, Poitiers, France
9. service de génétique, CHU Saint Etienne, Saint Etienne, France
10. Martinos Center for Biomedical Imaging, , MGH/Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
11. neuropédiatrie, HFME, HCL, Lyon, France

Mots clefs : ARX, FOXP1, striatum, modèle souris, medium spiny neurons

Résumé :

ARX code pour un facteur de transcription, dont les mutations ont été associées à différents syndromes allant de défauts de migration neuronale sévères (lissencéphalie), à des formes plus modérées de déficience intellectuelle (DI) liée à l’X, apparemment sans anomalie cérébrale associée. La mutation d’ARX la plus fréquente (c.429_452dup24) constitue un syndrome clinique reconnaissable, que nous avons décrit en détail il y a quelques années. Les patients ARX présentent une DI associée à une apraxie cinétique des membres supérieurs, et à une préhension tout à fait caractéristique. Par ailleurs, on observe également une atteinte du langage, ainsi qu’une diminution significative du volume de plusieurs structures cérébrales incluant notamment le striatum (et plus particulièrement le noyau caudé), l’hippocampe, le thalamus, ainsi que l’épaisseur corticale du gyrus précentral. De façon tout à fait intéressante, une corrélation significative a été mise en évidence entre la diminution de volume du noyau caudé et la sévérité de la gêne motrice, quantifiée par l’étude cinématique d’un mouvement de préhension.

Nous avons récemment développé un modèle souris pour la mutation dup24 du gène ARX et avons pu démontrer que les souris avaient un phénotype qui était très similaire aux caractéristiques cliniques des patients présentant la même mutation, incluant des difficultés dans la motricité fine avec altération de la préhension. Nous démontrons ici qu’ARX régule l’expression du gène FOXP1 et que l’expression de foxp1 est diminuée dans le modèle souris de mutation dup24 du gène arx, altérant le développement de certaines sous-populations de neurones striataux.

Le but de notre étude est de comparer les caractéristiques cliniques des patients présentant une mutation dup24 du gène ARX avec celles des patients présentant une mutation du gène FOXP1, incluant profil neuropsychologique, atteinte motrice et langagière, afin de définir combien les caractéristiques cliniques présentées par les patients ARX dup 24 trouvent leur origine dans la dérégulation de FOXP1. De plus, nous avons mis en évidence le fait qu’ARX active au cours du développement l’expression de FOXP1, régulant ainsi la différenciation des neurones GABA du striatum et que la duplication de 24 paires de bases d’ARX diminue l’activation de FOXP1, altérant le développement des neurones Drd1+ et le fonctionnement de la voie dite *directe* ou striatonigrale du striatum. Ces résultats mettent donc en évidence une voie commune entre les gènes ARX et FOXP1, qui permettrait de mieux comprendre l’origine des défauts de motricité fine et de langage observés chez les patients ARX dup24.

CS73 : Les mutations du gène SMARCA2 sont responsables d'un nouveau syndrome reconnaissable distinct du syndrome de Nicolaïdes-Baraitser.

Auteurs :

Pauline Le Tanno (1), Gerarda Cappuccio (2, 3), Camille Sayou (4), Emilie Tisserant (5), Sergio Sousa (6), Marketa Havlovicova (7), Evan E Eichler (8), Françoise Devillard (9), Sebastien Moutton (10, 11), Julien Van-Gils (10), Christele Dubourg (12), Sylvie Odent (13), Amélie Piton (14), Yamamoto Toshiyuki (15, 16), Nobuhiko Okamoto (17), Helen Firth (18), Kay Metcalfe (19), Anna Moh (20), Kimberly Chapman (20), Annalaura Torella (3, 21), Vincenzo Nigro (3, 22), Laurence Perrin (23), Juliette Piard (24), Gwenaël Le Guyader (25), Thibaud Jouan (5), Christel Thauvin-Robinet (26, 27), Jérôme Govin (28), Yannis Duffourd (5), Raoul CM Hennekam (29), Antonio Vitobello (5), Julien Thevenon (9), Nicola Brunetti Pierri (2, 3)

1. Département de Génétique, Génomique et Procréation, CHU Grenoble-Alpes, GRENOBLE, France
2. Department of Translational Medicine, Federico II University, Naples, Italie
3. Telethon Institute of Genetics and Medicine, Pozzuoli, Naples, Italie
4. CEA, INSERM, BIG-BGE, Université Grenoble-Alpes, GRENOBLE, France
5. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental Disorders, Université de Bourgogne-Franche Comté, FHU TRANSLAD, Dijon, France
6. Serviço de Genética Médica, Hospital pediátrico de Coimbra, Coimbra, Portugal
7. Department of Biology and Medical Genetics, Charles University Prague-2nd Faculty of Medicine and University Hospital Motol, Prague, République tchèque
8. Department of Genome Sciences, University of Washington School of Medicine, Seattle, Etats-Unis
9. Département de Génétique, Génomique et Procréation, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France
10. Reference Center for Developmental Anomalies, Department of Medical Genetics, Bordeaux University Hospital, Bordeaux, France
11. INSERM, Burgundy University, Dijon, France
12. Service de Génétique moléculaire et Génomique, BMT-HC "Jean Dausset", Rennes, France
13. Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR), Univ Rennes, Rennes, France
14. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Illkirch, France
15. Institute of Medical Genetics, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japon
16. Institute of Integrated Medical Sciences, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japon
17. Department of Medical Genetics, Osaka Women's and Children's Hospital, Izumi, Japon
18. Cambridge Biomedical Campus, Cambridge University Hospitals NHS Foundation Trust, Cambridge, Royaume Uni
19. Manchester Center for Genomic Medicine, St Mary's Hospital, Manchester, Royaume Uni
20. Department of Genetics and Metabolism, Children's National Medical Center, Washington, Etats-Unis
21. Department of Precision Medicine, University of Campania "Luigi Vanvitelli", Naples, Italie
22. Department of Precision Medicine, University of Campania, Naples, Italie
23. Department of Genetics, Robert Debré Hospital, AP-HP, Paris, France
24. Centre de Génétique humaine, Université de Franche-Comté, Besançon, France
25. Department of Medical Genetics, Poitiers University Hospital, Poitiers, France
26. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
27. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement de l'Inter Région Est", Hôpital D'enfants, CHU Dijon-Bourgogne, Dijon, France
28. CEA, INSERM, BIG-BGE, Université Grenoble-Alpes, Grenoble, France
29. Department of Pediatrics and Translational Genetics, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas

Mots clefs : SMARCA2, syndrome de Nicolaïdes-Baraitser syndrome, BISS, Reverse Phenotyping, Déficience intellectuelle

Résumé :

Le gène *SMARCA2* (MIM#600014) code pour l'une des sous-unités catalytiques du complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF. Les variants hétérozygotes non tronquants survenant dans les domaines hélicase de la région ATPase de ce gène sont responsables du syndrome de Nicolaïdes Baraitser (NCBRS) (MIM#601358), un syndrome reconnaissable se caractérisant par une déficience intellectuelle sévère et des malformations congénitales multiples. Dans cette étude nous décrivons un nouveau phénotype reconnaissable en lien avec des mutations *de novo* de *SMARCA2*.

Grâce à une collaboration multicentrique internationale, nous avons identifié 17 individus appartenant à 14 familles présentant un trouble du neurodéveloppement syndromique distinct du NCBRS et pour lesquels les études génétiques de séquençage nouvelle génération retrouvaient un variant *SMARCA2* comme seul candidat. Afin de progresser dans l'interprétation de ces variants, nous avons répertorié les données cliniques détaillées des patients, collecté leurs échantillons sanguins pour effectuer du RNA-seq et introduit leurs variants dans un modèle levure.

Parmi les 17 individus, dix présentaient un phénotype reconnaissable distinct du NCBRS. Les signes récurrents chez ces patients incluaient un blepharophimosis et un épicanthus, associés à une déficience intellectuelle de degré variable et à des troubles gastro-intestinaux. Les variations étaient toutes situées en dehors des domaines hélicases classiquement impliqués dans le NCBRS. Les sept autres individus présentaient des symptômes variables qui ne pouvaient être rapprochés ni du NCBRS ni de ce nouveau phénotype. Nos résultats de RNA-seq ont mis en évidence des signatures transcriptomiques distinctes entre les patients NCBRS, ceux présentant un phénotype commun reconnaissable et les patients aspécifiques. Le profil de croissance des levures était différent entre les souches mutantes NCBRS et les autres souches portant des variants non NCBRS, faisant évoquer l'hypothèse de mécanismes moléculaires distincts.

En conclusion nous avons montré qu'en plus du NCBRS, les variants hétérozygotes *de novo* non tronquants de *SMARCA2* sont associés à un nouveau syndrome reconnaissable que nous avons appelé BISS, pour Blepharophimosis Intellectual disability *SMARCA2* Syndrome.

CS74 : Des variants frameshifts dans le gène codant le facteur d'épissage neuronal NOVA2 conduisent à l'apparition d'une partie C-terminale anormale et provoquent une forme sévère de déficience intellectuelle avec traits autistiques.

Auteurs :

Francesca Mattioli (1), gaelle Hayot (2), Bertrand Isidor (3), Frederic Tran Mau Them (4), Nathalie Drouot (2), jérémy courraud (5), Chantal Sellier (2), Nolwenn Jean (6), Sophie Nambot (7), Sebastien Moutton (6), Jamel Chelly (8), Aida Telegrafi (9), christelle golzio (2), Nicolas Charlet-Berguerand (2), Jean-Louis Mandel (8), Amélie Piton (8)

1. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Strasbourg, France
2. Département de neurogénétique, IGBMC, Illkirch, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France, , Nantes, France
4. laboratoire de génétique moléculaire, hopitaux universitaires de strasbourg, strasbourg, France
5. , IGBMC, Illkirch, 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. Centre de Génétique et Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, illkirch, France
8. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Illkirch, France
9. genedx, genedx, Gaithersburg,, Etats-Unis

Mots clefs : NOVA2, épissage, déficience intellectuelle, RNA-Seq, croissance axonale, frameshift

Résumé :

Les formes monogéniques de déficience intellectuelle (DI) sont caractérisées par une extrême hétérogénéité, impliquant plus de 1 000 gènes. Environ un quart de ces gènes codent pour des protéines jouant un rôle dans la maturation et la régulation des ARN messagers, épissage, exportation, dégradation, régulation de la traduction, etc. Nous rapportons l'identification de six individus avec insertions/deletions de novo dans le gène NOVA2, précédemment associé à une autre affection neurologique, l'ataxie paraneoplasique opsoclonus-myoclonus (POMA). Les six variants sont survenus dans une région riche en GC de l'exon 4 du gène, pauvrement couverte par les analyses d'exome. Ils conduisent tous à un même décalage du cadre de lecture, à partir des acides aminés 237 à 261, entraînant l'apparition d'une partie C-terminale commune de 133 acides aminés. Les tests de surexpression dans les cellules HeLa ont montré que la protéine mutante Val261Glyfs* (Mut1), identifiée chez le premier patient de la cohorte, est exprimée de manière stable et ne présente pas d'anomalie de localisation cellulaire. NOVA2 code pour une protéine de liaison à l'ARN qui régule les événements d'épissage alternatif au cours du développement du cerveau. Des études antérieures ayant inactivé ce gène chez la souris ont révélé que NOVA2 contrôlait spécifiquement, entre autres, l'expression de transcrits alternatifs dans des gènes impliqués dans la guidance axonale (Saito et al. 2016) et dans la formation des synapses (Saito et al., 2019). Pour identifier les cibles de NOVA2 chez l'homme, nous avons effectué des études transcriptomiques sur les cellules souches neurales humaines (hNSC) où NOVA2 a été inactivé par siRNA. Nous avons identifié quarante gènes dont l'épissage alternatif était altéré après inactivation de NOVA2, codant pour des protéines impliquées dans la transduction du signal, le remodelage du cytosquelette et la projection de neurones / la formation de dendrite. En utilisant des tests de surexpression dans des cellules HeLa, nous avons pu confirmer l'implication de NOVA2 dans la régulation de l'épissage alternative de certains de ces gènes (SGCE, SORBS1, NEO1, etc). La variation Mut1 altère cette fonction de régulation de l'épissage, ainsi que la capacité de NOVA2 à lier l'ARNm. Enfin, en utilisant un modèle de poisson-zèbre, nous avons montré que l'inactivation de l'orthologue de NOVA2 chez le poisson entraînait une diminution du nombre d'axones reliant les tectas optiques du poisson et que ce phénotype était sauvé par l'expression de l'ARNm humain NOVA2 sauvage mais pas de l'ARNm muté Mut1. Globalement, notre étude montre que des variations frameshift de novo localisées dans l'exon 4 de NOVA2 conduisent à un trouble du neurodéveloppement avec DI sévère, des traits autistiques et autres manifestations cliniques ressemblant au syndrome d'Angelman. Ces résultats soulignent l'importance de la régulation de l'épissage alternatif lors du développement du cerveau.

CS75 : Variants synonymes et le biais d'usage de codons : impact sur Sonic Hedgehog dans l'holoprosencéphalie

Auteurs :

Artem Kim (1), Jerome Le Douce (2), Farah Diab (2), Christèle Dubourg (3), Sylvie Odent (4, 5), Valérie Dupé (1), Véronique David (1), Luis Diambra (6), Erwan Watrin (2), Marie de Tayrac (1)

1. Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR), Université Rennes 1, Rennes, France
2. IGDR UMR6290 CNRS, Université Rennes 1, Rennes, France
3. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
5. Centre de référence "Maladies Rares" CLAD-Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
6. CREG, CONICET, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentine

Mots clefs : codon, variant synonyme, traduction, Sonic Hedgehog

Résumé :

Des variations synonymes du génome sont aujourd'hui connues pour leurs implications dans certaines maladies génétiques du fait de leur impact possible sur l'épissage ou le repliement de l'ARNm, mais également sur la régulation de l'expression des gènes par les micro-ARN. La connaissance de leurs effets sur l'usage des codons synonymes et sur la traduction dans un contexte clinique reste cependant parcellaire.

Dans cette étude, nous explorons l'impact fonctionnel de variants synonymes dans le gène Sonic Hedgehog (*SHH*), identifiés chez des patients atteints d'holoprosencéphalie, - une anomalie cérébrale congénitale résultant d'un clivage incomplet du cerveau antérieur.

L'analyse rétrospective de données de séquençage de 931 patients atteints d'holoprosencéphalie a permis d'identifier huit variants synonymes dans le gène *SHH* chez 21 de ces patients. L'analyse de populations contrôles (gnomAD, FReX, GoNL) a mis en évidence l'existence d'un enrichissement significatif de variants synonymes dans le gène *SHH* dans notre cohorte de patients atteints d'holoprosencéphalie, suggérant un rôle dans l'étiologie de cette maladie.

Nous avons évalué de façon systématique l'impact de ces variants sur la transcription et la traduction du gène *SHH* par des approches computationnelles et par des validations *in vitro*. Ces analyses ont démontré que les variants synonymes identifiés n'entraînaient pas de défaut d'épissage de l'ARNm ou de fixation de micro-ARN, ni même de modification de la structure prédite de l'ARNm. Elles ont cependant indiqué un effet hautement probable de cinq de ces variants sur la dynamique de la traduction du gène *SHH*. Introduisant des codons synonymes possédant les propriétés biochimiques différentes, ces variants synonymes modifieraient la vitesse de la traduction et la capacité de la protéine à se replier correctement. Les expériences réalisées *in vitro* ont démontré que ces cinq variants synonymes sont en effet associés à une réduction significative de la quantité de la protéine produite, réduction allant de 5 % à 23 %. En inhibant le protéasome, nous avons pu restaurer les quantités protéiques pour quatre de ces cinq variants synonymes, confirmant ainsi leur impact sur la stabilité et le repliement de la protéine SHH. De plus, nous avons pu montrer une corrélation significative entre les valeurs de réduction protéique évaluées expérimentalement et les mesures computationnelles d'usage de codons ($R^2=0.83$; $P=0.0016$), soulignant ainsi la pertinence de certains modèles permettant de prédire l'impact des variants synonymes sur la traduction.

Considérant le rôle critique de SHH dans le développement cérébral, nos résultats indiquent l'importance des variants synonymes dans l'holoprosencéphalie et soulignent que les variants synonymes peuvent avoir un rôle majeur dans les pathologies génétiques, indépendamment d'une possible altération de l'épissage des ARNm.

CS76 : Differences in the genetic background contribute to risk and resilience to autism

Auteurs :

Thomas Rolland (1), Freddy Cliquet (1), Alexandre Mathieu (1), Amaury Vaysse (1), Claire Leblond (1), Frederique Amsellem (2), Anna Maruani (2), Richard Delorme (2), Thomas Bourgeron (1)

1. Neuroscience, Institut Pasteur, PARIS, France
2. , Hopital Robert Debré APHP, PARIS, France

Mots clefs : autism, resilience, penetrance

Résumé :

Background: In the last 20 years, there was a tremendous progress in identifying genes associated to autism spectrum disorders (ASD). The genetic architecture of ASD is complex, ranging from apparently monogenic forms of the disorder to highly polygenic forms. However, if rare deleterious mutations affecting approximately 100 genes are now well accepted as risk factors for ASD, the role of the genetic background on their variable penetrance remains poorly understood.

Objectives: To identify resilient individuals, carrying rare deleterious mutations in ASD susceptibility genes without being diagnosed with the condition, and study the genetic factors influencing their clinical trajectories.

Methods: We designed a framework to assess the risk associated to > 11,000 rare deleterious mutations in parents and children of 1,786 quadruplet families with one affected and one unaffected child of the Simons Simplex Collection. We investigated hallmarks of mutation intolerance (haploinsufficiency, probability of loss-of-function mutation intolerance, z-score for missense mutation or deletion intolerance) to discriminate mutations likely to affect gene function. We also used clinical records available for each family to focus on mutations identified in children displaying a clear discordance in ASD phenotype (SRS and VABS-II scores).

Results: The fraction of resilient individuals among siblings and parents was surprisingly high, with approximately 7% of individuals carrying rare deleterious mutations in ASD-associated genes without displaying ASD symptoms. By stratifying resilient children from other unaffected children, we confirm a significant role of polygenic risk in ASD etiology. In addition, we observe significant differences in polygenic risk between affected and unaffected children who inherited the same rare deleterious mutations and between affected children with rare inherited deleterious mutations and affected children without.

Conclusion: The genetic background significantly influences the clinical trajectory of siblings carrying similar deleterious mutations in ASD-associated genes. Our results highlight the importance of investigating rare deleterious mutations in ASD susceptibility genes in the context of the genetic background, as well as the clinical heterogeneity of both diagnosed and undiagnosed individuals. Understanding the genetic factors contributing to resilience for ASD provides new insights into the molecular mechanisms of ASD, ultimately allowing the development of novel therapeutic strategies.

CS77 : Outils d'aide à l'interprétation de données issues du séquençage haut débit pangénomique : révolution ou déception ?

Auteurs :

Yannis Duffourd (1, 2), Aurore Garde (1, 3), Caroline Racine (1, 3), Frédéric Tran Mau-Them (1, 2), Ange-Line Bruel (1, 2), Garret Philippine (1, 4), Arthur Sorlin (1, 2), Virginie Quéré-Carmignac (1, 2), Anne-Laure Mosca-Boidron (1, 2), Patrick Callier (1, 2), Anne-Sophie Denommé-Pichon (1, 2), Laurence Faivre (1, 3), Antonio Vitobello (1, 3), Christophe Philippe (1, 2), Christel Thauvin-Robinet (1, 5)

1. , U1231 GAD, Inserm – University of Burgundy-Franche Comté, DIJON, France
2. , Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France
3. , Centre de Référence maladies rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France
4. , Laboratoire Cerba, St Ouen L'aumone, France
5. , Centre de Référence maladies rares « Déficience Intellectuelle de causes rares », FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France

Mots clefs : séquençage haut -débit , interprétation, bioinformatique

Résumé :

La démocratisation du séquençage haut débit (SHD) pangénomique met en évidence des besoins importants en terme d'experts biologistes pour interpréter la quantité importante de données génomiques générées par cette technologie. Il est en effet nécessaire d'acquérir une réelle expertise pour interpréter ces données et retenir les variations susceptibles d'expliquer le phénotype du patient qui a bénéficié de cet examen. De nombreuses solutions logicielles commencent ainsi à voir le jour, allant pour certaines jusqu'à affirmer qu'elles peuvent remplacer le biologiste, ou pour d'autres, plus humbles, déclarer être une simple aide à l'interprétation de ces données.

Nous proposons de faire un tour d'horizon non-exhaustif de ces solutions informatiques afin d'évaluer leur apport dans l'interprétation de données de SHD pangénomique. Différents logiciels sont testés, incluant des solutions académiques populaires ou industrielles telles que Exomiser, GADO, Mutation Distiller ou SeqOne. Bien que ces solutions informatiques soient toutes différentes dans leurs conceptions, il s'avère qu'elles nécessitent toutes la même base d'information : les traits phénotypiques du patient codés sous le format d'entrée de la base HPO, ainsi que le VCF résultant de l'analyse bioinformatique des données de l'examen. Les tests sont réalisés sur un nombre important d'individus: 350 patients ayant bénéficié d'un SHD d'exome, répartis en 3 groupes : 154 positifs (confirmés par séquençage Sanger), 100 candidats, 96 négatifs.

Les résultats préliminaires indiquent que ces solutions informatiques sont très loin d'être capables de remplacer des experts biologistes pour interpréter ce type de données. En effet, dans les cas les plus simples comme les positifs de notre cohorte, les logiciels trouvent la même réponse que le biologiste dans les 5 premiers résultats de son analyse dans 75% des cas. Lorsqu'un cas est plus complexe (hétérozygotes composites, présence de CNVs, ségrégation familiale complexe, candidats), les logiciels ne sont pas capables de rapporter prioritairement les variations rapportées par les biologistes. Il faut noter cependant que certains cas négatifs ont été résolus grâce à cette approche (5%). Cela s'explique par l'ancienneté de l'examen réalisé et par l'évolution des connaissances scientifiques, qui à l'époque de l'examen ne permettait pas de mettre en évidence la pathogénicité de variations qui aujourd'hui sont connues comme pathogènes.

Ainsi, la révolution annoncée de ces solutions logicielles n'est pas encore réelle. Cependant, ces approches apparaissent intéressantes pour gagner un temps non négligeable dans l'interprétation de données de SHD. Leur vérification par un expert biologiste semble évidemment encore nécessaire et inconditionnelle. L'évolution des technologies et des algorithmes, notamment dans le domaine de l'intelligence artificielle, permettra probablement d'améliorer ces méthodes et de les rendre de plus en plus pertinentes et performantes.

Pièce jointe : outils_de_predictions_resultats_wes_YD.v2.doc

CS78 : Estimation des performances diagnostiques d'un workflow d'analyse pour la détection des variations du nombre de copie issues de données de panels NGS et d'exomes

Auteurs :

Olivier Quenez (1), Kevin Cassinari (1), Sophie Coutant (2), François Lecoquierre (3), Kilan Le Guennec (1), Stéphane Rousseau (1), Anne-Claire Richard (1), Stéphanie Vasseur (2), Emilie Bouvignies (2), Jacqueline Bou (2), Gwendoline Lienard (2), Sandrine Manase (2), Steeve Fourneaux (2), Nathalie Drouot (2), Virginie Nguyen-viet (2), Myriam Vezain (2), Pascal Chambon (3), Géraldine Joly-Helas (3), Nathalie Le Meur (3), Mathieu Castelain (2), Anne Boland (4), Jean-François Deleuze (4), Isabelle Tournier (2), Françoise Charbonnier (2), Edwige Kasper (2), Thierry Frébourg (2), Pascale Saugier-Weber (3), Stéphanie Baert-Desurmont (2), Dominique Campion (1, 5), Anne Rovelet-Lecrux (1), Gaël Nicolas (1)

1. 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
2. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
3. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
4. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, Centre François Jacob, université Paris-Saclay, Evry, France
5. Département de Recherche, Centre Hospitalier du Rouvray, Sotteville-lès-Rouen, France

Mots clefs : CNV, exome, panel, diagnostic, performance

Résumé :

La détection de variations du nombre de copie (CNV) à partir de données de séquençage à haut débit est actuellement sous exploitée malgré la disponibilité de nombreux outils. Les études évaluant les performances de ces outils en conditions réelles sont rares.

Nous avons mis en place un workflow d'analyse basé sur CANOES, un outil bioinformatique exploitant la profondeur de lecture relative. Afin d'estimer les performances de ce workflow, nous l'avons appliqué à des données issues de séquençage de panels de gènes et d'exomes et réalisé des comparaisons en 2 étapes : (1) comparaison à une référence standard, (2) évaluation complémentaire de la valeur prédictive positive (VPP).

Concernant les données de séquençage de panels, nous avons d'abord comparé 465 échantillons avec à la fois des données d'un panel de 4 gènes (60 exons) et de QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent fragments) exhaustive (un amplicon par exon). Notre workflow a détecté l'ensemble des 14 CNVs identifiés en QMPSF sans faux positifs, obtenant ainsi une sensibilité et une spécificité de 100 %. Nous avons complété cette étude en appliquant notre workflow sur les données issues de 3311 patients supplémentaires (3 panels), puis validé les CNV candidats par QMPSF ou digital droplet PCR (ddPCR). Sur 101 CNV candidats, 87 ont été confirmés (86,13%). Les faux positifs étaient dans des régions de faible complexité ou correspondaient à des pseudogènes.

Concernant les exomes, nous avons analysé 137 individus pour lesquels nous avons des données de CGH array et d'exome. Après avoir limité notre analyse aux CNV potentiellement détectables pour l'une ou l'autre des techniques, nous avons obtenu une sensibilité de 87,25 % (89/102 CNVs) et une VPP de 85,2 % (190/223 CNVs). Nous avons ensuite appliqué notre workflow à 1056 exomes supplémentaires pour lesquels nous n'avions pas de données de CGH array associées. Après avoir sélectionné les événements affectant une liste de gènes d'intérêt, nous avons validé par QMPSF 108 des 122 CNV candidats détectés par notre workflow (VPP=88,52%). L'exome permettait de détecter des événements de toute taille, donc certains sont indétectable par CGH array.

En conclusion, le passage au criblage de CNVs par NGS seul est associé à : (1) une réduction importante des coûts, (2) un taux de faux positifs faible limitant le nombre de confirmations moléculaires par une technique indépendante, et (3) des rendements diagnostiques probablement stables en approche pangénomique, car les exomes permettent de détecter des événements non détectables en CGH array malgré une sensibilité non parfaite de l'exome, confirmant qu'il n'existe pas de réel gold standard, dans l'attente que les performances des outils de détection à partir de génomes entiers soient optimisées.

Pièce jointe : Abstract_assise_OQ.docx

CS79 : Caractérisation des remaniements chromosomiques équilibrés en WGS : comment gérer les échecs de la stratégie short-read ?

Auteurs :

Caroline Schluth-Bolard (1, 2), Marion Beaumont (1, 3), Laïla El-Khattabi (4, 5), Nicolas Reynaud (1, 6), Kevin Uguen (1, 7), Flavie Diguët (1), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (8), Alexandra Afenjar (9), Florence Amblard (10), Jeanne Amiel (11), Sophie Christin-Maitre (12), Françoise Devillard (10), Mélanie Fradin (13), Bertrand Isidor (14), Dominique Martin-Coignard (15), Robert Olaso (16), Massimiliano Rossi (1, 17), Jean-Pierre Siffroi (18), Damien Sanlaville (1, 2)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Equipe Métabolisme énergétique et développement neuronal, Institut NeuroMyoGène CNRS UMR 5310, INSERM U1217, Université Lyon 1, Lyon, France
3. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
4. Laboratoire de Cytogénétique, APHP Hôpital Cochin, Paris, France
5. Institut Cochin U1016, Université Paris Descartes, Paris, France
6. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
7. Service de Génétique Médicale, CHRU Brest, Brest, France
8. Cellule bio-informatique de la plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
9. Département de Génétique et Embryologie Médicale, APHP -Sorbonne Université - Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
10. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France
11. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
12. Service d'Endocrinologie, APHP Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
13. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
14. Service de génétique médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
15. Service de Génétique Médicale, CH Le Mans, Le Mans, France
16. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), CEA, Evry, France
17. GENDEV Team, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, CNRS UMR5292, UCBL1, Lyon, France
18. Service de Génétique et Embryologie Médicale, APHP -Sorbonne Université - Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Mots clefs : Remaniements chromosomiques, Whole genome sequencing, short-read, PacBio, Bionano, 10XGenomics, éléments répétés

Résumé :

Le séquençage génome entier (ou Whole Genome sequencing, WGS) en short-read a offert la possibilité de caractériser de façon rapide et précise les points de cassure des remaniements de structure chromosomique au niveau moléculaire. Cependant, dans 9 à 11% des cas, il ne permet pas d'identifier le remaniement.

Nous avons recueilli 10 cas non caractérisés après alignement en hg38 parmi 86 remaniements de structure chromosomique étudiés en WGS (11,6%) afin d'identifier les raisons de ces échecs. Parmi ces dix translocations réciproques, 8 impliquaient sur le caryotype des régions chromosomiques hautement répétées telles que l'hétérochromatine constitutive des chromosomes 1,9 ou 16 (5 cas), les bras courts d'acrocentriques (2 cas) ou les régions péricentromériques (1 cas). Neuf de ces cas ont pu bénéficier d'analyses complémentaires, soit de façon isolée, soit combinée, par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) (7 cas), séquençage linked-reads (10X Genomics) (1 cas), séquençage long-reads (PacBio) (2 cas) ou cartographie optique (Bionano) (5 cas). Les points de cassure ont été identifiés pour 8/9 cas, dont 5 confirmés par séquençage Sanger. Dans tous les cas, au moins un point de cassure impliquait un élément répété (LINE, alpha-satellites), une duplication segmentaire ou une région de séquençage difficile. Les données de WGS short-reads ont été ré-analysées secondairement de façon ciblée sur les points de cassure à l'aide du logiciel IGV. Pour 3/8 cas, les points de cassure n'étaient pas visibles à partir des données short-reads. Pour 5/8 cas, les points de cassure étaient visibles a posteriori, mais impliquaient des localisations chromosomiques multiples ou erronées pour un partenaire du remaniement. Enfin, cette étude a permis de poser un diagnostic pour 4/8 patients soit par interruption de gène (*NLGN4*, *DYRK1A*, *CLCN5*) ou par effet de position (*BMP2*).

En conclusion, les échecs de caractérisation par short-read sont liés à l'implication de régions génomiques hautement répétées, soit absentes du génome de référence, soit ne pouvant pas être attribuées à une position génomique unique lors de l'alignement. L'approche par FISH avec ré-analyse des données de WGS est efficace et facile à mettre en œuvre comparée aux nouvelles technologies de type long-reads, encore difficiles d'accès. La résolution de ces échecs est primordiale pour la prise en charge des patients puisqu'un remaniement pathogène a été identifié pour 40% des patients dans cette étude.

Pièce jointe : Abstract-echecs-vfinale.docx

CS80 : SPiP: a Splicing Prediction Pipeline addressing the diversity of splice alterations, validated on a curated diagnostic set of 2,784 exonic and intronic variants.

Auteurs :

Raphael LEMAN (1, 2), Béatrice PARFAIT (3), Dominique VIDAUD (3), Emmanuelle GIRODON (3), Laurence PACOT (3), Gérald LE GAC (4), Chandran KA (4), Claude FEREC (4), Yann FICHOU (4), Céline QUESNELLE (1), Etienne MULLER (1), Dominique VAUR (5), Laurent CASTERA (1), Agathe RICOU (1), Hélène TUBEUF (2), Omar SOUKARIEH (2), Pascaline GAILDRAT (2), Thierry FREBOURG (2), Florence RIAANT (6), Marine GUILLAUD BATAILLE (7), Sandrine CAPUTO (8), Virginie CAUX MONCOUTIER (8), Nadia BOUTRY-KRYZA (9), Françoise BONNET-DORION (10), Ines SCHULTZ (11), Maria ROSSING (12), Michael PARSONS (13), Amanda SPURDLE (13), Alexandra MARTINS (2), Claude HOUDAYER (2), Sophie KRIEGER (1, 14)

1. Laboratoire de biologie et génétique du cancer, Centre François Baclesse, Caen, France
2. Inserm U1245, Genomics and Personalized Medicine in Cancer and Neurological Disorders, Normandy University, Rouen, France
3. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, APHP, HUPC, Hôpital Cochin, Paris, France
4. Inserm UMR1078, Genetics, Functional Genomics and Biotechnology, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
5. Laboratoire de biologie et génétique du cancer, Centre François Baclesse, D.VAUR@baclesse.unicancer.fr, France
6. Laboratoire de Génétique, AP-HP, GH Saint-Louis-Lariboisière-Fernand Widal, Paris, France
7. Département de Biopathologie, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Villejuif, France
8. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
9. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
10. INSERM U1218 Département de Biopathologie Unité de Génétique Constitutionnelle, Institut Bergonie, Bordeaux, France
11. Laboratoire d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
12. Centre for Genomic Medicine, Rigshospitalet, University of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
13. Department of Genetics and Computational Biology, QIMR Berghofer Medical Research Institute, Herston, Australie
14. Inserm U1245, Genomics and Personalized Medicine in Cancer and Neurological Disorders, Normandy University, Caen, France

Mots clefs : RNA, variants, splicing predictions, SPiP.

Résumé :

Prédire avec un même outil l'effet sur l'épissage d'une variation nucléotidique quelle que soit sa position dans le génome est un véritable défi. En effet, chaque modification nucléotidique peut impacter l'épissage *via* la destruction/création des sites 5'/3' d'épissage (5'ss/3'ss), des points de branchement (BPs) ou des ESRs (*exonic splicing regulators*). Ainsi, nous avons développé l'outil SPiP (*Splicing Prediction Pipeline*) qui permet la détection de variants splicéogéniques indépendamment de la position et du motif affecté. SPiP est un algorithme décisionnel intégrant des outils sélectionnés pour chaque motif d'épissage ainsi qu'un nouvel outil détectant soit un renforcement d'un site cryptique soit l'apparition d'un site d'épissage *de novo* AG/GT.

SPiP a été évalué sur 2 784 variants avec études ARN *in vitro*, obtenues grâce à un recueil de la littérature, au consortium ENIGMA, au réseau épissage du Groupe Génétique et Cancer et aux partenaires de l'ANPGM. Parmi ces variants, 47 % (1 294/2 784) impactent l'épissage. SPiP a atteint une exactitude de 80.76 %, une sensibilité de 90.96 % et une spécificité de 70.87 %. Comparativement, les outils récemment développés SPANR et SpliceAI (récemment publié par Illumina®) présentent, respectivement, une sensibilité de 78.37 % et 70.71 % et une spécificité de 72.37 % et 98.26 % sur le même jeu de données expérimentales.

Pour aider le biologiste à retenir ou non un variant pour étude ARN, SPiP fournit directement la probabilité d'altération de l'épissage pour le variant testé. Ainsi, si SPiP prédit une altération, alors ces probabilités correspondent aux valeurs prédictives positives (VPP) de l'outil. En absence d'altération prédite, une probabilité résiduelle d'altération est fournie par SPiP correspondant à 1-VPN (Valeur Prédictive Négative). Pour estimer ces VPP et VPN, deux étapes ont été nécessaires : (i) estimation de la proportion de variants splicéogéniques dans notre génome par approche bayésienne (2.69 %) ; (ii) création d'un jeu de variants en accord avec cette proportion (47 784 variants). SPiP présente des VPP optimales pour les sites d'épissage 5'et 3', les points de branchement et les éléments régulateurs, mais plus faible pour les sites *de novo* en raison du nombre conséquent de variants pouvant créer un nouveau site. Par ailleurs les VPN de SPiP sont toutes supérieures à 90 %.

Utilisable sous Windows (<https://sourceforge.net/projects/splicing-prediction-pipeline/>) mais également en haut débit sous Linux (<https://github.com/raphaelleman/SPiP>), SPiP est donc un outil de prédiction adapté à la médecine génomique.

Pièce jointe : abstractAssisesv2.docx

CS81 : Evaluation de la détection de variants structuraux par séquençage Nanopore dans un contexte de routine diagnostique

Auteurs :

Quentin Testard (1, 2), Luc Druart (3), Benoit Quilichini (4), Marie Naud (5), Marc Nouchy (3), Pascal Mouty (5), Laure Raymond (6), Francis Rousseau (7), Mohamed Taoudi (7), Sylvie Tapia (3), Julien Thévenon (2), Jean-François Taly (1)

1. Unité de Bioinformatique, Eurofins Biomnis, Lyon, France
2. Département de Génétique et Procréation, Hôpital Couple-Enfant, Université de Grenoble, CHU de Grenoble, Grenoble, France
3. Unité de Cytogénétique, Eurofins Biomnis, Paris, France
4. Unité d'Oncohématologie, Eurofins Biomnis, Lyon, France
5. Unité de Génétique, Eurofins Biomnis, Lyon, France
6. Unité de génétique, Eurofins-Biomnis, Lyon, France
7. Unité de Génétique, Eurofins-Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : bioinformatique, variants structuraux, long read, NGS, diagnostic

Résumé :

Le séquençage dit de seconde génération (NGS) est devenu une pratique courante dans les laboratoires de génétique car la qualité du séquençage permet de détecter avec précision un grand nombre de variations génomiques. Cependant, la petite taille (centaines de bases) des lectures générées par le NGS est un inconvénient lors de la recherche de variants structuraux ou d'expansions de triplets. Les réarrangements structuraux (ou SV pour structural variant), regroupent les anomalies chromosomiques telles que les variations de nombre de copie (ou CNV pour copy-number variants), les insertions, les inversions et les translocations équilibrées. Leur détection par le biais de séquençage reste moins démocratisée que celle des variations d'un seul nucléotide (ou SNV pour single nucleotide variant). L'avènement des technologies dites de troisième génération (TGS) promet à l'aide de ses lectures plus longues (N50 ~ 15-25kb) de détecter l'ensemble de ces anomalies en une seule technique.

Dans le cadre de cette étude, nous avons évalué la capacité du séquençage « long read » de la société Oxford Nanopore Technologies à détecter des SV et expansions de triplets issus de notre routine diagnostique. Nous avons donc sélectionné plusieurs échantillons présentant des anomalies, de taille et de complexité variables, détectées par le biais de techniques diverses (caryotype, ACPA, exome, FISH) et provenant de différentes matrices (Sang EDTA, culture de liquide amniotique, lymphocytes fixés). Pour respecter les contraintes d'une routine optimisée, nous avons réalisé des séquençages de génomes complets à faible profondeur.

Nos expériences ont montré que la préparation des librairies et le séquençage sur l'automate GridION sont relativement aisés. Il est par contre rapidement apparu important d'optimiser les protocoles d'extraction et de purification des ADNs afin d'obtenir un équilibre entre rendement et taille des lectures. Nous avons pu en effet observer que i) la sensibilité des pores aux contaminants chimiques rend certaines méthodes d'extraction incompatibles, ii) il est nécessaire de charger des librairies dont les fragments ont une taille homogène, iii) les long fragments peuvent bloquer les pores et donc réduire le rendement.

Le traitement bioinformatique des données est actuellement un challenge car nous n'avons pas le même recul que pour les technologies short-reads. De plus, beaucoup de connaissances, que ce soit les bases de données ou les génomes de référence, ont été construites sur la base des technologies short-reads et demeurent au mieux incomplètes. Dans cette première approche, nous nous sommes donc limités à déterminer bioinformatiquement les paramètres optimaux permettant de reproduire nos diagnostics. Nous présenterons également une analyse détaillée des limites de l'utilisation de cette technologie dans le contexte d'un laboratoire de routine (optimisation de la cible diagnostique, des délais et des coûts).

CS82 : Les variants du site 5' d'épissage GC>GT se comportent différemment des variants GT>GC en termes de leurs effets fonctionnels sur l'épissage

Auteurs :

Jin-Huan Lin (1, 2), Emmanuelle Masson (3, 4), Matthew Hayden (5), David Cooper (6), Zhuan Liao (2), Claude Férec (7), Jian-Min Chen (7)

1. EFS, Univ Brest, Inserm, UMR 1078, GGB, F-29200, Brest, France
2. Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, Shanghai, Chine
3. EFS, Univ Brest, Inserm, UMR 1078, GGB, F-29200, Brest, France
4. Service de Génétique, CHRU Brest, Brest, France
5. Institute of Medical Genetics, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, Royaume Uni
6. Institute of Medical Genetics, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, United Kingdom, , Cardiff, Royaume Uni
7. INSERM U1078; EFS - Bretagne; UBO, Brest, France, , Brest, France

Mots clefs : épissage, site d'épissage, variants d'épissage, analyse fonctionnelle

Résumé :

In the human genome, the vast majority (> 99%) of introns are of the U2 type. The vast majority (~99%) of these employ the canonical 5' splice site (5'SS) GT dinucleotide whilst a minority (~1%) use the non-canonical 5'SS GC. 5'SS GT > GC or +2T > C variants have been frequently described to cause human genetic disease and are routinely scored as splicing mutations. However, we have recently provided evidence that such variants in human disease genes may not invariably be pathogenic. Specifically, combining data derived from a meta-analysis of 45 human disease-causing GT > GC variants and a cell culture-based full-length gene splicing assay of 103 GT > GC substitutions, we estimated that ~15-18% of GT > GC variants generate between 1 and 84% normal transcripts. By contrast, we know very little about the functional effect and pathogenic relevance of 5' splice site GC > GT or +2C > T variants. Herein, we aimed at bridging this gap by performing a meta-analysis of clinically identified GC > GT variants and a functional analysis of engineered GC > GT substitutions. Our meta-analysis revealed that none of the clinically identified GC > GT variants could be confidently interpreted to be pathogenic. We then analyzed the functional effects of engineered GC > GT substitutions in the same manner as we have done for GT > GC substitutions. Thus, we firstly selected 42 genes whose genomic sizes did not exceed 8 kb (from the translation initiation codon to the translation termination codon) and which contained at least one 5'SS GC site, for the construction of full-length gene expression vectors; we then screened those genes, which had yielded the expected transcript size by means of RT-PCR analysis of transfected HEK293T cells, for subsequent mutagenesis of available 5'SS GCs to GTs in the construct. In the end, we succeeded in functionally analyzing 15 GC > GT substitutions from 15 different genes. In sharp contrast with 5'SS GT > GC variants, all the 15 5'SS GC > GT substitutions generated wild-type transcripts; and most of them generated an equal or even higher level of normal transcripts as compared to their corresponding GC wild-type alleles. These findings are largely consistent with the fact that GC > GT will render the 9-bp consensus sequence for the U2-type 5'SS more complementary to the 3'-GUCCAUUCA-5' sequence at the 5' end of U1 snRNA. Nonetheless, some 5'SS GC > GT substitutions generated a much lower level of normal transcripts as compared to the GC wild-type alleles, highlighting the involvement of sequence determinants for splicing beyond the short 9-bp consensus sequence motif. Our findings will not only have immediate implications for interpreting the clinical relevance of 5'SS GC > GT variants but should also help us to understand the switching between 5'SS GT and 5'SS GC sites in the human genome.

Pièce jointe : Chen_2019 French Genetics Meeting-new.docx

CS83 : Les gènes BMP10 et KDR : nouveaux venus dans l'architecture génétique de l'hypertension artérielle pulmonaire héréditaire.

Auteurs :

Mélanie EYRIES (1), David MONTANI (2), Barbara GIRERD (3), Sophie NADAUD (4), Marie-Christine WAILL (1), Florence COULET (1), Marc HUMBERT (2), Florent SOUBRIER (1)

1. Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Centre de référence de l'hypertension artérielle sévère, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. , Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
4. UMR-S1166, INSERM_Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

Mots clefs : HTAP, BMP10, KDR, NGS ciblé, BMPR2, TBX4, BMP9

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 l'architecture génétique de l'hypertension pulmonaire dans une cohorte de patients français grâce à une approche de NGS ciblé en utilisant un panel incluant les gènes validés pour le diagnostic moléculaire ainsi que des gènes de recherche.

Méthodes: Analyse prospective de 506 cas index atteints d'HTAP ou de MVO. Screening moléculaire par un panel de capture ciblé comprenant les gènes (*BMPR2*, *TBX4*, *EIF2AK4*, *CAV1*, *KCNK3*, *SMAD9*, *ACVRL1*, *ENG*, *BMP9*). Le gène *BMP10* un paralogue de *BMP9* et le gène KDR codant pour le récepteur de type 2 du VEGF sont également inclus dans le design comme gène de recherche. Parmi ces patients 243 ont été testés avec une évolution du panel incluant trois nouveaux gènes validés pour le diagnostic moléculaire (*SOX17*, *ATP13A3* et *AQP1*)

Résultats: Un variant pathogène a été identifié chez 91 des 506 patients analysés (18.3 % chez des HTAP sporadiques, 61.1 % chez des HTAP familiales et 13,1% chez des MVO. *BMPR2* reste le gène le plus fréquemment muté, suivi de *TBX4* et *BMP9* (respectivement 62,6%, 7,7% et 6,6% des mutations identifiées). Les mutations dans le gène *SOX17* ont été trouvées chez 3 patients parmi les 243 testés. Les mutations bi-allèles *EIF2AK4* signent la MVO parfois confondue cliniquement avec une HTAP. Une mutation tronquante et un variant très probablement pathogène ont été identifiés dans le gène *BMP10* chez deux patients atteints de formes sévères d'HTAP. Enfin deux mutations tronquantes ont été identifiées dans le gène KDR. L'une dans une forme familiale et l'autre dans une forme sporadique d'HTAP.

Conclusions : L'approche de NGS ciblé est un outil efficace pour améliorer la connaissance de l'architecture génétique de l'hypertension pulmonaire et confirmer la responsabilité de nouveaux gènes. Dans notre cohorte, le gène majeur reste *BMPR2*, mais d'autres gènes émergent tels que *BMP9* et *TBX4*. En particulier pour ce dernier des mutations sont identifiées dans les HTAP adultes, alors que ce gène a été initialement décrit comme un gène majeur dans les HTAP pédiatriques. Nos résultats révèlent également *BMP10* et *KDR* comme nouveaux gènes de l'HTAP.

**CS84 : Délétions intergéniques en 4q25 et perturbation de la structure de la chromatine à l'origine d'une forme familiale de
dysfonction sinusale**

Auteurs :

Jean-Jacques Schott (1), Julien Barc (1), Hiroshige Murata (1), Estelle Baron (1), Pierre Lindenbaum (1), Manon Baudic (1), Adrien Foucal (1), Karim Si-Tayeb (1), Le Marec Hervé (1), Vincent Probst (1), Jean-François Deleuze (2), Claude Vieyres (3), Richard Redon (1), Solena Le Scouarnec (1)

1. l'institut du thorax, Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291, Nantes, France

2. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Paris, France

3. , Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291, Angoulême, France

Mots clefs : Séquençage de génome, chromatine, maladie mendélienne, cardiologie

Résumé :

Sinus node dysfunction (SND) refers to several conditions causing physiologically inappropriate atrial rates. Genetics of human SND remains poorly understood with few genes identified (*HCN4*, *SCN5A*, *GJA5*, *KCNQ1*, *MYH6* and *ANK2*) and further genetic heterogeneity. Here we report two families with SND segregating with an intergenic deletion associated with long-range *cis*-regulatory elements (CREs) of *PITX2*. We first applied exome sequencing to a 4-generation family presenting 16 patients with SND, atrial fibrillation and/or repolarization abnormalities that did not allow to identify the disease-causing gene within a 16.5-cM linkage interval ($Z_{max}=5.9$, $q=0$) on chr.4q25 although immunoblot of a muscle biopsy revealed a striking decrease in ANK-B expression. We then applied 30x whole genome sequencing (WGS) in 2 patients and identified 72 rare ($< 0.1\%$) SNVs and a 15-Kb deletion using LUMPY in the candidate interval. This intergenic deletion, which was located between *PITX2* and *ANK2* and contained a CTCF motif, was segregating in all patients and was not found in 855 French control genomes. We also applied WGS on a second family presenting 5 patients with SND and negative for all SND genes and identified a 91-Kb deletion overlapping the initial deletion. CTCF functions as a genome organizer mediating genomic interactions between genes and CREs. To clarify a possible regulatory function of the 1.5-Mb intergenic region containing the deletion, we interrogated 3 epigenetic databases. High-throughput chromosome conformation capture (Hi-C) data (1) revealed that this intergenic region was placed in a topologically associating domain (TAD) containing *PITX2*. Chromatin interaction analysis by paired-end tag (ChIA-PET) data of CTCF in MCF-7 (2) suggested several possible functional chromatin loops in the TAD. Of them, a CTCF-mediated chromatin loop corresponding to a 300-Kb genomic region was clarified as a possible CRE using histone modification data from Roadmap. The region ranging between the intra-deletion CTCF motif and another distal motif was repressed in H3K27me3 profiles of fetal heart and H1 ESC-derived mesenchymal stem cells, while the region was activated in H3K27ac profiles of H1 ESC-derived mesoderm cells. Thus, this CRE may regulate expression of *PITX2* and/or *ANK2* in pacemaker cell differentiation. Ongoing experiments on patient's iPSC-derived cardiomyocytes will further characterize the disease mechanism.

(1) Leung *et al.* Nature, 2015; (2) Li *et al.* Cell, 2011

Pièce jointe : Assise 2020 abstract_SCHOTT.docx

CS85 : The spectrum of Fetal Cardiomyopathies; pathological and genetic analysis allowed identifying the etiology and propose an accurate genetic counseling

Auteurs :

Eva KOHAUT (1), Flavie ADER (2), Caroline ROORYCK-THAMBO (3), Fanny PELLUARD (4), Maryse BONNIERE (5), Gwenaëlle ANDRE (4), Fanny SAUVESTRE (4), Lionel VAN MALDERGEM (6), Philippe ROTH (7), Diala KRHAICHE (8), Bettina BESSIERES (5), Tania ATTIE-BITACH (9), Pascale RICHARD (2)

1. Service de Génétique Clinique, , HU-Necker Enfants Malades, Paris, France
2. UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, (F-75013), France, Hôpitaux Universitaires de la Pitié- Salpêtrière- Charles Foix, , Paris, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
4. Service de Pathologie, Groupe Hospitalier Pellegrin, , Bordeaux, France
5. Service Histologie embryologie cytogénétique,, HU-Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Centre de Génétique Humaine , CHRU de Besançon - Hôpital Saint-Jacques, BESANCON, France
7. Service de Gynécologie Obstétrique, HU-Necker Enfants Malades, Paris, France
8. Service de cardiopédiatrie, Hôpital Universitaire Necker Enfants Malades, PARIS, France
9. Service de Génétique Clinique, , HU-Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : Cardiomyopathy, antenatal, genetics

Résumé :

Cardiomyopathies are diseases of the heart muscle with variable clinical appearance, onset of symptoms and severity. Most of forms are inherited as dominant trait and may stay asymptomatic and undiagnosed until adulthood. Severe forms of cardiomyopathies may be observed during the antenatal period with a pejorative issue leading to fetal death or therapeutic premature interruption of pregnancy. Variable phenotypes as well as genetic heterogeneity make etiologic identification difficult.

We report the histological and genetic analysis of 16 antenatal forms of cardiomyopathies from 11 families. 14 fetuses underwent an autopsy and 13 a genetic analysis. All of them showed a dilated or hypertrophic cardiomyopathy, complicated by hydrops fetalis in 6 of them. Six of the fetuses died *in utero*. In the 7 others, a termination of the pregnancy was performed on parental request, between 22 and 26 gestational weeks in 4, at 34 gw in two and 37.5 gw in one. Three children were born and died at first hour, 35 days and 16 months of life respectively.

Methods:

During autopsy, detailed morphological and histological examinations of hearts were implemented then DNAs were sequenced by a targeted NGS panel of 52 cardiomyopathy genes. This strategy allowed the identification of the genetic cause in 9/11 families.

Results:

In this study, despite a variability of histological and pathological findings, a common morphotype could emerged : There was a uni- or biventricular cardiac dilatation (n=12), a ventricular hypertrophy (n=2), three cases of left ventricle non-compaction, a sub-endocardial fibroelastosis (n=8). Other cardiac malformations (3 valves anomalies, 1 foramen ovale, 1 abnormal coronary implantation, 1 case of Ebstein's disease and a false tendon between the left ventricle and the septum) could also be observed. Complex forms of cardiomyopathy with coexistence of different major sub-forms were possible with a rapid evolution towards a dilated cardiomyopathy.

As well, a huge variability of genetic situations was observed with two fetuses carrying heterozygous compound mutations in dominant adulthood cardiomyopathy genes, unique *de novo* mutations in four, a germline mosaicism in one family and codominance/digenism in 2 families. The parents were subsequently genetically tested to diagnose mutation carriers and to drive them to cardiological surveillance and to propose a genetic counseling.

Conclusion:

This study highlights the great diagnostic value of the genetic testing of severe cardiomyopathies for accurate genetic counseling, and follow- up of family members carrying mutations. A molecular prenatal diagnosis can be offered in the recessive forms.

CS86 : Les variants du moteur kinésine-2 KIF3B sont responsables d' une ciliopathie autosomique dominante

Auteurs :

Benjamin Cogné (1), Xénia Latypova (2, 3), Lokuliyana Dona Samudita Senaratne (3), Ludovic Martin (4), Daniel C. Koboldt (5), Georgios Kellaris (6), Guylène Le Meur (7), Dominique Caldari (8), Dominique Debray (9), Mathilde Nizon (10), Eirik Frengen (11), Sara J. Bowne (12), 99 Lives Consortium (13), Elizabeth L. Cadena (14), Stephen P. Daiger (12, 15), Kinga Bujakowska (16), Eric Pierce (17), Michael Gorin (18), Nicholas Katsanis (3), Stéphane Bézieau (19), Simon M. Petersen-Jones (20), Laurence Occelli (20), Leslie Lyons (13), Laurence Legeai-Mallet (21), Lori S. Sullivan (12), Erica E. Davis (3), Bertrand Isidor (19, 22)

1. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
3. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
4. Inserm U1163, Institut Imagine,, Université de Paris, Paris, France
5. The Institute for Genomic Medicine , Nationwide Children's Hospital, Columbus, Etats-Unis
6. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, France
7. Service d'Ophtalmologie, CHU Nantes, Nantes, France
8. Service de Pédiatrie, CHU Nantes, Nantes, France
9. Unité d'Hépatologie pédiatrique, Centre de référence de l'atrésie des voies biliaires et des cholestases génétiques , Hôpital NECKER, Paris, France
10. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
11. Department of Medical Genetics, Oslo University Hospital and University of Oslo, Oslo, Norvège
12. Human Genetics Center, School of Public Health, Univ. of TX Health Science Center at Houston, Houston, France
13. Department of Veterinary Medicine and Surgery, College of Veterinary Medicine, University of Missouri, Columbia, Etats-Unis
14. Ruiz Dept. of Ophthalmology and Visual Science, Univ. of TX Health Science Center at Houston, Houston, Etats-Unis
15. Ruiz Dept. of Ophthalmology and Visual Science, Univ. of TX Health Science Center at Houston, Houston, France
16. Ocular Genomics Institute, Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, Etats-Unis
17. Ocular Genomics Institute, Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, France
18. Jules Stein Eye Institute and Dept. of Ophthalmology, Univ. of California Los Angeles, Los Angeles, Etats-Unis
19. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
20. Department of Small Animal Clinical Studies, College of Veterinary Medicine, Michigan State University, East Lansing, Etats-Unis
21. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital NECKER, Paris, France
22. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France

Mots clefs : KIF3B, cil primaire, retinopathie, fibrose hépatique, kinésine, séquençage d'exome, poisson zèbre, génétique du chat

Résumé :

La kinésine-2, moteur intraflagellaire antérograde, permet l'assemblage et le fonctionnement du cil primaire en transportant des cargos protéiques du corps basal au sommet du cil. L'activité de moteur moléculaire est assurée par un complexe hétérotrimérique composé de KIF3A, KIF3B ou KIF3C, ainsi que d'une sous-unité non motrice, KIFAP3. Suite au séquençage de l'exome nous avons identifié deux variants hétérozygotes de *KIF3B* dans deux familles non apparentées, ayant des phénotypes caractéristiques de ciliopathie. Dans la première famille, le cas index présentait une fibrose hépatique congénitale, une rétinite pigmentaire et une polydactylie postaxiale. Ce patient est porteur d'un variant 748G > C, p.Glu250Gln, affectant un acide aminé conservé dans le domaine moteur de la kinésine codé par *KIF3B*. La seconde famille est une large famille avec des sujets atteints de rétinite pigmentaire, une polydactylie postaxiale ainsi qu'une insuffisance rénale ségrégeant selon un mode de transmission autosomique dominant. Les individus atteints sont porteurs du variant c.1568T > C, p.Leu523Pro hétérozygote de *KIF3B*. Nous avons mis en évidence une augmentation significative de la longueur des cils primaires dans les fibroblastes primaires chez un patient atteint, suggérant une atteinte de l'activité motrice de la kinésine-2. Enfin, nous avons évalué les effets de la surexpression de l'ARNm variant *KIF3B* dans la rétine chez la larve de poisson zèbre. Pour les deux variants non synonymes, une séquestration de la rhodopsine possiblement en lien avec un transport défectueux à travers le cil connecteur a été mise en évidence. Indépendamment, lors de l'étude des bases moléculaires d'une dégénérescence rétinienne progressive autosomique récessive chez le chat Bengale, nous avons identifié un variant de *Kif3b* ségrégeant avec la pathologie, par étude d'association pangénomique et séquençage du génome entier. La localisation anormale de la rhodopsine a également été mise en évidence dans le contexte de cette rétinite. Au total, grâce à ces données génétiques ainsi qu'aux expériences de modélisation *in vivo* et *in vitro*, nous décrivons une nouvelle ciliopathie de transmission autosomique dominante en lien avec une altération du transport antérograde ciliaire médié par la kinésine.

CS87 : Les pathologies létales du développement pulmonaire impliquant la voie TBX-FGF: un modèle d'hérédité complexe.

Auteurs :

Marie Vincent (1, 2), Justyna Karolak (3), Gail Deutsch (4), Tomasz Gambin (5), Benjamin Cogné (1, 6), Olivier Pichon (1), Heather Mefford (7), Megan Dishop (8), Thomas Besnard (1, 6), Florence Petit (9), Marie Denis-Musquer (10), Madeleine Joubert (10), Jelena Martinovic (11), Claire Beneteau (1), Arnaud Molin (12), Dominique Carles (13), Gwenaelle André (13), Eric Bieth (14), Nicolas Chassaing (14), Louise Devisme (15), Lara Chalabreysse (16), Laurent Pasquier (17), Véronique Secq (18), Chantal Missirian (19), Jérémie Mortreux (19), Damien Sanlaville (20), Linda Pons (20), Sébastien Küry (1, 2), Stéphane Bézieau (1, 2), Jean-Michel Liet (21), Nicolas Joram (21), Tiphaine Bihouée (22), Edwina Popek (23), James Lupski (3), Przemyslaw Szafranski (3), Bertrand Isidor (1, 2), Cédric Le Caignec (1), Pawel Stankiewicz (3)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Inserm, CNRS, Univ Nantes, l'institut du thorax, Nantes, France
3. Department of Molecular & Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
4. Department of Pathology, Seattle Children's Hospital, Seattle, Etats-Unis
5. Department of Medical Genetics, Institute of Mother and Child, Warsaw, Pologne
6. Inserm, CNRS, Univ Nantes, l'institut du thorax, Nantes, France
7. Department of Pediatrics, Division of Genetic Medicine, University of Washington, Washington, Etats-Unis
8. Pathology and Laboratory Medicine, Phoenix Children's Hospital, Phoenix, Etats-Unis
9. Service de Génétique Clinique, CHRU Lille, Lille, France
10. Service d'anatomo-pathologie, CHU Nantes, Nantes, France
11. Unit of Fetal Pathology, AP-HP, Antoine Beclere Hospital, Paris, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU Caen, Caen, France
13. Service d'anatomo-pathologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
14. Service de Génétique Médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France
15. Institut d'anatomo-pathologie, CHU Lille, Lille, France
16. Service d'anatomo-pathologie, CHU Lyon, Lyon, France
17. Service de Génétique Médicale, CHU Rennes, Rennes, France
18. Service d'anatomo-pathologie, Aix Marseille Univ, APhM, Hôpital Nord, Marseille, France
19. Aix Marseille Univ, APhM, INSERM, MMG, Timone Hospital, Marseille, France
20. Service de Génétique Médicale, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
21. Service de réanimation pédiatrique, CHU Nantes, Nantes, France
22. Service de maladies chroniques de l'enfant, CHU Nantes, Nantes, France
23. Department of Pathology and Immunology, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis

Mots clefs : dysplasie acineuse, dysplasie alvéolo-capillaire, développement pulmonaire, TBX4, FGF10

Résumé :

Les pathologies du développement pulmonaire sont rares et conduisent à un décès précoce du nouveau-né dans les premières heures ou semaines de vie. Trois entités sont distinguées : la dysplasie alvéolo-capillaire avec défaut d'alignement des veines pulmonaires (ACDMPV, MIM# 265380), la dysplasie acineuse (AcDys) et la dysplasie alvéolaire congénitale (CAD). L'ACDMPV a été caractérisée sur le plan moléculaire avec l'implication du gène *FOXF1*, mais les causes génétiques de l'AcDys et de la CAD étaient jusqu'alors inconnues, bien qu'une transmission autosomique récessive ait été évoquée.

Grâce à un travail collaboratif international, nous avons rassemblé une cohorte unique de 26 patients atteints de pathologies létales pulmonaires. Cette étude a permis de les caractériser sur le plan clinique, histologique et moléculaire. Les patients nous ont été adressés suite au diagnostic initial d'AcDys. Après relecture par un anatomopathologiste référent, 14 individus ont été classés « AcDys », 2 « CAD » et 10 « hypoplasie pulmonaire létale aspécifique ».

Sur le plan moléculaire, nous avons utilisé les techniques d'analyse chromosomique par puces à ADN (SNP ou CGH array), de whole exome sequencing (WES) et de whole genome sequencing (WGS).

Sept patients sont porteurs d'une délétion récurrente d'environ 2Mb, responsable du syndrome de microdélétion 17q23.1q23.2 (MIM# 613355), emportant le gène *TBX4* ; deux ont des variants rares *de novo* dans le même codon de l'exon 2 de *TBX4* ; et au sein d'une fratrie, deux ont une délétion intragénique des exons 3 et 4 retrouvée par WGS. Par ailleurs, deux patients sont porteurs de délétions chevauchantes d'environ 2Mb en 5p12, emportant le gène *FGF10* et deux autres ont un variant rare dans *FGF10*. Certaines de ces variations rares sont héritées d'un parent sain, confortant l'hypothèse initiale d'une pathologie récessive. Néanmoins dans tous les cas, il n'a pas été retrouvé de mutations délétères sur le second allèle. Les analyses de WGS chez les individus porteurs d'un variant dans *TBX4* n'ont pas révélé d'haplotype commun au locus 17q23, mais ils étaient tous porteurs d'au moins un variant non codant, non retrouvé chez les individus contrôles, et localisé au niveau des régions activatrices du gène *TBX4*. Chez la majorité des individus atteints (mutés ou non), nous avons également observé un enrichissement en variants non codants dans ces mêmes régions.

Ce travail collaboratif a permis de confirmer l'implication de la voie de signalisation TBX4-FGF10 dans le développement pulmonaire humain et pour la première fois de mettre en évidence un déterminisme génétique complexe pour ces pathologies rares et létales du développement en lien avec la présence de variants codants et non codants dans les gènes *TBX4* et *FGF10*.

CS88 : Modélisation et caractérisation des mutations ABCA3

Auteurs :

Alix de Becdelievre (1, 2), Marion Onnée (2), Stéphanie Simon (2), Adeline Henry (3), Anne Hulin (4), Claire Szczepaniak (5), Xavier Decrouy (6), Ralph Epaud (7, 2), Isabelle Callebaut (8), Pascale Fanen (1, 9)

1. Département de Génétique, AP-HP, GH Mondor-A. Chenevier, Créteil, France
2. Equipe 05, IMRB, Inserm U955, Créteil, France
3. Plateforme de Cytométrie en flux, IMRB, Inserm U955, Créteil, France
4. Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie, APHP, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
5. Centre Imagerie Cellulaire Santé, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France
6. Plateforme d'imagerie, IMRB, Inserm U955, Créteil, France
7. Service de Pédiatrie, CHI de Créteil, Créteil, France
8. UMR7590, Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie, CNRS-SorbonneUniversité, Paris, France
9. Inserm, U955, Equipe 5, IMRB, Créteil, France

Mots clefs : surfactant, ABCA3, pneumologie, test fonctionnel

Résumé :

La protéine ABCA3 est un transporteur de phospholipides indispensable à la biosynthèse du surfactant dans les corps lamellaires des cellules alvéolaires de type 2. Les pathologies liées à ABCA3 sont de transmission récessive, et couvrent un large spectre phénotypique, de la détresse respiratoire néonatale à la pneumopathie interstitielle de l'adulte.

Ce large spectre clinique s'explique en partie par les types de mutations affectant ABCA3, grossièrement classées en mutations de maturation et mutations de fonction. Toutefois, afin de mieux comprendre/prédire le phénotype, une classification plus fine est nécessaire.

Forts de notre expérience dans le domaine d'un autre ABC transporteur, CFTR, nous avons développé différents outils pour évaluer la pathogénicité des variants ABCA3 *in vitro* par expression hétérologue dans des cellules A549 (pneumocyte de type II) et HEK. Nous étudions la maturation, la localisation subcellulaire, le transport intracellulaire de doxorubicine et l'ultrastructure des corps lamellaires en microscopie électronique. Nous participons également à la modélisation *in silico* très précise de la protéine ABCA3, par comparaison notamment avec ABCA1 dont la structure a été étudiée en cryo-microscopie électronique, afin de mieux prédire l'effet des variants. Cette stratégie nous permettra de repérer les mutations faux-sens qui pourrait générer une grande variabilité phénotypique par défaut partiel d'activité et les nouveaux-nés dont le pronostic sera plus favorable.

De plus, dans un contexte où des multitudes de données de génétiques sont générées grâce au NGS, il devient important de disposer de tests accessibles, tels que nous les proposons, afin d'étudier la pathogénicité des nouveaux variants. Comprendre le mécanisme pathogène des différentes mutations ABCA3 est également un enjeu, pour pouvoir proposer une thérapie ciblée en fonction de l'anomalie, comme cela est fait pour CFTR.

CS89 : Le phénotype squelettique de l'hypochondroplasie revisité avec le modèle murin

Auteurs :

Léa Loisy (1), Davide Komla Ebri (2), Nabil Kaci (1), Morad Bensidhoum (3), Graham R Williams (2), J.H. Duncan Bassett (2), Yann Heuzé (4), Laurence Legeai-Mallet (1)

1. U1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Molecular Endocrinology Laboratory, Department of Medicine, Imperial College London, London, Royaume Uni
3. Laboratoire de Bioingénierie et Biomécanique Ostéo-Articulaires (B2OA - UMR CNRS 7052), Université Paris Diderot, Paris, France
4. CNRS, Univ. Bordeaux, MCC, PACEA, UMR5199, Pessac, France

Mots clefs : génétique, FGFR3, os, cartilage

Résumé :

L'hypochondroplasie (HCH) est un nanisme rhizomélisque, des mutations localisées dans le gène *FGFR3* (fibroblast growth factor receptor 3) sont responsables de l'HCH. La mutation faux sens la plus fréquemment retrouvée (p.Asn540Lys) est localisée dans le domaine tyrosine kinase I. Pour mieux comprendre l'impact de la mutation *FGFR3*Asn540Lys sur le développement squelettique, nous avons établi le 1er modèle murin *Hch* (*Fgfr3*^{Asn534Lys/+}). Les souris *Hch* expriment de façon ubiquitaire à l'état hétérozygote la mutation *Asn534Lys*. L'étude du phénotype squelettique de ces souris a montré une inflexion de la courbe de croissance, visible comme chez l'homme après la naissance. La taille naso-anal est réduite à partir de 1 semaine (-2%) et s'accroît dans le temps atteignant -9% à 6 mois. L'inflexion de la courbe de croissance est corrélée avec la diminution de taille des os long (ulna-15%, humerus-15%, radius-15 %, fémur-21%, tibia-25% à 6 mois).

L'analyse du squelette appendiculaire par microtomographie à rayons X (μCT) des souris adultes *Hch* montre une diminution de la densité osseuse avec une réduction du nombre et de la taille des travées dans l'os trabéculaire des fémurs et tibias. De façon surprenante, la densité osseuse de l'os cortical est augmentée chez le fémur. L'étude de la plaque de croissance des fémurs montre que les chondrocytes sont légèrement désorganisés, la prolifération n'est pas perturbée (BRDU), en revanche, la différenciation (ColX) est altérée. Ce résultat inattendu montre que la mutation Asn540Lys perturbe principalement la différenciation cellulaire.

L'analyse du squelette axial par μCT chez des souris *Hch* adultes montre une diminution de la taille des travées de l'os trabéculaire et de la densité osseuse des vertèbres. Le disque intervertébral est lui aussi affecté par la mutation *Fgfr3*, la forme, la taille et la structure sont modifiées

Enfin, nous avons analysé le squelette craniofacial des souris *Hch*, la largeur du crâne est augmentée alors que de la longueur est diminuée en comparaison avec les contrôles. Nous avons également observé à la base du crâne, une fusion prématurée des synchondroses sphéno-occipitale et inter-sphénoïdienne chez les souris *Hch*. Ces résultats ont été confirmés en histologie et immunohistologie, nous avons pu noter une diminution significative de la taille des synchondroses et du nombre de chondrocytes hypertrophiques.

L'analyse de ce modèle murin d'hypochondroplasie a permis de révéler certains aspects phénotypiques de la maladie peu ou pas étudiés. La mutation *Fgfr3* perturbe la croissance osseuse et la densité osseuse des os longs mais également les synchondroses de la base du crâne. Chez les animaux *Hch* adultes, la densité osseuse des vertèbres est diminuée et la structure du disque intervertébral est très modifiée. Cette étude montre que l'impact de la mutation gain de fonction *fgfr3* ne limitent pas qu'au cartilage de croissance.

Pièce jointe : assises2020 LeaLoisy.docx

CS90 : Syndrome TAR : caractérisation clinique et moléculaire d'une cohorte de 22 patients permettant l'identification de nouveaux variants non codants du gène RBM8A.

Auteurs :

Simon BOUSSION (1, 2), Fabienne ESCANDE (3, 1), Anne-Sophie JOURDAIN (4), Thomas SMOL (1, 5), Yves ALEMBIK (6), Tania ATTIE-BITACH (7), Geneviève BAUJAT (7), Anne BAZIN (8), Maryse BONNIERE (9), Philippe CARASSOU (10), Dominique CARLES (11), Louise DEVISME (12, 1), Cyril GOIZET (13), Alice GOLDENBERG (14), Sarah GROTTTO (15), Agnès GUICHET (16), Pierre-Simon JOUK (17), Laurence LOEUILLET (18), Charlotte MECHLER (9), Caroline MICHOT (7), Fanny PELLUARD (19, 20), Audrey PUTOUX (21), Sandra WHALEN (22), Sylvie MANOUVRIER-HANU (2, 1), Florence PETIT (2, 1)

1. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
2. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CLAD Nord Ouest, ERN-ITHACA, CHU Lille, Lille, France
3. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
4. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, Etats-Unis
5. Institut de Génétique Médicale, CHU Lille, Lille, France
6. Service de génétique médicale, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
7. Département de Génétique, Hôpital Necker - Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
8. Service de Diagnostic Anténatal, Hôpital René Dubois, Pontoise, France
9. Département d'Histologie Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Necker - Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
10. Service d'Hématologie, CHR Metz-Thionville, Metz, France
11. Service d'Anatomo-Pathologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
12. Institut de Pathologie, CHU Lille, Lille, France
13. Service de génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
14. Service de génétique médicale, CHU Rouen, Rouen, France
15. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France
16. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France
17. Département de Génétique, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France
18. Service d'Anatomo-Cytopathologie, Hôpital Cochin - APHP, Paris, France
19. Unité de Foetopathologie, Service de pathologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
20. INSERM U1053-UMR BaRITOn, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
21. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
22. Service de Génétique Clinique, Hôpital Armand Trousseau, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : syndrome TAR, RBM8A, variants de signification indéterminée, éléments régulateurs

Résumé :

Le syndrome TAR (*Thrombocytopenia Absent Radius*, MIM#274000) est une pathologie malformative due à la présence de variants pathogènes bi-alléliques dans le gène *RBM8A* (MIM#605313), situé en 1q21.1. Sa prévalence est comprise entre 1/10000 et 1/200000. Sur le plan clinique, il est caractérisé principalement par une aplasie radiale bilatérale avec conservation constante des pouces et une thrombocytopénie néonatale. Le gène *RBM8A* code la protéine Y14, qui appartient à l'*Exon Junction Complex*, un complexe protéique intervenant dans de nombreuses étapes de la maturation des ARN messagers : régulation de l'épissage, export des transcrits vers le cytoplasme, recrutement du système NMD... L'hérédité du syndrome TAR suit le mode autosomique récessif mais nécessite la présence d'un allèle nul (délétion 1q21.1 dans la très grande majorité des cas ou rares variants tronquants), associé *en trans* à un allèle hypomorphe. A ce jour, seuls deux allèles hypomorphes, situés dans des régions non-codantes de *RBM8A*, sont connus.

Nous rapportons ici une cohorte de 22 patients présentant un tableau clinique de syndrome TAR et ayant bénéficié d'une analyse moléculaire du gène *RBM8A*. Douze de ces patients (55%) sont porteurs de la délétion 1q21.1 associée *en trans* à l'un ou l'autre des deux variants hypomorphes connus. Quatre variants de signification indéterminée (VSI) situés dans les régions non codantes ont été identifiés chez les 10 autres patients, et ont fait l'objet d'analyses fonctionnelles. Deux variants localisés en 5'UTR et 3'UTR sont responsables *in vitro* d'une diminution d'expression du gène rapporteur tandis que deux variants introniques sont responsables d'une altération de l'épissage.

En conclusion, nous avons mis au point des modèles expérimentaux permettant de caractériser *in vitro* des VSI des régions non codantes de *RBM8A*. A partir d'une série de patients, nous avons identifié et caractérisé fonctionnellement 2 nouveaux allèles nuls et 2 nouveaux allèles hypomorphes responsables de syndrome TAR. Ces résultats apportent de nouvelles connaissances moléculaires dans cette affection rare et permettent de préciser le conseil génétique aux familles.

CS91 : Caractérisation clinique et moléculaires d'une cohorte de 362 patients présentant un syndrome des mains et pieds fendus

Auteurs :

Perrine Brunelle (1, 2), Anne-Sophie Jourdain (1, 2), Florence Petit (3, 2), Muriel Holder (4), Laurence Olivier-Faivre (5), Valérie Cormier-Daire (6, 7), Sylvie Odent (8), Alain Verloes (9), David Geneviève (10), Nicole Philip (11), Charles-Patrick Edery (12), Annick Toutain (13), Tania Attie-Bitach (14), Albert David (15), Anne-Marie Guerrot (16), Bertrand Isidor (17), Didier Lacombe (18), Pierre-Simon Jouk (19), Laurent Pasquier (8), Fabienne Escande (1, 2), Sylvie Manouvrier-Hanu (20, 2)

1. Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Secteur Malformation des membres, Centre de Biologie et Pathologie, CHU de Lille, Lille, France
2. EA7364-RADEME, Université de Lille, Lille, France
3. Clinique de Génétique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU de Lille, Lille, France
4. Clinicals Genetics Service, Guy's Hospital, London, Royaume Uni
5. Centre de Génétique, Hôpital d'enfants, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Service de Génétique Médicale et Clinique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
7. Centre de Référence MOC, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
8. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
9. UF de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
10. Maladies Génétiques de l'Enfant et de l'Adulte, CHU de Montpellier, Montpellier, France
11. Unité de Génétique Clinique, CHU de Marseille Hôpital la Timone, Marseille, France
12. Service de Génétique, CHU de Lyon HCL, Bron, France
13. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
14. Service d'Histologie - Embryologie - Cytogénétique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
15. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
16. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
17. Service de Génétique Médicale et Clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
18. Service de Génétique Médicale et Clinique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
19. Unité de Génétique Clinique, CHU de Grenoble Site Nord, Grenoble, France
20. Clinique de Génétique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU de Lille, LILLE, France

Mots clefs : Mains et pieds fendus, ectrodactylies, séquençage haut débit, panel ciblé, TP63, duplication 10q24, duplication BHLHA9

Résumé :

Le syndrome des mains et pieds fendus (SHFM, split hand/foot malformation ou ectrodactylie) est une malformation rare touchant les rayons centraux des extrémités. Elle est caractérisée par une grande variabilité clinique (atteinte d'une ou plusieurs extrémités, sévérité variable, depuis la syndactylie des rayons externes jusqu'à la monodactylie, syndromique ou non) et une grande hétérogénéité génétique (plus de 7 *loci*/gènes décrits, divers mécanismes et modes de transmission). Notamment, les SHFM peuvent être liées à des remaniements génomiques, des variations ponctuelles et des remaniements équilibrés perturbant les interactions entre gènes et éléments régulateurs. Ainsi, malgré les récents progrès techniques, aucune analyse unique ne permet actuellement d'explorer les différentes causes moléculaires de SHFM ; il reste donc important de pouvoir orienter les investigations en fonction d'une hypothèse clinique. L'objectif de ce travail était, à partir de l'analyse de la plus grande cohorte de patients atteints de SHFM jamais décrite à notre connaissance, de préciser les corrélations génotype-phénotype afin d'aboutir à une proposition de chemin diagnostique, orientant les investigations moléculaires. Nous avons étudié rétrospectivement une cohorte de 362 cas de SHFM sur les plans clinique et moléculaire. La cause a pu être identifiée chez 47% d'entre eux. Il s'agissait le plus souvent de duplications 10q24 (17%) ou de variations ponctuelles du gène *TP63* (14%), avec, cependant, des différences selon que les SHFM étaient isolées ou s'intégraient dans un cadre syndromique, selon l'association ou non à une atteinte des os longs et selon le nombre d'extrémités affectées. Cette étude confirme aussi certaines associations (monodactylies et duplications 10q24 ($p < 0,0001$), dysplasies ectodermiques, fentes labio-palatines et anomalies de *TP63* ($p < 0,0001$)). Elle a également permis de pointer certaines associations encore non décrites à notre connaissance, telles que l'atteinte préférentielle des membres inférieurs dans les SHFM de type 1, ou encore de remettre en cause certaines pratiques usuelles diagnostiques, telles que la limitation des analyses à la recherche de la duplication du gène *BHLHA9* en cas de SHFM n'affectant qu'une seule extrémité. Nous concluons ce travail par la proposition d'un chemin diagnostique devant une SHFM.

Pièce jointe : résumé Assises SHFM.docx

CS92 : Histoire naturelle et corrélation génotype-phénotype des dysplasies acromicrique et gélophysique

Auteurs :

Pauline Marzin (1, 2), Briac Thierry (3, 4), Andrea Dancasius (1, 2), Caroline Michot (1, 2), Sophie Rondeau (1, 2), Genevieve Baujat (1, 2), Gilles Phan (5), Muriel Le Bourgeois (6), Diala Khraiche (7), Damien Bonnet (7), Christophe Delacourt (6), Valerie Cormier-Daire (1, 2)

1. Fédération de Génétique et Institut Imagine, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, F-75015 Paris, France, Paris, France
2. Université de Paris, UMR1163, INSERM, F-75 015, Paris, France, Paris, France
3. Service d'ORL pédiatrique, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, F-75015 Paris, France, Paris, France
4. Université de Paris, UMR976, INSERM, F-75 010, Paris, France, Paris, France
5. Université de Paris, CiTCoM (Cibles Thérapeutiques et Conception de Médicaments), UMR8038, CNRS, , Faculté de Pharmacie, 4 Avenue de l'Observatoire, F-75006 Paris, France, Paris, France
6. Service de Pneumologie et Allergologie Pédiatriques, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, F-75015 Paris, France, Paris, France
7. Unité Médico-Chirurgicale de Cardiologie Congénital et Pédiatrique, , AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, F-75015 Paris, France, Paris, France

Mots clefs : Dysplasie acromicrique ; Dysplasie gélophysique ; réseau microfibrillaire ; TGF-beta ; valvulopathie, Syndrome interstitiel, Voies respiratoires

Résumé :

Introduction : La dysplasie gélophysique (DG) et la dysplasie acromicrique (DA) font partie des dysplasies acroméliques. Ces entités cliniques partagent des caractéristiques communes dont un retard de croissance sévère, des extrémités brèves et un enraidissement articulaire progressif. La DG se manifeste par des atteintes cardiorespiratoires responsables d'un pronostic défavorable. Des mutations dominantes dans les gènes *FBN1* et *LTPB3* sont associées à la DA et à la DG tandis que des mutations dans *ADAMTSL2* sont responsables d'une forme récessive de DG. Ces trois gènes codent pour des protéines du réseau microfibrillaire, réservoir du facteur de croissance TGF-beta.

Objectif : Description de l'histoire naturelle de la DG et la DA afin de mettre en place une prise en charge spécifique et d'établir des corrélations génotype-phénotype.

Matériels et méthodes : Etude rétrospective monocentrique. Critères d'inclusion : diagnostic moléculaire de DG ou de DA. Le recueil de données a été fait à partir des dossiers médicaux par un questionnaire systématisé. Les patients ont bénéficié d'un bilan systématique avec échocardiographie, explorations fonctionnelles respiratoires, scanner thoracique, consultation ORL, consultation ophtalmologique et IRM cérébrale à l'hôpital Necker-Enfant Malades (Paris) quand cela était possible.

Résultats : 38 patients d'une moyenne d'âge de 17 ans (1 mois à 71 ans) ont été inclus dont 20 DG et 18 DA. Parmi eux, 23 avaient une mutation dans *FBN1* (8DG, 15DA), 12 dans *ADAMTSL2* (10DG, 2DA) et 3 dans *LTPB3* (2DG, 1DA). Neuf patients étaient décédés. 45% des patients présentaient une valvulopathie, évolutive dans la moitié des cas. En cas de valvulopathie mitrale sévère, les patients présentaient un syndrome restrictif avec hypertension pulmonaire. Un tiers des patients avait un syndrome restrictif sans valvulopathie associée. Quatre patients ont présenté des épisodes de décompensations respiratoires mal compris, déclenchés par des événements infectieux ou un stress mécanique, compliqués d'hypertension pulmonaire et associé à un pronostic défavorable. Par ailleurs, 18% des patients avaient une atteinte des voies respiratoires qui avait la caractéristique rare d'être évolutive. Les patients présentant un phénotype cardiorespiratoire sévère (dysplasie gélophysique) sont porteurs soit de mutations d'*ADAMTSL2* soit d'une mutation de *FBN1* impliquant un résidu cystéine.

Discussion et conclusion : Les patients gélophysiques (*ADAMTSL2* ou *FBN1* impliquant un résidu Cysteine) ont une susceptibilité cardiorespiratoire accrue mettant en jeu le pronostic vital. Ces atteintes sont pour la plupart évolutives et semblent déclenchées ou aggravées par des facteurs extérieurs. Le gène muté et/ou le type de mutations permet de prédire l'évolution de ces dysplasies, permettant d'adapter le suivi des patients dans le cadre d'une médecine personnalisée.

Pièce jointe : Abstract assises_acromelique_final.docx

CS93 : Inactivation bi allélique du gène NF1 dans la pseudarthrose congénitale de la jambe chez les patients atteints de neurofibromatose de type 1

Auteurs :

Béatrice PARFAIT (1, 2), Simon PERRIN (3), Ingrid LAURENDEAU (1), Oriane DUCHAMP DE LAGENESTE (3), Laurence PACOT (1, 2), Stéphanie PANNIER (4), Philippe WICART (4), Smail HADJ-RABIA (5), Michel VIDAUD (1, 2), Eric PASMANT (1, 2), Dominique VIDAUD (1, 2), Céline COLNOT (3)

1. , INSERM UMR S1016, Institut Cochin & Université de Paris, PARIS, France
2. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, AP-HP. Centre – Université de Paris, PARIS, France
3. , INSERM UMR1163, Institut Imagine & Université de Paris, PARIS, France
4. Service Chirurgie Orthopédique et Traumatologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP. Centre – Université de Paris, PARIS, France
5. Service de Dermatologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP. Centre – Université de Paris, PARIS, France

Mots clefs : Neurofibromatose de type 1, NF1, Pseudarthrose congénitale du tibia

Résumé :

La NF1 est l'une des maladies génétiques à transmission autosomique dominante les plus fréquentes chez l'homme avec une prévalence estimée à 1/3500 naissances. Elle résulte de la perte de fonction du gène suppresseur de tumeur *NF1* codant la neurofibromine, régulateur négatif de la voie RAS-MAPK. La NF1 est caractérisée essentiellement par la présence d'atteintes dermatologiques telles que des taches café au lait et des neurofibromes. En accord avec le modèle de Knudson, les tumeurs observées dans la NF1 se développent quand une mutation somatique inactive l'allèle sauvage du gène *NF1* au sein des cellules de Schwann, aboutissant à la perte fonctionnelle totale de la neurofibromine et ainsi à l'hyperactivation des protéines RAS responsables entre autres de la prolifération cellulaire. Des altérations osseuses telles que des scolioses et des dysplasies osseuses sont également observées dans cette maladie sans que les conséquences des mutations du gène *NF1* dans ces atteintes ne soient clairement établies. Dans 5% des cas les patients présentent une pseudarthrose, généralement congénitale, des os longs et plus particulièrement du tibia. La pseudarthrose congénitale de la jambe (PCJ) est une condition orthopédique pédiatrique sévère diagnostiquée dans plus de 50% des cas chez des patients NF1. La PCJ est caractérisée par des déformations et des fragilités osseuses conduisant à des fractures spontanées associées à une absence de régénération. Plusieurs interventions sont souvent nécessaires avec un risque d'amputation possible après plusieurs récidives.

Nous avons réalisé l'étude moléculaire du gène *NF1* dans le sang, la peau, le muscle et dans différents tissus osseux, normaux et pathologiques de patients atteints ou non de NF1. Les échantillons ont été prélevés au cours des chirurgies réalisées dans l'objectif de corriger la pseudarthrose dans le Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologie Pédiatrique de l'hôpital Necker Enfants Malades. A l'image de l'hypothèse de Knudson dans les cellules tumorales, nous montrons que l'inactivation bi-allélique du gène *NF1* est présente dans le tissu pseudarthrosique ainsi que dans le périoste et les cellules dérivées de ce tissu connu pour ses rôles dans l'ostéogénèse au niveau du développement et au niveau post-natal lors de la réparation. Les premiers tests de différenciation *in vitro* montrent des défauts de minéralisation pour les cellules du périoste du site de pseudarthrose. Ces défauts ne sont pas observés au niveau des cellules souches de la moelle provenant des mêmes patients, suggérant que cette déficience est spécifique des cellules du périoste. La caractérisation fine du lignage cellulaire concerné par l'inactivation bi-allélique du gène *NF1* reste à définir. Complétés par l'étude de la réparation osseuse dans des modèles murins, nos travaux visent à comprendre le rôle du gène *NF1* dans la physiopathologie de la PCJ pour envisager de nouvelles approches thérapeutiques pharmacologiques ou cellulaires.

CS94 : Identification de modules d'autorégulation de *LMX1B* spécifiques du membre dont l'altération est responsable de syndrome Nail-Patella

Auteurs :

Endika HARO (1, 2), Florence PETIT (3, 4), Charmaine PIRA (1), Conor SPADY (1), Lauren IVEY (1), Austin GRAY (1), Fabienne ESCANDE (5, 4), Anne-Sophie JOURDAIN (6), Andy NGUYEN (1), Florence FELLMANN (7), Jean-Marc GOOD (7), Christine FRANCANET (8), Sylvie MANOUVRIER-HANU (3, 4), Marian ROS (2), Kerby OBERG (1)

1. Department of Pathology and Human Anatomy, Loma Linda University School of Medicine, Loma Linda, Etats-Unis
2. Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, Universidad de Cantabria, Santander, Espagne
3. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CLAD Nord Ouest, ERN-ITHACA, CHU Lille, Lille, France
4. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
5. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
6. EA 7364 RADEME, Université de Lille, Lille, Etats-Unis
7. Service de Médecine Génétique, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse
8. Service de génétique médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : développement du membre, dorsalisation du membre, autorégulation, syndrome Nail-Patella, *LMX1B*

Résumé :

Le syndrome Nail Patella (NPS, MIM 161200) est une affection autosomique dominante caractérisée par une dysplasie unguéale, une hypo/aplasie patellaire, une néphropathie glomérulaire et un glaucome. Une anomalie moléculaire de *LMX1B* responsable d'haploinsuffisance est identifiée chez près de 90% des patients. Chez la souris, *Lmx1b* joue un rôle crucial dans le développement du membre, rénal et oculaire. Les modèles murins knock-out pour *Lmx1b* présentent un phénotype double-ventral des membres, associé à des anomalies rénales, oculaires et du cervelet. Nous décrivons deux éléments non codants conservés constituant des modules d'autorégulation de *Lmx1b* (*Lmx1b*-associated *cis*-regulatory modules, *LARM1* et *LARM2*). *Lmx1b* se fixe directement sur ces éléments pour amplifier son expression dans le membre, ces modules étant nécessaires à la dorsalisation. Leur invalidation chez la souris est responsable d'anomalies squelettiques isolées. L'étude des *LARMs* chez 11 familles de syndrome Nail-Patella sans anomalie de *LMX1B* a permis d'identifier d'une part une délétion hétérozygote, et d'autre part un variant rare homozygote de *LARM2*. Les anomalies moléculaires identifiées sont responsables d'une perte de l'activité de *LARM2*. Nous démontrons que dans ces deux familles, la perte de fonction d'un module d'autorégulation de *LMX1B* est responsable d'un syndrome Nail-Patella avec une atteinte isolée des membres, de transmission autosomique dominante ou récessive. Il s'agit d'un nouvel exemple d'affection malformative liée à l'anomalie d'un élément régulateur, confirmant l'implication particulière de ce mécanisme moléculaire dans les malformations isolées des membres.

FL01 : Identification par séquençage d'exomes des premiers déterminants génétiques de la sirénomélie chez l'homme**Auteurs :**

François Lecoquierre (1), Anne-Claire Brehin (2), Sophie Coutant (3), Juliette Coursimault (1), Claire Beneteau (4), Mirjam De Jong (5), Christine Francannet (6), Gérard Gérard (7), Hubert Journal (8), Valérie Layet (9), Alain Liquier (10), Florence Petit (11), Conny van Ravenswaaij-Arts (5), Thierry Frebourg (3), Pascale Saugier-Verber (3), Nicolas Gruchy (12), Gaël Nicolas (3), Marion Gerard (12)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Département de Génétique, Département de Foetopathologie, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
3. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Département de Génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU Hôpital mère et enfant, Nantes, France
5. Service de Génétique, University of Groningen, University Medical Centre Groningen, Groningen, Pays-Bas
6. Service de génétique médicale, Centre de référence des anomalies malformatives, Centre d'Etude des Malformations Congénitales, CEMC-Auvergne, CHU Clermont-Ferrand, 63003 Clermont-Ferrand Cedex, Clermont-Ferrand, France
7. Service de Génétique, CHU de Strasbourg, Hôpital Civil, Strasbourg, France
8. Service de Génétique Clinique, CH Vannes, Vannes, France
9. Service de Génétique Clinique, Hôpital Monod, Le Havre, France
10. CPDPN, Hôpital Bagatelle, Talence, France
11. Clinique de Génétique "Guy Fontaine" - Centre de référence CLAD, CHU Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, F-59000 Lille, Lille, France
12. Service de Génétique, Caen University Hospital, F 14000, Normandy Center for Genomic and Personalized Medicine, Caen, France

Mots clefs : sirénomélie, sirenornelia, anomalies du développement, malformations, exome

Résumé :

Introduction : La sirénomélie est un syndrome malformatif fœtal rare de cause inconnue, caractérisé par la présence d'un membre inférieur unique associé à des malformations viscérales habituellement incompatibles avec une survie ex-utero. Nous avons fait l'hypothèse que, comme dans une fraction importante des maladies du développement, des variations génétiques rares à effet fort pourraient participer au déterminisme de cette maladie, avec en premier lieu un rôle des mutations de novo. Nous présentons la description clinique et les résultats génomiques d'une série internationale de sept cas de sirénomélies sporadiques et de deux cas d'agrégations familiales autosomiques dominantes de sirénomélies et d'autres malformations caudales.

Méthodes : Un séquençage de l'exome en trio a été réalisé dans les sept formes sporadiques, et l'analyse des données a été concentrée sur les mutations de novo. L'analyse dans les deux formes familiales, également basée sur le séquençage de l'exome chez plusieurs individus, a été réalisée en accord avec un modèle autosomique dominant.

Résultats : L'analyse des formes familiales a montré la présence d'un variant non synonyme, absent des bases de données contrôles, du même gène A* dans les deux familles, avec une co-ségrégation du variant avec le phénotype. Ce gène est un acteur majeur du développement embryonnaire du pôle caudal, et la délétion hétérozygote de ce gène constitue l'un des modèles murins de sirénomélie. Par ailleurs, une des deux mutations identifiées a été associée récemment à un phénotype proche de malformations du pôle caudal chez l'homme. L'analyse des sept cas sporadiques n'a pas permis d'identifier de gènes touchés par des mutations de novo de manière récurrente, mais a mis en évidence plusieurs gènes candidats, incluant le gène B*, régulateur de la voie wnt canonique, drastiquement sensible aux variations mutations perte de fonction, et cible d'une altération tronquante survenue *de novo* chez l'un des cas sporadiques.

Conclusion : Nous apportons les premiers résultats en faveur d'une étiologie génétique de la sirénomélie humaine. Nous identifions le gène A comme étant associé à une prédisposition autosomique dominante à diverses malformations caudales, comprenant sirénomélie, agénésies urinaires partielles ou complètes, anomalies ano-rectales et anomalies des organes génitaux. Par ailleurs, nous proposons l'implication du gène B comme gène candidat dans la sirénomélie. Au total, notre étude met en évidence un degré élevé d'hétérogénéité génétique dans la sirénomélie humaine et souligne le rôle de deux voies de signalisation dans le développement de cette maladie rare.

*Le nom des gènes sera donné lors du congrès

FL02 : Phénotype clinique lié aux variations du gène *BRWD3* : description de 15 nouveaux patients et revue de la littérature pour faciliter le phénotypage inverse lors d'approches « génotype first »**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), Natalie LIPPA (8), Caroline NAVA (9), Delphine HERON (9), Boris KEREN (9), Sonal MAHIDA (10), Sakkubai NAIDU (10), Dusica BABOVIC-VUKSANOVIC (11), Anne HERKERT (12), Evelise RIBERI (13), Diana CARLI (13), Giovanni Battista FERERRO (13), Pernille TOERRING (14), Maria KIBAEK (15), Isabelle DE BIE (16), Rolph PFUNDT (17), Yvonne HENDRIKS (17), Lilian Bomme OUSAGER (14), Renee BEND (18), Hannah WARREN (18), Steve SKINNER (18), Charlotte POE (19, 20), Martin CHEVARIN (19, 20), Thibaud JOUAN (20, 19), Julien THEVENON (1, 19), Paul KUENTZ (21, 19), Emilie TISSERANT (19, 20), Yanis DUFFOURD (19, 20), Christophe PHILIPPE (20, 19), Laurence FAIVRE (1, 20), Christel THAUVIN-ROBINET (20, 19)

1. Centre de génétique - Centre de référence des maladies rares, anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
2. Laboratoire de Génétique chromosomique et moléculaire, UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
3. Center for individualized Medicine, Mayo Clinic, Jacksonville, Etats-Unis
4. Center for individualized medicine, Mayo Clinic, Jacksonville, Etats-Unis
5. Department 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. Département de medical genetics, Mayo Clinic, Rochester, Etats-Unis
12. University Medical Center Groningen, Department of Genetics, University of Groningen, GRONINGEN, Pays-Bas
13. Department of Public Health and Pediatrics, University of Torino, Turin, Italie
14. Department of Clinical Genetics, Odense University Hospital, Odense, Danemark
15. H.C. Andersen Children Hospital, Odense University Hospital, Odense, Danemark
16. Division of Medical Genetics, McGill University Health Centre, Montreal, Canada
17. Department of Clinical Genetics, Amsterdam University Medical Centers, Amsterdam, Pays-Bas
18. Greenwood Genetic Center, Greenwood hospital, Greenwood, Etats-Unis
19. Laboratoire de Génétique chromosomique et moléculaire, UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
20. UMR-Inserm 1231 GAD team, Génétique des Anomalies du développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
21. Génétique biologique Histologie, Biologie du développement et de la reproduction, CHRU Hôpital Jean Minjoz, Besançon, France

Mots clefs : BRWD3, genotype first, reverse phenotyping, description phénotypique

Résumé :

Introduction : Depuis 2007 et la première description du phénotype lié aux variations du gène *BRWD3* localisé en Xq21.1, seulement 9 autres familles ont été décrites. Avec si peu de description et plus 1.000 gènes actuellement impliqués dans des manifestations (souvent rares voire ultra-rares) de déficience intellectuelle, les cliniciens ne peuvent plus, de manière réaliste, reconnaître tous les phénotypes associés à ces gènes. Nous décrivons les particularités cliniques liées à des mutations du gène *BRWD3* afin de faciliter le phénotypage inverse lors d'approches axées sur le génotype dites « génotype first ».

Méthodes : Grâce au séquençage d'exome et aux systèmes internationaux de partage de données, nous avons constitué une cohorte de 15 patients porteurs d'une variation pathogène du gène *BRWD3* (13 hommes et 2 femmes dont une avec une inactivation biaisée du chromosome X (100%/0%)). Après revue des 14 patients de la littérature, nous décrivons le phénotype de 29 patients (27 hommes et 2 femmes), en lien avec 22 variations différentes du gène *BRWD3*.

Résultats : Le phénotype des hommes atteints (excepté un patient avec variant en mosaïque) se caractérise par une déficience intellectuelle (24/26), une macrocéphalie (22/26), une dysmorphie faciale (22/26) incluant front bombant (18/26), grandes oreilles (13/26), macrognathie avec menton pointu (12/26) donnant un aspect triangulaire du visage, des doigts et/ou orteils larges (10/26) et des troubles du comportement (16/26). Les deux femmes présentent une macrocéphalie, un retard de langage et une épilepsie qui n'est retrouvée que chez 15% des hommes (4/26). Parmi les 22 différentes variations rapportées, 15 sont héritées d'une mère non atteinte et 6 survenues *de novo* (dont les 2 femmes et l'homme avec la variation en mosaïque). Pour un homme, la ségrégation reste inconnue.

Discussion : Le retard de langage, la déficience intellectuelle, la macrocéphalie et la dysmorphie faciale incluant front proéminent, faciès allongé, et oreilles larges et décollées apparaissent comme les éléments cliniques principaux permettant de décrire le phénotype lié aux variations du gène *BRWD3*. Le phénotype aspécifique lié aux variations de ce gène peut donc être difficile à reconnaître précisément pour les cliniciens. Une approche « génotype-first » paraît donc très adaptée au diagnostic du phénotype lié aux variations de *BRWD3*. Notre description clinique précise de ce phénotype pourra servir de référence pour le « phénotypage inverse ».

FL03 : Les variations hétérozygotes du codon d'initiation du gène codant le facteur de régulation d'épissage PTBP1 sont responsable d'un nouveau syndrome polymalformatif associé à une déficience intellectuelle variable**Auteurs :**

Antonio Vitobello (1, 2), Julian Delanne (3), Emilie Tisserant (2), Frédéric Tran Mau-Them (1, 2), Rolph Pfundt (4), David Koolen (4), Carlo Marcelis (4), Stephen Robertson (5), Gemma Poke (6), Hui Peng (7), Lynne Bird (8), Beth Hudson (9), Reem Saadeh-Haddad (10), Marya W. Wessels (11), Aryan Bouman (11), Michelle L. Thompson (12), Anna C.E. Hurst (13), Catherine Gooch (13), Laurence Duplomb (2), Sylvie Nguyen (2), Thibaud Jouan (2), Ange-Line Bruel (2, 1), Anne-Sophie Denommé-Pichon (14), Yannis Duffourd (2), Christophe Philippe (1, 15), Christel Thauvin-Robinet (16, 17), Laurence Faivre (17, 16)

1. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
2. UMR1231 GAD, Inserm, Dijon, France
3. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du Développement et syndrome malformatifs » de l'Est et Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, FHU TRANSAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-Bas
5. Department of Women's and Children's Health, Dunedin School of Medicine- University of Otago, Dunedin , Nouvelle-Zélande
6. , School of Medicine - University of Otago, Wellington, Nouvelle-Zélande
7. , School of Medicine - University of Otago, Dunedin, Nouvelle-Zélande
8. , Rady Children's Hospital - University of San Diego, San Diego, Etats-Unis
9. , GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
10. Department of Pediatrics, Medstar Georgetown University Hospital, Washington, Etats-Unis
11. , Erasmus MC - University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, Pays-Bas
12. , HudsonAlpha Institute for Biotechnology, Huntsville, Etats-Unis
13. , University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Etats-Unis
14. UMR1231 GAD, CHU Dijon Bourgogne, dijon, France
15. UMR1231 GAD, Inserm, Dijone, France
16. UMR1231 GAD, INSERM, Dijon, France
17. Centre de Référence maladies rares , Hôpital d'Enfants, FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : épissage, exome, syndrome polymalformatif, DI variable

Résumé :

Introduction : Les mécanismes responsables de la régulation de l'expression des gènes se composent de plusieurs acteurs agissant au niveau pré- et post-transcriptionnel et ayant comme but de réguler, de façon temporelle, quantitative et qualitative l'isoforme de l'ARN nécessaire au bon développement de chaque type cellulaire, tissu et organe. Les protéines de la famille des « polypirimidine tract binding proteins » (PTBPs) sont responsables de la régulation post-transcriptionnelle de l'expression de certaines isoformes d'ARNm grâce à leur capacité à reconnaître les pré-ARNm et d'opérer l'épissage alternatif de certains exons de façon spécifique.

Des études précédentes ont montré que le facteur ubiquitaire PTBP1 est responsable de l'épissage de l'exon 18 du gène *PSD-95*. Il provoque la dégradation de l'ARNm de PSD-95 pendant la phase de différenciation des progéniteurs neuronaux, empêchant ainsi l'expression prématurée de cette protéine indispensable pour la maturation des éléments synaptiques.

Méthode et résultats : L'analyse en trio de l'exome d'un premier patient atteint d'un syndrome polymalformatif a permis d'identifier une variation hétérozygote *de novo* du codon d'initiation (NM_002819.4:c.2T > C) du gène codant le facteur de régulation d'épissage PTBP1. Ce patient présentait un syndrome polymalformatif associant des particularités morphologiques, une petite taille disproportionnée, une brachydactylie, une hyperlaxité des extrémités et une déficience intellectuelle modérée. Grâce au partage international des données de séquençage (approche « génotype-first »), nous avons pu identifier 8 patients supplémentaires, tous porteurs d'une variation *de novo* touchant la première méthionine (2x c.1A > G, 5x c.2T > C et 1x c.3G > A). Les patients (5 femmes et 3 hommes) présentent tous des particularités morphologiques ainsi qu'une petite taille et des anomalies des extrémités. Le profil cognitif s'avère très variable, allant d'un développement normal à une déficience intellectuelle modérée comme notre première patiente. Nos études fonctionnelles montrent que la perte du codon d'initiation de la traduction de *PTBP1* entraîne la formation d'une protéine plus courte, qui manque du signal d'importation nucléaire, et des anomalies d'épissage identifiées grâce au RNAseq.

Conclusions et perspectives : Le séquençage d'exome en trio et partage de données à l'international ont permis de mieux définir le phénotype clinique associé à ce hotspot mutationnel. Des études complémentaires impliquant la dérivation de neurones, à partir des cellules « iPSC » des patients, nous permettront d'élucider les mécanismes moléculaires à l'origine de la variabilité cognitive de ces patients.

FL04 : Une mutation non-sens du gène WDR91 homozygote responsable d'une forme sévère de syndrome 3C**Auteurs :**

Nicolas BOURGON (1, 2), Mathilde LEFEBVRE (3), Ange-Line BRUEL (2), Julien THEVENON (4, 2), Jean-Baptiste RIVIERE (2), Charlotte POE (2), Martin CHEVARIN (2), Thibaud JOUAN (2), Yannis DUFFOURD (2), Laurence FAIVRE (4, 2), Christel THAUVIN-ROBINET (4, 2)

1. Diagnostic anténatal et médecine foetale, CHU Dijon, DIJON, France
2. Génétique des Anomalies du Développement, INSERM UMR 1231 - Université de Bourgogne, DIJON, France
3. Foetopathologie, Hôpital Armand Trousseau, PARIS, France
4. Centre de Génétique, CHU Dijon, DIJON, France

Mots clefs : diagnostic prénatal, syndrome 3C, exome sequencing, WDR91

Résumé :

Introduction : Le syndrome 3C est un syndrome polymalformatif associant des anomalies craniofaciales (occiput et front proéminent, hypertélorisme, colobome oculaire, fente palatine), cardiaques (tétralogie de Fallot, communication atrioventriculaire) et cérébrales (malformation de Dandy-Walker, hypoplasie cérébrale du vermis). Ce syndrome de transmission récessive autosomique présente une hétérogénéité phénotypique et moléculaire avec des mutations pathogènes rapportées dans les gènes *WSHC5* (MIM #220210) et *CCDC22* (MIM #300963). Cependant, certains cas de syndrome 3C demeurent actuellement sans base moléculaire identifiée.

Patients et Méthodes : Nous rapportons 4 fœtus atteints de syndrome 3C issus d'une même union consanguine. Le premier fœtus présente un hygroma colli avec syndrome de Bonnevie-Ullrich et hydrocéphalie. L'autopsie a mis en évidence une hypoplasie cérébelleuse, une hydrocéphalie tétra-ventriculaire sévère avec macrocéphalie, une dysmorphie faciale (front proéminent et hypertélorisme) et une communication inter-ventriculaire. Le séquençage ciblé du gène *MID1* s'est avéré normal. Trois cas de récurrence ont été suspectés devant la présence d'un syndrome de Bonnevie-Ullrich au premier trimestre associé à des anomalies cérébrales conduisant à des interruptions de grossesse. Le couple a obtenu spontanément trois enfants en bonne santé. Nous avons réalisé un séquençage d'exome (ES) en solo chez le premier fœtus.

Résultats : L'ES a identifié une variation non-sens du gène *WDR91* (NM_014149.3:c.240C > G, p.Tyr80*) à l'état homozygote. La ségrégation familiale réalisée par séquençage Sanger a confirmé la variation, présente à l'état homozygote chez tous les fœtus atteints et à l'état hétérozygote chez les deux parents, ainsi que deux enfants indemnes et absente chez le 3^{ème} enfant indemne. Le partage de données international et le séquençage ciblé d'une petite cohorte de patients atteints de syndrome 3C n'a jusqu'à présent pas permis d'identifier d'autres patients porteurs de variations pathogènes du gène *WDR91*.

Discussion : *WDR91* code une protéine impliquée dans la voie endosome-lysosome, s'exprimant notamment dans les neurones du cerveau et du cervelet. Les souris KO *Wdr91*^{-/-} présentent des anomalies cérébrales (microcéphalie, atrophie corticale, réduction de l'arborisation neuronale, réduction de la longueur dendritique). *WDR91* et la voie endosome-lysosome semblent être indispensables, notamment au développement neuronal et à l'établissement de structures cérébrales.

Conclusion : L'identification d'une variation tronquante homozygote du gène *WDR91* chez plusieurs fœtus atteints de syndrome 3C au sein d'une famille consanguine et l'atteinte phénotype semblable du modèle murin KO suggèrent qu'il s'agit d'un nouveau gène responsable de ce syndrome. L'identification de nouveaux cas similaires permettraient de conclure avec certitude sur l'implication du gène *WDR91* dans une forme sévère de syndrome 3C.

FL05 : IQCE : un gène responsable de polydactylie post axiale isolée chez l'Homme et d'un spectre clinique complet de ciliopathie chez le poisson-zèbre**Auteurs :**

Clarisse Delvallée (1), Alejandro Estrada-cuzcano (1), Christelle Etard (2), Corinne Stoetzel (1), Elise Schaefer (1, 3), Sophie Scheidecker (1, 4), Véronique Geoffroy (1), Aline Schneider (1), Fouzia Studer (5), Francesca Mattioli (6), Kirsley Chennen (1, 7), Sabine Sigaudy (8), Damien Plassard (9), Olivier Poch (7), Amélie Piton (10, 4), Uwe Strahle (2), Jean Muller (1, 4), Hélène Dollfus (1, 5)

1. Laboratoire de génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Institute of toxicology and genetics (ITG), Karlsruhe Institute of Technology (KIT), Eggenstein-Leopoldshafen, Allemagne
3. Service de génétique médicale, Institut de génétique médicale d'Alsace, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Centre de référence pour les affections rares en génétique ophtalmologique, CARGO, Filière SENSGENE, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, INSERM U1258, CNRS UMR 7104, Université de Strasbourg, Illkirch, France
7. Complex systems and translational bioinformatics, ICube UMR 7357, Université de Strasbourg, fédération de médecine translationnelle, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Département de génétique médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France
9. Plateforme GenomEast, IGBMC, Illkirch, France
10. Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, INSERM U1258, CNRS UMR7104, Université de Strasbourg, Illkirch, France

Mots clefs : IQCE, RNA-seq, cil, voie sonic hedgehog, polydactylie, poisson-zèbre

Résumé :

Les ciliopathies sont des maladies causées par des anomalies du cil caractérisées par des signes cliniques parmi lesquels on peut retrouver la rétinopathie pigmentaire (RP), une atteinte rénale, l'obésité, un trouble cognitif comme dans le syndrome de Bardet-Biedl (BBS). La polydactylie, définie comme la présence de doigts surnuméraires aux mains ou aux pieds, complète également ce tableau clinique. Il s'agit de l'anomalie des membres la plus fréquente dans la population et se caractérise par une forte hétérogénéité génétique avec, par exemple, 8 gènes déjà connus pour la catégorie des polydactylies post-axiales (PAP) isolée ou syndromique. Récemment, le gène *IQCE* a été identifié dans une famille consanguine atteinte de PAP.

L'analyse de l'exome complet d'individus ayant un phénotype similaire au BBS a permis l'identification des variations bialléliques pathogènes dans le gène *IQCE* dans 3 familles et expliquant leur PAP. De manière intéressante, pour 2 des 3 familles, des variants pathogènes dans d'autres gènes (*TUPL1* ou *ATP6V1B1*) permettent d'expliquer les autres signes cliniques des patients comme la RP ou l'atteinte rénale. Ces 3 familles confirment l'implication d'*IQCE* dans la polydactylie isolée.

La protéine IQCE, localisée à la base du cil, est impliquée dans les premières étapes de l'activation de la voie Sonic Hedgehog (SHH). Notre objectif était de comprendre l'impact des défauts du gène chez l'Homme et chez le poisson-zèbre. A partir des fibroblastes d'un patient, les analyses transcriptomiques ont confirmé l'impact négatif d'une perte de fonction d'*IQCE* sur des voies de signalisation impliquées dans la formation des membres, telle que SHH. Nous avons confirmé que la mauvaise localisation des interactants d'*IQCE* à la base du cil provoque une sous-activation de cette voie. Néanmoins, aucun défaut ni de nombre ni de longueur du cil n'a été mis en évidence. Chez le poisson-zèbre, les anomalies typiquement retrouvées en cas de défaut du cil primaire à savoir la courbure de l'axe antéro-postérieur, la présence de kystes rénaux, un défaut d'asymétrie droite gauche et des anomalies rétinienne ont pu être observées.

En conclusion, nous avons pu confirmer que des défauts du gène *IQCE* sont responsables de PAP. La multiplicité des signes cliniques est finalement expliquée par l'addition de variations génétiques dans plusieurs gènes (« second hit »). Ces données montrent l'importance de considérer l'ensemble des variations génétiques d'un patient. Les validations fonctionnelles réalisées sur les fibroblastes et les poissons-zèbres ont confirmés le rôle d'*IQCE* au niveau du cil primaire et dans l'activation de la voie SHH.

Pièce jointe : IQCE_Abstract_Assises 2020_final.docx

FL06 : Identification d'une mutation du gène PAICS , responsable d'un syndrome polymalformatif néonatal sévère et léthal.**Auteurs :**

Marie Zikanova (1), Václava Skopová (1), Ulrike Steuerwald (2), Veronika Baresová (1), Mohammed Zarhrate (3), Jean-Marc Plaza (3), Ales Hnizda (4), Matyas Krijt (1), Olga Soucková (1), Flemming Wibrand (5), Guðrið Andorsdóttir (6), Fróði Joensen (2), David Sedlak (7), Anthony J Bleyer (8), Stanislav Kmoch (1), Stanislas Lyonnet (3), ANNA PELET (3)

1. Research Unit for Rare Diseases, Department of Paediatrics and Adolescent Medicine,, Charles University and General University Hospital, Prague, République tchèque
2. Pediatric Unit, Medical Department, The Faroese Hospital System, Tórshavn, Danemark
3. Inserm U1163-Institut Imagine, Institut Imagine, PARIS, France
4. Department of Biochemistry, University of Cambridge, Cambridge, Royaume Uni
5. Department of Clinical Genetics, Rigshospitalet, Copenhagen, Danemark
6. The Genetic Biobank of the Faroe Islands, FarGen, Tórshavn, Danemark
7. CZ-OPENSREEN: National Infrastructure for Chemical Biology, Institute of Molecular Genetics, Czech Academy of Sciences, Prague, République tchèque
8. Section on Nephrology, Wake Forest School of Medicine, Winston-Salem, Etats-Unis

Mots clefs : syndrome polymalformatif, mort précoce, pseudo VACTERL ,synthèse de novo des purines, PAICS

Résumé :

Des malformations congénitales sont observées chez 2 à 4% des naissances. Nous décrivons ici une famille originaire des îles Féroé, isolat géographique du Nord de l'Europe dont un garçon et une fille porteurs d'un syndrome polymalformatif sont décédés sans diagnostic à moins de 72 heures de vie dans un tableau de détresse respiratoire. Les signes cliniques majeurs sont un polyhydramnios, RCIU, dysmorphie cranio faciale, atrésie des choanes, atrésie de l'œsophage, anomalies costo-vertébrales et pulmonaire. Les syndromes de Williams, SmithMagenis, MillerDieker, 22q11del/CATCH22/DiGeorge, Prader Willi/Angelman et 1p-del syndromes ont été écartés. Notre objectif a été l'identification de l'anomalie génétique responsable de ce phénotype.

Sous l'hypothèse d'une transmission autosomique récessive nous avons dans un premier temps identifié par génotypage Affymetrix (puces 250K Nspl) 3 régions d'homozygotie de 2,3 ; 3,4 et 7,5 Mb localisées respectivement sur les chromosomes 3, 8 et 4. Une étude de l'exome mené sur l'ADN des deux parents et des 2 enfants a permis d'identifier une variation homozygote dans la séquence codante du gène *PAICS* localisé dans la région homozygote du chromosome 4, rs192831239 A > G (p.Lys53Arg). Ce gène code une enzyme bi-fonctionnelle de la cascade de synthèse *de novo* des bases puriques qui comporte 10 réactions enzymatiques catalysées par 6 enzymes différentes. Une modélisation *in silico* de la protéine porteuse de la variation 53Arg ,montre une déstabilisation d'une des deux poches catalytiques de l'enzyme. Des études fonctionnelles menées sur les fibroblastes des patients ont montré une activité enzymatique réduite à 10% ainsi qu'une déstabilisation de l'assemblage du purinosome.

Jusqu'à ce jour, 2 déficits enzymatiques de cette voie sont responsables de 2 pathologies d'origine génétique caractérisées par de graves atteintes neurologiques causées par des mutations autosomiques récessives des gènes *ADSL* et *ATIC* (*ADSL* deficiency - OMIM 103050 et *AICA*-ribosiduria - OMIM 608688). Nous rapportons une mutation autosomique récessive du gène *PAICS* responsable d'un nouveau syndrome polymalformatif sévère et rare entraînant une mort précoce et impliquant une 3^{ème} enzyme de la voie de synthèse *de novo* des purines.

FL07 : Diagnostic clinique évident et séquençage d'exome négatif : quand l'intégration des données à l'échelle génomique est nécessaire**Auteurs :**

Alexandre Plagos (1), Frédéric Tran Mau-Them (2, 1), Yannis Duffourd (1), Patrick Callier (3), Thibaud Jouan (1), Ange-Line Bruel (4, 5), Sébastien Moutton (6), Martin Chevarin (1), Anne-Sophie Denommé-Pichon (7), Laurence Duplomb (1), Emilie Tisserant (1), Anne Boland (8), Robert Olasso (8), Jean-François Deleuze (8), Laurence Faivre (9, 5), Christel Thauvin-Robinet (5, 9), Christophe Philippe (2, 1), Antonio Vitobello (2, 1)

1. UMR1231 GAD, Inserm, Dijon, France
2. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, laboratoire de Cytogénétique et Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
5. UMR1231 GAD, INSERM, Dijon, France
6. Centre de Référence maladies rares, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
7. UMR1231 GAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
8. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Evry, France
9. Centre de Référence maladies rares, Hôpital d'Enfants, FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : RNA-seq, séquençage haut-débit du génome,

Résumé :

Introduction : Le séquençage haut-débit d'exome (ES) est un outil de plus en plus utilisé pour le diagnostic des maladies rares, avec un rendement diagnostique de 30-40% pour la déficience intellectuelle et les anomalies du développement. L'ES présente des limites certaines pour l'identification des variations causales localisées en dehors des séquences codantes. Dans ces situations, le séquençage haut-débit du génome (GS) constitue une alternative intéressante puisqu'il permet d'explorer les introns et les régions inter-géniques. Cependant, son interprétation peut être complexe et chronophage, suite à la présence de plusieurs centaines de variations non-codantes de signification clinique inconnue. Dans ce contexte, des études complémentaires nécessitant l'analyse de l'ARN, des protéines ou d'autres méthodes de génétique moléculaire ou de cytogénétique, semblent être nécessaires. Cette approche, peut se montrer particulièrement efficace dans la situation où la présentation clinique est très évocatrice d'une pathologie ou d'un syndrome bien caractérisés, sans que le diagnostic moléculaire n'ait pu être établi par des tests génétiques ciblés ou par l'ES.

Méthode : Nous avons réalisé un GS en solo chez 4 patients sans diagnostic étiologique après ES. Trois des 4 présentaient un phénotype syndromique très évocateur de maladies rares connues ; le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (MIM 312870) de transmission récessive liée à l'X, le syndrome de Marfan (MIM 154700) de transmission dominante autosomique, et le syndrome de Cohen (MIM 216550) de transmission récessive autosomique. Le 4ème présentait une encéphalopathie épileptique pouvant faire suspecter une forme infantile (MIM 616211).

Résultats : Le GS en solo a permis d'identifier des variations introniques affectant les gènes impliqués dans les pathologies fortement suspectées, dont : i) une délétion-insertion dans une région intronique de GPC3 ; ii) une translocation avec fusion intronique du gène FBN1 avec UBE2R2 ; iii) une inversion de 15kb comprenant un exon de WWOX avec délétion intronique des régions flanquantes (en trans d'une variation faux-sens exonique retrouvée en ES) ; iv) ainsi qu'une variation ponctuelle intronique dans VPS13B avec création d'un nouveau site accepteur d'épissage (en trans d'un SNV exonique avec décalage de cadre de lecture) identifiée grâce à l'intégration de données transcriptomiques (RNA-seq). La présence de ces variations pathogènes a été validée par des analyses complémentaires aux niveaux cytogénétique (ACPA, FISH), génomique (qPCR), transcriptomique (RNA-seq, RT-qPCR), et protéique (Western Blot).

Discussion : L'identification de ces variations pathogènes, par l'intégration de données de GS et d'autres approches moléculaires, met en évidence l'intérêt de cette approche et justifie son utilisation devant un phénotype clinique évocateur d'une pathologie génétique sans diagnostic moléculaire après ES, quel que soit le mode d'hérédité mendélien de la pathologie.

FL08 : Diagnostic fortuit d'un variant ATM homozygote lié à un mécanisme moléculaire complexe d'isodisomie uniparentale en mosaïque chez un homme présentant un cancer du sein**Auteurs :**

Sophie NAMBOT (1), Vincent GOUSSOT (2), Alice FIEVET (3), Frederic Tran Mau-Them (4), Christel THAUVIN-ROBINET (5), Martin Chevarin (6), Yannis DUFFOURD (7), romain boidot (2), laurent arnould (2), noemie vulquin (8), roxana Arjmand (9), juliette Albuissou (2), francois Ghiringhelli (10), nicolas Foray (11), jean pierre de Villartay (12), gaelle Pierron (13), amandine baurand (14), Dominique Stoppa-Lyonnet (15), Antonio Vitobello (16), Christophe Philippe (14), Laurence FAIVRE (5)

1. Centre de référence Maladies rares «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
2. Département de biologie et pathologie des tumeurs, Centre Georges François Leclerc, dijon, France
3. Department of Genetics and Biology of Cancers, Institut Curie, paris, France
4. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, DIJON, France
5. Centre de Génétique et Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
6. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
7. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
8. Département de radiothérapie, Centre Georges François Leclerc, dijon, France
9. neurologie, CHU Dijon, dijon, France
10. Département d'oncologie médicale, Centre Georges François Leclerc, dijon, France
11. INSERM UMR 1052, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon , Lyon, France
12. INSERM UMR 1163, Laboratoire Dynamique du Génome et Système Immunitaire, Paris, France
13. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
14. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares «Anomalies du Développement de l'Interrégion Est», CHU Dijon, dijon, France
15. Department of Genetics and Biology of Cancers, Institut Curie, Paris, France
16. Inserm UMR 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », CHU Dijon, dijon, France

Mots clefs : ataxie télangiectasie, ATM, mosaïque, isodisomie uniparentale, cancer

Résumé :

Introduction : L'Ataxie télangiectasie (AT) est une pathologie autosomique récessive rare liée à des variations du gène AT-mutated (*ATM*). Elle est généralement caractérisée par une ataxie cérébelleuse dans l'enfance, des télangiectasies, une apraxie oculomotrice, une prédisposition au cancer (en particulier des tumeurs lymphoïdes), une immunodéficience et une hyper-radiosensibilité. Les études phénotypiques démontrent un spectre continu allant de formes classiques sévères chez l'enfant à des formes plus modérées débutant à l'âge adulte, dépendantes de l'activité kinase résiduelle. La fréquence des porteurs hétérozygotes est estimée entre 0,5% et 1% de la population générale, et multiplie par 2 à 4 le risque de cancer du sein chez la femme.

Matériel et Méthodes : Nous présentons ici un cas atypique d'un homme de 69 ans atteint d'un cancer du sein diagnostiqué à 65 ans. L'analyse diagnostique par panel de gènes sur ADN sanguin a mis en évidence un variant faux-sens, c.7271T > G, au sein du gène *ATM* avec une fréquence allélique de 90%, confirmé par séquençage Sanger.

Résultats : Le phénotypage inverse a révélé un phénotype d'AT atténué, comme reporté précédemment dans la littérature avec ce variant, comprenant des tremblements essentiels depuis l'enfance, des signes d'ataxie cérébelleuse et proprioceptive, mais une absence de télangiectasie et d'apraxie oculomotrice. Des tests complémentaires ont révélé une inversion du chromosome 7 sur 4 des 50 métaphases lymphocytaires analysées, compatible avec une AT tardive, une légère augmentation des immunoglobulines sériques et un taux normal d'alpha foeto-protéine. Le séquençage sur tissu tumoral a révélé une fréquence allélique de ce variant à 85% et à 69% dans le tissu péri-tumoral. La fréquence allélique dans l'ADN salivaire et l'ADN extrait des fibroblastes était de 74% et de 48% respectivement. Il est à noter que la fille du cas index n'est pas porteuse du variant, ce qui confirme l'existence d'un allèle de type sauvage dans certaines cellules germinales. Après avoir exclu les autres causes de mosaïcisme (contamination de l'échantillon, transfusion récente, leucémie, greffe de moelle osseuse), une analyse par SNP-array a été réalisée, révélant une isodisomie du bras long du chromosome 11. Des études fonctionnelles sur fibroblastes du cas index ont montré une forte instabilité génomique spontanée avec activation partielle et retardée de la protéine ATM, en faveur d'une radiosensibilité moindre par rapport aux porteurs de variation homozygote du gène *ATM*, mais avec un risque de complications radio-induites élevé. Ces résultats ont permis d'adapter son traitement par radiothérapie de ses métastases osseuses, avec un traitement fractionné et étendu.

Conclusion : Le diagnostic d'un cancer du sein sporadique chez un homme de 69 ans nous a conduit à l'identification d'une forme tardive d'AT, soutenue par un mécanisme rare et complexe d'isodisomie uniparentale en mosaïque.

FL09 : Intérêt de la recherche de variations mitochondriales à partir de données de séquençage d'exome chez des patients atteints d'anomalies du développement et/ou de déficience intellectuelle**Auteurs :**

Philippine Garret (1, 2), Céline Bris (3, 4), Vincent Procaccio (3, 4), Patrizia Amati-Bonneau (3, 4), Pierre Vabres (5, 6), Nada Houcinat (1, 7), Emilie Tisserant (1, 8), Ange-Line Bruel (1, 8), Virginie Quéré (1, 9), Christophe Philippe (1, 8), Arthur Sorlin (1, 9), Frédéric Tran Mau-Them (1, 8), Antonio Vitobello (1, 8), Jean-Marc Costa (2), Aïcha Boughalem (2), Detlef Trost (2), Laurence Faivre (1, 10), Christel Thauvin-Robinet (1, 7), Yannis Duffourd (1, 8)

1. UMR1231 GAD Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
2. Génétique Humaine, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
3. Institut MITOVASC – UMR CNRS 6015 – INSERM1083, Université d'Angers, Angers, France
4. Centre de Référence maladies mitochondriales, CHU Angers, Angers, France
5. Centre de Référence maladies rares « maladies dermatologiques en mosaïque » – service de dermatologie, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Service Dermatologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
7. Centre de Référence maladies rares « déficiences intellectuelles de cause rare » – centre de génétique, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
8. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
9. Centre de Référence maladies rares « maladies dermatologiques en mosaïque » – service de dermatologie, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
10. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs » – centre de génétique, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : données de séquençage haut-débit, ADNmt, pipeline, bioinformatique

Résumé :

Les variations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont responsables de pathologies très hétérogènes. Leur large spectre clinique peut concerner un seul organe (ex: surdité neurosensorielle) ou plusieurs (ex: syndrome de MERRF). Lors d'une suspicion de maladie mitochondriale, le séquençage ciblé d'un panel de gènes nucléaires impliqués dans ces maladies et/ou de l'ADNmt peut être réalisé. Il existe par ailleurs des présentations cliniques qui n'orientent pas vers une maladie mitochondriale et restent inexplicables après une analyse de l'exome (ES).

En 2012, Picardi et Pesole ont démontré que la séquence de l'ADNmt peut être reconstituée à partir des données « off-target » de l'ES rendant possible l'étude de l'ADNmt à partir de données préexistantes. Nous avons ainsi développé un pipeline bioinformatique pour identifier les variations de l'ADNmt à partir de données d'ES. Le pipeline testé chez 4 témoins positifs, porteurs de variations mitochondriales connues, a retrouvé toutes ces variations. Cette excellente sensibilité nous a permis de le déployer dans une cohorte de patients atteints d'anomalies du développement (90%) et/ou neurologiques (10%).

Trois variations causales ont ainsi été identifiées chez 4 patients: la variation homoplasmique m.9035T > C chez une femme atteinte d'ataxie et de neuropathie axonale et retrouvée en séquençage ciblé chez sa mère atteinte de neuropathie axonale, la variation homoplasmique m.11778G > A (LHON ou atrophie optique de Leber MIM 535000) chez deux patients atteints respectivement d'une affection oculaire mal étiquetée et d'une atrophie du nerf optique, et la variation hétéroplasmique (50%) m.13094T > C (LHON) chez une patiente atteinte d'une atrophie du nerf optique. Les techniques diagnostiques courantes ont confirmé ces 3 variations avec un taux d'hétéro/homoplasmie dans le sang semblable à celui évalué par notre pipeline.

L'analyse a également révélé des données incidentes, 4 variations pathogènes, chez 7 patients ne présentant pas de pathologie associée: la variation homoplasmique m.1494C > T (surdité mitochondriale isolée secondaire à une exposition aux aminoglycosides MIM 580000) chez un fœtus masculin polymalformé, la variation homoplasmique ou hétéroplasmique m.1555A > G (MIM 580000) chez deux garçons atteints respectivement d'un syndrome polymalformatif et d'une ataxie, la variation homoplasmique m.14484T > C (LHON) chez un garçon présentant une dystrophie musculaire et la variation homoplasmique m.14502T > C (LHON) chez trois filles présentant un syndrome de Rubinstein-Taybi, un syndrome de déficit en GLUT1 et une déficience intellectuelle syndromique. Ces variations n'ont pas été rendues aux patients en l'absence de bénéfice direct.

Cette étude montre l'intérêt d'inclure dans le pipeline bioinformatique d'analyse d'ES les outils nécessaires à la détection des variations mitochondriales pour améliorer le diagnostic des patients atteints de maladies rares, en particulier avec atteinte neurologique.

Pièce jointe : Assises_2020_Mito_Philippine_Garret_vf.doc

FL10 : Extension du spectre phénotypique de la prédisposition génétique aux hémopathies malignes associées aux mutations RUNX1 à la myélofibrose primitive**Auteurs :**

Florian Chevillon (1), Emmanuelle Clappier (1), Hélène Lapillonne (1), Nicolas Boissel (1), Delphine Rea (1), Nathalie Dhedin (1), Hélène Antoine-Poirel (2, 1)

1. , Hôpital Saint-Louis, Paris, France

2. , Registre du Cancer, Bruxelles, Belgique

Mots clefs : Oncogénétique, Hémopathies malignes myéloïdes, RUNX1, myélofibrose primitive

Résumé :

Le gène *RUNX1* code pour un facteur de transcription ayant un rôle majeur dans l'hématopoïèse primitive. Des remaniements acquis de *RUNX1* sous forme de gènes de fusion avec différents gènes partenaires sont décrits dans des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) et lymphoblastiques (LAL-B). En 1999, des mutations hétérozygotes germinales de *RUNX1* ont été identifiées dans des formes familiales de thrombopénie modérée avec thrombopathie et prédisposition aux syndromes myélodysplasiques (SMD)/LAM et plus rarement aux leucémies aiguës lymphoblastiques T et à certains syndromes mixtes myélodysplasiques / myéloprolifératifs comme la leucémie myélomonocytaire chronique. La transmission est autosomique dominante avec une pénétrance incomplète variant de 20 à 60% des cas environ. L'âge de découverte de l'hémopathie survenue varie également de la petite enfance à un âge avancé.

Nous décrivons une nouvelle famille présentant un phénotype élargi associé à une mutation non-sens dans le domaine de transactivation de *RUNX1* (ex7 : c.796T : p.Q266X) retrouvée sur 3 générations :

- Un jeune de 16 ans sans antécédent particulier a développé une leucémie aiguë myéloblastique (LAM2), la mutation de *RUNX1* ayant une fréquence allélique proche de 50% dans les cellules leucémiques, l'origine germinale a été confirmée sur une biopsie cutanée ;
- Le jeune frère âgé de 11 ans, asymptomatique, et en particulier sans thrombopénie, HLA compatible, mais une recherche de mutation germinale réalisée sur une culture de fibroblaste s'étant avérée positive, il a été récusé en tant que donneur pour l'allogreffe de son frère ;
- Le père, âgé de 46 ans, présente une thrombopénie légère à 131 G/L sans signes de saignement ni anomalie de la numération ;
- Le grand-père paternel, est décédé à l'âge de 72 ans d'une myélofibrose primitive *JAK2-V617F* rapidement transformée en leucémie aiguë myéloblastique.

C'est à notre connaissance le premier cas décrit de néoplasme myéloprolifératif *JAK2-V617F* décrit comme associé à une mutation du gène *RUNX1*. Cette famille illustre également la grande variabilité de l'expressivité associée aux mutations de ce gène. La majorité des mutations faux-sens surviennent dans le domaine d'homologie Runt (RHD) qui assure la liaison à l'ADN de ce facteur de transcription alors que les mutations non-sens, comme dans la famille décrite, ou entraînant un décalage de lecture sont réparties tout le long de la séquence de *RUNX1*. Ces mutations auraient un effet dominant négatif et seraient associées à un risque plus élevé de transformation leucémique que les mutations qui entraîneraient une perte de fonction (mutations dans la région de régulation 5' ou grandes délétions).

FL11 : Altération de l'épissage par formation d'une structure secondaire d'ARN provoquée par l'insertion d'une séquence Alu : un nouveau mécanisme à l'origine de maladies génétiques humaines**Auteurs :**

Emmanuelle MASSON (1, 2), Sandrine MAESTRI (3), Claude FEREC (3, 2), Jian-Min CHEN (3)

1. Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29000 BREST, France

2. Service de Génétique, CHRU Brest, BREST, France

3. Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200 BREST, France

Mots clefs : Epissage, insertion Alu, structure secondaire d'ARN, répétition inversée, rétrotransposition de L1, 3'-UTR, SPINK1

Résumé :

Contexte : Il y a plus d'un million d'éléments *Alu* disséminés dans le génome humain, et de plus en plus d'insertions d'*Alu* sont rapportées comme étant à l'origine de maladies génétiques humaines. Jusqu'à tout récemment, ces insertions d'*Alu* étaient invariablement retrouvées dans les régions codantes ou les régions introniques proximales. En 2017, nous avons rapporté l'insertion à l'état homozygote d'une séquence *Alu* notée *Alu*-Ins, dans la région 3'-UTR du gène *SPINK1*, chez une jeune patiente atteinte d'insuffisance pancréatique exocrine sévère. Cette séquence *Alu*-Ins est à l'origine d'une perte totale d'expression du gène *SPINK1*, mais le mécanisme sous-jacent restait à élucider.

Résultats : Nous avons d'abord testé l'impact de la séquence *Alu*-Ins sur la stabilité des transcrits par un essai 3'-UTR-Reporter. Une baisse d'expression de la luciférase d'environ 50% est observée, ce qui ne permet pas d'expliquer une absence totale d'expression du gène. Nous avons alors émis l'hypothèse que la séquence *Alu*-Ins pourrait former une structure secondaire d'ARN avec des séquences *Alu* inversées naturellement présentes dans le gène *SPINK1*, et ainsi affecter l'épissage du gène. Nous avons donc étudié la séquence génomique de *SPINK1* à l'aide de l'application RepeatMasker et identifié dans le dernier intron du gène deux séquences *Alu*, toutes deux en orientation inversée par rapport à l'*Alu*-Ins. La première notée *Alu*1 est située à environ 2,6 kb du codon stop, et la deuxième notée *Alu*2 située à environ 1 kb. Pour tester l'hypothèse d'une formation d'une structure secondaire d'ARN entre ces deux éléments *Alu* préexistants et l'*Alu*-Ins, nous avons construit plusieurs vecteurs d'expression. Tout d'abord, le gène *SPINK1* est cloné en entier avec la séquence *Alu*-Ins en 3'-UTR. Puis, plusieurs constructions sont réalisées : les séquences *Alu*1 et *Alu*2 sont enlevées une par une, et l'orientation de la séquence *Alu*-Ins est inversée dans le 3'-UTR. Chaque plasmide est transfecté dans deux lignées cellulaires traitées avec un inhibiteur de NMD. Après 48h, les ARN sont extraits et des RT-PCR sont réalisées pour l'ensemble des constructions. Le séquençage des transcrits obtenus a permis de montrer que la séquence *Alu*-Ins forme une structure secondaire avec la séquence *Alu*1 au niveau de l'ARN pré-messager, empêchant ainsi un épissage correct des ARN messagers.

Conclusion : Bien que l'on sache depuis longtemps que les répétitions *Alu* inversées sont capables de former des structures secondaires, c'est la première fois qu'un tel mécanisme est rapporté dans une maladie génétique humaine. Compte tenu de l'abondance des éléments *Alu* dans le génome humain et de la mobilisation potentielle des rétrotransposons *Alu* dans toutes les régions des gènes, nos résultats montrent l'importance d'élargir la détection des insertions d'*Alu* aux régions non-codantes d'un gène et d'interpréter leur impact en fonction du contexte génétique préexistant.

Pièce jointe : Résumé_07Oct2019soumis.docx

FL12 : MOOC BiG - bioinformatique pour la génétique médicale : enseignons la génomique en ligne !**Auteurs :**

Kevin Yaury (1), Evan Gouy (2), Anne Sophie Denommé-Pichon (3, 4), Emmanuelle Génin (5), François Lecoquierre (6), Alban Lermine (7), Robert Olaso (8), Sacha Schutz (9), Marie de Tayrac (10), Aurélien Trimouille (11), Guillaume Collet (12), Xavier Desplas (13), Fabien Hobart (14), Amodsen Chotia (15), Pascal Pujol (16), David Geneviève (17), Laurence Faivre (18, 4), Damien Sanlaville (19), Yannis Duffourd (3, 4), Julien Thevenon (20)

1. Service de Génétique Clinique, Hopital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Service de génétique médicale, CHU de Reims, Reims, France
3. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU de Dijon, Dijon, France
4. UMR1231 GAD, Inserm – Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
5. UMR 1078, Inserm, Brest, France
6. Laboratoire de génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
7. MOABI-APHP, APHP, Paris, France
8. CNRGH, CEA, Evry, France
9. Laboratoire de Génétique, CHU de Brest, Brest, France
10. Laboratoire de Bioinformatique et Génétique Computationnelle; Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU de Rennes, Rennes, France
11. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
12. Réseau BioInfoDiag INCa, INCa, Rennes, France
13. MOOC Factory, Centre de Recherche Interdisciplinaires, Paris, France
14. Nipédu, Nipcast, Paris, France
15. Labs, Centre de Recherche Interdisciplinaires, Paris, France
16. Unité d'oncogénétique, Service de Génétique Clinique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
17. Service de Génétique Clinique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
18. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, CHU de Dijon, Dijon, France
19. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
20. Service de Génétique et Procréation, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

Mots clefs : Bioinformatique, génomique, MOOC, e-learning, pédagogie

Résumé :

Le futur spécialiste en génétique médicale doit comprendre les différentes étapes qui mènent du phénotypage au diagnostic, les limites et les pièges du NGS. Il existe un besoin de formation de la communauté des internes de génétique et des praticiens aux notions d'algorithmique, d'analyse de données séquençage à haut-débit (SHD), de statistiques et de gestion des données massives. Plusieurs initiatives de formation sont proposées par des universités, les filières de santé maladies rares, l'ANPGM, le CNPGEN. Néanmoins, l'offre actuelle d'enseignement est limitée, autant en formation initiale qu'en formation continue.

Nous proposons la création d'un enseignement introductif à la génomique, impliquant de nombreux acteurs de la génomique en France, s'appuyant sur la communauté de BioInfoDiag pour contribuer à fédérer la communauté nationale de médecine génomique.

Ce MOOC a été réalisé sous l'égide du Collège National des Praticiens et Enseignants de Génétique Médicale (CNEPGM), grâce au soutien de la filière de santé AnDDi-Rares, la Société Française de Médecine Prédictive et Personnalisée, le Réseau Français de Bioinformatique pour le Diagnostic (BioInfoDiag) et le support technique du Centre de Recherche Interdisciplinaire (CRI).

Le processus pédagogique est constitué d'une description des enjeux de la génomique remplaçant la génétique, les défis technologiques et techniques du SHD, l'interprétation des variations, l'analyse et les méthodes bioinformatiques employées.

Nous avons donc choisi de suivre par étapes un pipeline bioinformatique d'analyse inversé, c'est à dire partir de l'interprétation du résultat d'une analyse SHD pour remonter aux fichiers bruts. A partir de vidéos, documents, exercices et ressources pour aller plus loin, seuls ou en groupe : découvrez la bioinformatique appliquée à la génomique, renforcez vos connaissances et créer des liens avec d'autres apprenants.

Ce travail prend la forme d'un cours en ligne ouvert et massif (MOOC), hébergé par la plateforme web France Université Numérique (FUN). Grâce à cette plateforme la plus populaire d'e-learning francophone, ce support est idéal pour un large accès à cet enseignement.

Nous espérons vous voir nombreux sur la première session du MOOC qui ouvrira mi-février !

FL13 : Mise en place d'une RCP nationale par le Groupe Génétique et Cancer dans le cadre du plan France Médecine Génomique**Auteurs :**

Chrystelle Colas (1), Hélène Delhomelle (2), Pascaline Berthet (3), Olivier Caron (4), Mathias Cavaille (5), Marie-Agnès Collonge-Rame (6), Carole Corsini (7), Capucine Delnatte (8), Philippe Denizeau (9), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (10, 11), Sophie Giraud (12), Sophie Lejeune (13), Jessica Moretta (14), Isabelle Mortemousque (15, 16), Pierre Naibo (17), Hélène Schuster (18, 19), Julie Tinat (20), Nicolas Sevenet (21), Dominique Vaur (22), Catherine Nogues (23, 24)

1. Département de Génétique, PSL Research University, Institut Curie, PARIS, France
2. Département de Génétique, PSL Research University, Institut Curie, Saint Cloud, France
3. Oncogénétique, Département de Biopathologie, Centre François Baclesse,, CAEN, France
4. Département de médecine oncologique, Gustave Roussy cancer campus, Villejuif, France
5. Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
6. Service de Génétique Biologique, Consultations d'Oncogénétique, CHRU, Besançon, France
7. Oncogénétique, Département de génétique médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
8. Oncogénétique, ICO site René Gauducheau, Saint-Herblain, France
9. Service de Génétique Médicale, Unité oncogénétique, CHU Rennes, Rennes, France
10. Service de Génétique, 9. Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
11. Université Paris, PARCC, Genetics and Metabolism of Rare Cancers,, INSERM, PARIS, France
12. Génétique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon, France
13. Service de génétique clinique, CHRU Lille, Lille, France
14. Département d'Anticipation et de Suivi du Cancer, Oncogénétique clinique, Institut Paoli-Calmettes, , Marseille, France
15. Service de Génétique, Centre Hospitalo-Universitaire, Tours, France
16. UMR INSERM U930 , Faculté de Médecine, Université François Rabelais, Tours, France
17. Laboratoire de génétique constitutionnelle , Hospices Civils de Lyon-Centre Léon Bérard, Lyon, France
18. Unité d'Oncogénétique, Centre de Lutte contre le Cancer Paul Strauss, Strasbourg, France
19. NSERM UMR S 1109, Laboratoire d'ImmunoRhumatologie Moléculaire, Plateforme GENOMAX, LabEx TRANSPLANTEX, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg (FMTS), Faculté de Médecine, Strasbourg, France
20. Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
21. Département de bio-pathologie, Laboratoire de génétique moléculaire, unité d'oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
22. laboratoire de biologie et de génétique du cancer, U1245, Centre François-Baclesse, Caen, France
23. Département d'Anticipation et de Suivi du Cancer, Oncogénétique clinique, Institut Paoli-Calmettes,, Marseille, France
24. INSERM, IRD, SESSTIM, Sciences Economiques et Sociales de la Santé & Traitement de l'Information Médicale,, Université Aix Marseille, Marseille, France

Mots clefs : Plan France médecine Génomique, Exome, Génome, Cancer, Prédilection, Constitutionnel, GGC-Unicancer, Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

Résumé :

Dans le cadre du Plan France Génomique 2025 (FMG2025) deux plateformes AURAGEN ET SEQOIA ont été créées pour offrir, dans un cadre diagnostique, la réalisation d'analyses de séquençage très haut débit, principalement à type d'exomes et de génomes complets pour l'ensemble du territoire. Début 2019, 12 préindications dont trois concernant l'oncogénétique ont été retenues pour le démarrage de ce plan. Les deux préindications proposées par le Groupe Génétique et Cancer-Unicancer pour l'oncogénétique constitutionnelle ont été retenues. Il s'agit, pour la première, de patients atteints de cancers dans un contexte d'antécédents familiaux particulièrement sévères et, pour la seconde, de patients atteints de phénotypes tumoraux « extrêmes » isolés. Ces cancers isolés peuvent être soit de survenue inhabituellement précoce soit multiples. Dans cette pré-indication, l'analyse est proposée en trio.

Pour assurer une accessibilité et une représentativité nationale, le Groupe Génétique et Cancer-Unicancer a décidé de mettre en place une RCP nationale nommée « RCP nationale GGC FMG2025 » pour discuter et sélectionner les dossiers relevant de ce type d'indications. Les participants à cette RCP sont un généticien clinicien par région, deux cliniciens et deux biologistes membres du bureau du GGC, deux représentants désignés par chacune des plateformes, une conseillère en génétique qui assure la logistique. Les RCP, de 3 heures, se font par téléconférence et sont programmées toutes les 3 semaines depuis septembre 2019 puis tous les mois en 2020. Le clinicien et le biologiste référents pour chaque dossier sont invités à participer à la discussion concernant leurs dossiers. En Septembre et Octobre 2019 : 41 dossiers ont été discutés (14 cas familiaux et 27 cas isolés) : 25 indications ont été acceptées (12 pour AURAGEN et 13 pour SEQOIA) ; 5 dossiers ont été refusés et 8 mis en attente d'explorations génétiques ou d'information complémentaires.

Ces premières réunions ont été l'occasion de préciser les situations cliniques relevant de ce type d'analyses ainsi que les âges limites pour les cas isolés à l'aide des données épidémiologiques disponibles. Les premiers dossiers acceptés ont été validés sur les logiciels de e-prescription de chacune des plateformes et les consultations pour les patients et leurs apparentés concernés ont été programmées. La RCP nationale GGC FMG2025 sera également impliquée en aval des analyses après le rendu des résultats pour discuter de la prise en charge des patients et de leur famille et éventuellement de l'orientation vers des projets de recherche. Des interactions avec les RCP d'oncogénétique somatique, en charge de la préindication sur les cancers en échec thérapeutique, doivent être formalisées. L'intégration des analyses tumorales en complément des analyses constitutionnelles est également un objectif à court terme.

FL14 : Hyper-expression du gène DNMT3A: Un marqueur de mauvais pronostic dans la leucémie aiguë myéloïde avec un caryotype normal

Auteurs :

Amal MECHAAL (1), Héla SASSI (2), Samia MENIF (1), Ines SAFRA (1)

1. Laboratoire d'Hématologie Moléculaire et Cellulaire, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

2. Service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Surexpression de DNMT3A, LAM caryotype normal, Pronostic, Stratification, Traitement

Résumé :

Objectif: L'ADN méthyltransférase 3A (DNMT3A) est l'une des deux ADN méthyltransférases de novo humaines essentielles à la régulation de l'expression des gènes au cours du développement et de la différenciation cellulaires. Les mutations du gène DNMT3A sont généralement présentes dans les clones de LAMs, ce qui suggère qu'ils peuvent initier une leucémie. Cependant, peu d'études ont porté l'impact pronostique d'une expression anormale de DNMT3A. Le but du présent travail était d'étudier la prévalence et l'impact pronostique de la surexpression de DNMT3A chez 98 patients atteints de LAM *de novo* avec caryotype normal.

Méthodes: Les ADNc extraits ont été analysés par une PCR en temps réel en utilisant la technologie TaqMan et la méthode comparative.

Résultats: La quantification de l'expression du gène DNMT3A par rapport au groupe témoin a montré une surexpression significative dans le groupe de patients ($p < 0,001$).

La surexpression de ce gène est (i) significativement corrélée à la résistance à la chimiothérapie, à une survie globale plus courte et (ii) significativement corrélée à une courte durée de survie sans progression. Cette étude constitue le premier rapport montrant que la surexpression de DNMT3A est un facteur indépendant de prédiction d'une faible survie chez les patients atteints de LAMs. Sa quantification devrait être appliquée au profil génétique utilisé pour stratifier les patients en fonction de stratégies thérapeutiques et devrait être utile pour identifier les patients pouvant bénéficier d'un traitement à base d'agents déméthylants.

Conclusion: Nos résultats démontrent l'utilité clinique de la quantification de DNMT3A pour stratifier les patients atteints de LAM et guider les décisions thérapeutiques. Une validation prospective de nos résultats est nécessaire et nous pensons que nos résultats peuvent contribuer à améliorer le pronostic des patients atteints de LAM et la conception des essais cliniques.

FL15 : Anomalies d'IGF1R: à propos de 35 nouveaux patients.

Auteurs :

Eloise Giabicani (1, 2), Willems Marjolaine (3), Virginie Steunou (4), Sandra Chantot-Bastaraud (5), Irène Netchine (6, 7), Frédéric Brioude (6, 7)

1. Centre de Recherche St Antoine, Sorbonne Université, INSERM, PARIS, France
2. Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, PARIS, France
3. Département de Génétique Médicale, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Centre de Recherche St Antoine, INSERM, paris, France
5. UF de Génétique Chromosomique, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
6. Centre de Recherche St Antoine, Sorbonne Université, INSERM, Paris, France
7. Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Mots clefs : IGF1R; retard de croissance; restriction de croissance foetale; microcéphalie.

Résumé :

Contexte : le récepteur de type 1 des *insulin like growth factors* (IGFs) (IGF1R) est un acteur majeur de la régulation de la croissance fœtale par son interaction avec IGF-I et IGF-II. Récemment la description clinique d'une grande cohorte néerlandaise de patients porteurs d'anomalies du gène *IGF1R* a été publiée et un score clinique diagnostic a été proposé. Nous avons caractérisé le phénotype clinique et évalué la sensibilité de ce score dans un groupe de patients pour lesquels une anomalie d'*IGF1R* avait été identifiée dans le laboratoire.

Méthodes : Nous avons recensé les délétions et variants identifiés au sein du laboratoire entre 2006 et 2018. La variabilité du nombre de copies (*copy number variation*, CNV) était détectée par *multiplex ligation-dependent probe amplification* (MLPA) et confirmée par puce d'analyse de *single nucleotide polymorphism* (SNP), tandis que les variants étaient identifiés en séquençage de type Sanger, sur lymphocytes circulants.

Résultats: Nous avons identifié 21 anomalies d'*IGF1R*, chez 35 patients et leurs apparentés, dont huit délétions, et 10 variants classés pathogènes ou probablement pathogènes selon la classification internationale ACMG/AMP. Ces anomalies étaient majoritairement présentes à l'état hétérozygote (n=33) mais un patient était hétérozygote composite et un autre homozygote. Les patients étaient nés petits pour l'âge gestationnel (90,9%), avaient une petite taille dans l'enfance (88,2%) et une microcéphalie (74,1%). Il existait également une prévalence importante de difficultés alimentaires et de retard de développement à des degrés variables (54,5%). Enfin, nous avons recensé des malformations cardiaques chez quatre patients dont une insuffisance cardiaque terminale ayant nécessité une transplantation cardiaque. Nous n'avons pas mis en évidence de différence phénotypique significative entre les patients porteurs de délétions ou de variants pathogènes. Nous avons validé la pertinence du score clinique proposé avec une sensibilité de 95,2% dans cette cohorte. Ce score propose la recherche d'anomalie d'*IGF1R* devant la présence d'au moins trois des caractéristiques suivantes : taille ou poids de naissance inférieur à -1DS, taille dans l'enfance inférieure à -2,5DS, microcéphalie (périmètre crânien inférieur à -2DS) et concentration d'IGF-I au-delà de la moyenne.

Conclusion: Nous avons identifié huit nouveaux variants pathogènes d'*IGF1R* et un nouveau cas d'atteinte homozygote. Nous recommandons l'utilisation du score clinique récemment publié pour guider le diagnostic moléculaire, bien que sa spécificité reste encore à caractériser. Nous proposons également la réalisation systématique d'une échographie cardiaque chez les patients porteurs d'anomalie d'*IGF1R*.

FL16 : Pathologies secondaires aux mutations de la voie PI3K-AKT-mTOR d'expression anténatale : que peut-on apprendre de ses formes extrêmes de syndromes hypertrophiques segmentaires.**Auteurs :**

Nicolas BOURGON (1, 2), Virginie CARMIGNAC (2), Arthur SORLIN (3, 2), Martin CHEVARIN (2), Charlotte POE (2), Thibaud JOUAN (2), Yannis DUFFOUD (2), Emilie TISSERANT (2), Carine ABEL (4), Daniel AMRAM (5), Tania ATTIE-BITACH (6), Nicolas CHASSAING (7), Bérénice DORAY (8), Agnès GUICHET (9), Jelena MARTINOVICH (10), Marie-Josée PEREZ (11), Chloé QUELIN (12), Alexandre VASILJEVIC (13), Christophe PHILIPPE (14, 2), Jean-Baptiste RIVIERE (2), Christel THAUVIN-ROBINET (3, 2), Pierre VABRES (15, 2), Laurence FAIVRE (3, 2), Paul KUENTZ (16, 2)

1. Diagnostic anténatal et médecine foetale, CHU Dijon, DIJON, France
2. Génétique des Anomalies du Développement, INSERM UMR 1231 - Université de Bourgogne, DIJON, France
3. Centre de Génétique, CHU Dijon, DIJON, France
4. Génétique Médicale, Hôpital de la Croix Rousse, LYON, France
5. UF de Génétique Médicale, CHIC Créteil, CRETEIL, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
7. Génétique Médicale, CHU Toulouse, TOULOUSE, France
8. Service de génétique, CHU de la Réunion - Hôpital Félix Guyon, SAINT DENIS LA REUNION, France
9. UF de Génétique, CHU Angers, ANGERS, France
10. Unit of Fetal Pathology, Hospital Antoine Bécélère, CLAMART, France
11. Génétique Prénatale et Foetopathologie, CHU Montpellier, MONTPELLIER, France
12. Génétique Clinique, CHU Rennes, RENNES, France
13. Centre de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
14. Laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, CHU Dijon, DIJON, France
15. Dermatologie, CHU Dijon, DIJON, France
16. Génétique Biologique, CHU Besançon, BESANCON, France

Mots clefs : Diagnostic prénatal, mosaïque, PI3K-AKT-mTOR, hypertrophie segmentaire

Résumé :

Intoduction : La voie PI3K-AKT-mTOR est une voie de signalisation impliquée dans la régulation de la croissance et de la prolifération cellulaire ainsi que l'angiogenèse. Les mutations de cette voie sont responsables de syndromes en mosaïques caractérisés par une hypertrophie segmentaire : mégalencéphalies (MEG), héli-mégalencéphalies (HMEG), hypertrophie adipeuse et malformations vasculaires principalement. Certains de ces syndromes peuvent s'exprimer au cours de la période anténatale : les phénotypes reliés aux mutations post-zygotiques du gène *PIK3CA* regroupées au sein du spectre PROS (incluant notamment le syndrome CLOVES (MIM#612918) et le syndrome MCAP (MIM#602501)), les syndromes Mégalencéphalie Polymicrogyrie Polydactylie Hydrocéphalie secondaires aux mutations constitutionnelles et post-zygotiques de *PIK3R2*, *CCND2* et *AKT3* et le syndrome de Smith-Kingsmore (MIM#616638) secondaires aux mutations de *mTOR*.

Objectif : Décrire les données phénotypiques, anténatales et postnatales, et moléculaires de fœtus présentant un syndrome hypertrophique segmentaire et secondaire à une mutation activatrice de la voie *PI3K-AKT-mTOR*.

Patients et méthodes : Chez 15 fœtus présentant un syndrome hypertrophique segmentaire diagnostiqué en anténatal, l'ADN a été extrait à partir de tissus pathologiques. Un séquençage ciblé en profondeur des gènes de la voie *PI3K/AKT/mTOR* a été réalisé par séquençage haut débit. Nous avons ensuite évalué la possibilité de retrouver les variations pathogènes identifiées dans du liquide amniotique cultivé et non cultivé afin d'évaluer la possibilité de proposer un diagnostic prénatal.

Résultats : 12 fœtus présentaient une hypertrophie cérébrale : 4 MEG et 8 HMEG. Parmi les fœtus présentant une MEG, nous avons identifié une variation pathogène du gène *PIK3R2* responsable du syndrome MPPH chez 3 cas sur 4 (2 variations constitutionnelles et 1 post-zygotique), et une variation pathogène du gène *mTOR* impliquée dans le syndrome de Smith-Kingsmore chez 1 cas sur 4. Parmi les fœtus présentant une HMEG, une variation pathogène post-zygotique du gène *PIK3CA* a été identifiée chez 2 fœtus présentant une HMEG associée à des signes cliniques extra-cérébraux rapportés dans le syndrome CLOVES et chez 6 cas présentant une HMEG «isolée». Par ailleurs, chez les 3 autres fœtus présentant une hypertrophie segmentaire associée à un(des) lymphangiome(s) étendu(s) et sans hypertrophie cérébrale, une variation pathogène post-zygotique du gène *PIK3CA* a également été identifiée.

L'analyse rétrospective a porté sur l'ADN de 5 foetus, extrait d'amniocytes en culture. La variation pathogène a pu être identifié chez 3/5 patients, suggérant que le diagnostic prénatal était possible sous réserve qu'un résultat négatif ne peut pas exclure le diagnostic suspecté.

Conclusion : Il s'agit de la première étude portant sur des fœtus présentant une hypertrophie segmentaire, qui fournit des données importantes aux équipes de diagnostic prénatal.

FL17 : Incurvations fémorales isolées en prénatal : revue clinique, radiologique et moléculaire de 103 cas**Auteurs :**

Adeline Bonnard (1), Catherine Garel (2), Geneviève Baujat (1), Jonathan Rosenblatt (3), Alain Verloes (4), Jean-Marie Jouannic (5), Laurent Salomon (6), Fabien Guimiot (7), Marie Gonzales (8), Caroline Michot (1), Bettina Bessieres (8), Sophie Rondeau (9), Sophie Monnot (9), Valérie Cormier-Daire (1)

1. Service de génétique clinique, Necker enfants malades, PARIS, France
2. Service de radiopédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, PARIS, France
3. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
4. Service de génétique clinique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
5. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Armand Trousseau, PARIS, France
6. Service de Gynécologie Obstétrique, Necker enfants malades, PARIS, France
7. Service de foetopathologie, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
8. Service de foetopathologie, Necker enfants malades, PARIS, France
9. Service de génétique moléculaire, Necker enfants malades, PARIS, France

Mots clefs : incurvations fémorales, diagnostic anténatal, diagnostic échographique, TDM osseuse fœtale, ostéogenèse imparfaite, maladie osseuse constitutionnelle, troubles du métabolisme phosphocalcique

Résumé :

Introduction : l'incurvation fémorale isolée anténatale est un point d'appel rare et aspécifique de maladies osseuses constitutionnelles (MOC) aux pronostics variables et potentiellement sévères. L'étiologie est difficile à établir en anténatal. Le but de cette étude est d'établir le spectre des pathologies associées à ce signe, évaluer leur prévalence, décrire leur prise en charge, leur pronostic, afin d'améliorer le conseil génétique.

Méthode : nous avons analysé les dossiers adressés à 3 CPDPN d'Ile de France et au centre de référence de MOC de l'hôpital Necker sur 10 ans, pour des grossesses ayant présenté un fémur incurvé isolé à l'échographie anténatale. Les informations concernant les antécédents, les éléments diagnostics et de suivi post nataux ont été colligés.

Résultats : 103 cas ont été inclus. Onze pathologies ont été mises en évidence chez 90 patients, avec une majorité d'ostéogenèse imparfaite (56%). Chez 53 patients (51%) une confirmation génétique a été possible. Chez 14,6% des patients aucun diagnostic final n'a été posé. L'existence d'un antécédent familial a permis d'orienter le diagnostic dans 23%. L'échographie évoquait un diagnostic dans 75% des cas, mais erroné dans 14% des cas. Sur 78 TDM osseuses réalisées, 69% évoquaient un diagnostic, mais erroné dans 15% des cas. Dans 33% des cas, une interruption médicale de grossesse a été réalisée. Le temps moyen de suivi post natal est de 33 mois, 4 décès sont survenus (5,9%), 20% des phénotypes ont été considérés comme sévères.

Discussion & Conclusion : les examens réalisés en anténatal ne sont pas toujours discriminants, du fait du chevauchement phénotypique important des différentes pathologies. Les examens génétiques ont permis de confirmer ou de corriger les diagnostics évoqués mais n'ont pas été effectués de manière systématique. La mise en place d'études génétiques par séquençage par panel apparaît nécessaire en anténatal, ainsi qu'un suivi plus organisé.

FL18 : EEQ en cytogénétique : leçons et enseignement en génétique clinique et biologique**Auteurs :**

martine Doco-Fenzy (1), Damien Sanlaville (2), Chantal Missirian (3), marianne TILL (4), caroline Schluth-Bolard (4), Marie-Claude Melun-Blocquaux (5), Marie-Christine Combrisson (6), Christine Terre (7), Isabelle Luquet (8), cyril Sarrauste de Menthère (9), Jean-Michel Dupont (10)

1. génétique, CHU Reims, Reims, France
2. cytogénétique, CHU centre biologie et pathologie Est, Lyon, France
3. génétique médicale, Hopital de la Timone, Marseilles, France
4. Génétique , CHU Lyon, Lyon, France
5. Génétique , CHU reims, Reims, France
6. cytogénétique, Laboratoire CYTOGEN, Nantes, France
7. cytogénétique, CHU , versailles, France
8. Service d'hématologie génétique des hémopathies, IUCT Oncopole, Toulouse, France
9. CNRS UPR1142, IGH, Montpellier, France
10. cytogénétique, CHU Cochin, Paris, France

Mots clefs : EEQ, qualité, formation, ACPA, polymorphisme

Résumé :

L'ACLF a mis à disposition des laboratoires depuis 2005 des évaluations externes de la qualité pour le caryotype (incluant la FISH) et l'ACPA. Plus de 70 laboratoires en cytogénétique constitutionnelle, 40 en Hématologie et 30 pour l'ACPA participent chaque année. Les dossiers sont évalués par les experts issus des laboratoires participants. Les résultats de ces L'évolution de nos pratiques nous impose une adaptation continue mais ces EEQs et de leurs équivalents européens nous ont fait prendre conscience de l'état des connaissances et de certaines limites révèlent les pertes de compétence dans l'analyse cytogénétique classique ainsi que les limites des techniques moléculaires pangénomiques. Le partage de l'information par les participants est très important, nous avons ainsi identifié des lacunes ou des écueils techniques que nous illustrerons par deux exemples. Cytogénétique postnatale : Nous avons proposé l'observation d'une inversion péricentrique du chromosome 5 : inv(5)(p13q13) considérée comme un variant dans la littérature. Des laboratoires ont rapporté ce chromosome comme un variant ou polymorphisme alors que d'autres ont raisonné comme une inversion péricentrique classique similaire à celle du chromosome 4. Ce sont les plus anciens de nos collègues qui ont identifié ce polymorphisme. Les plus « jeunes » cytogénéticiens seniors experts ont perdu cette expérience concernant un variant rare qui n'est plus décrit depuis longtemps dans la littérature. ACPA postnatale : Le cas proposé comportait une pentasomie X validée par le caryotype, ce qui paraissait simple. Mais curieusement certains laboratoires n'ont pas identifié la pentasomie. Ils ont conclu à une trisomie ou une mosaïque avec une tétrasomie. L'explication tient probablement aux limites d'évaluation précis du nombre de copies par les algorithmes utilisés, qui nécessite une méfiance lors de l'analyse en présence de ratios très inhabituels, en particulier au niveau des gonosomes et une connaissance cytogénétique de l'existence de ces polysomies notamment gonosomiques, soit une analyse trop rapide ou parce que la technique ne permettait pas d'évaluer un nombre important de copies de l'X.

Cet exercice nous a permis de constater les limites de certains algorithmes de calcul et rappellent l'importance de maintenir une formation solide en analyse cytogénétique classique pour interpréter au mieux les résultats issus des techniques moléculaires pangénomiques (ACPA, WGS/WES) et de ne pas omettre l'existence de polymorphisme rare au niveau chromosomique

FL19 : Altération de l'organisation spatiale de la chromatine spermatique chez les patients atteints de globozoospermie et déficitaires en DPY19L2**Auteurs :**

Fatma Abdelhedi (1, 2), Emmanuel Dulioust (3), Céline Chalas (3), Nourhène Gharbi (4), Nouha Abid (5), Elyes Mokadem (6), Ikhlas Ben Ayed (4), Hassen Kamoun (4), Leila Keskes (4), Jean-Michel Dupont (7, 2)

1. Génomique, Epigénétique et Physiopathologie de la Reproduction, U1016 INSERM-UMR 8104 CNRS, Institut Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
3. Laboratoire d'Histologie Embryologie - Biologie de la Reproduction, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
5. Centre d'Aide Médicale à la Procréation, Polyclinique Ibn Nafiss, Sfax, Tunisie
6. Centre d'Aide Médicale à la Procréation, Polyclinique El Alia, Sfax, Tunisie
7. Génomique, Epigénétique et Physiopathologie de la Reproduction, U1016 INSERM-UMR 8104 CNRS, Institut Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France

Mots clefs : Globozoospermie, gène DPY19L2, FISH 3D, chromatine spermatique, protéine LINC, lamina nucléaire.

Résumé :

La globozoospermie est une tératozoospermie monomorphe, rare (incidence < 0.1%), secondaire dans 70-75% des cas à une anomalie du gène *DPY19L2* qui intervient dans la formation de l'acrosome. En plus de son rôle capital dans le bon positionnement de l'acrosome, il a été suggéré que la protéine Dpy19l2 aurait aussi un rôle important dans l'organisation du génome nucléaire pendant la vie embryonnaire. Il a été suggéré également que la protéine Dpy19l2 aurait une fonction similaire aux protéines du complexe LINC (Linkers of the Nucleoskeleton to the Cytoskeleton), étant donné que Dpy19l2 est situé au niveau de la membrane nucléaire interne, et que son absence chez des souris mâles *Dpy19l2*^{-/-}, est associée à un gonflement de l'espace périnucléaire liant les deux enveloppes nucléaires externe et interne.

Sachant que la lamina nucléaire est connectée au cytosquelette et au centrosome (via des protéines à domaine SUN appartenant au Complexe LINC) et à la chromatine (via les protéines à domaine LEM et le récepteur de la lamine B), nous avons émis l'hypothèse que l'absence de Dpy19l2 pourrait être à l'origine d'une perturbation de l'organisation du génome spermatique via son interaction avec la lamina nucléaire. Afin de confirmer ou infirmer cette hypothèse nous avons étudié l'organisation spatiale de la chromatine spermatique chez cinq patients ayant le phénotype de globozoospermie type 1 avec atteinte du gène *DPY19L2* et chez cinq donneurs de sperme sains, en utilisant l'hybridation in situ fluorescente tridimensionnelle (FISH-3D). La présente étude est la première à analyser l'organisation chromatinienne du génome spermatique chez les patients atteints de globozoospermie.

Cette étude montre une augmentation du nombre de chromocentres par rapport aux témoins, ainsi qu'une organisation spatiale altérée des régions télomériques et des territoires chromosomiques chez les patients déficitaires en Dpy19l2. Ces résultats renforcent l'hypothèse que Dpy19l2 pourrait être considérée comme une protéine de type LINC et jouerait un rôle crucial dans l'organisation de la chromatine nucléaire dans le noyau spermatique. Ces altérations architecturales du génome pourraient participer à l'arrêt précoce du développement embryonnaire observé après ICSI chez les patients ayant des anomalies du gène *DPY19L2*.

Pièce jointe : ABSTRACT FISH3D_ASSISES 2020_JMD.docx

FL20 : Le dépistage non invasif des trisomies fœtales par analyse de l'ADN libre circulant dans les situations de profil atypique des marqueurs sériques maternels**Auteurs :**

Maureen Lopez (1), Jean Michel Dupont (1), Alexandre Vivanti (2), Morgane Valentin (3), Hanane Bouchghoul (4), Pierre François Ceccaldi Carp (5), Jonathan Rosenblatt (6), Marie Isabelle Bornes (7), Lionel Carbillon (8), Jocelyn Brayet (9), Jean Louis Benifla (10), Marc Dommergues (11), Olivier Picone (12), Jean Marie Jouannic (13), Vassilis Tsatsaris (14), Jean Guibourdenche (15), laïla El Khattabi (1)

1. Plateforme de Dépistage Prénatal Non Invasif par analyse de l'ADN libre circulant, APHP.Centre Hôpital Cochin; Université de Paris, Institut Cochin U1016, Paris, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France; Université Paris-Sud, Orsay, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP Hôpital Bichat, Université Denis-Diderot-Paris VII, Paris, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP Hôpital Bicêtre, Université Paris Saclay, Le Kremlin Bicêtre, France
5. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP Hôpital Beaujon, Hôpitaux Universitaires Paris-Nord Val de Seine, Clichy, France ; Université Paris-Diderot, Université Sorbonne Paris-Cité, Paris, France
6. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP Hôpital Universitaire Robert-Debré, Paris, France
7. Service de Gynécologie-Obstétrique et de Médecine de la Reproduction, AP-HP Hôpital Universitaire Tenon, Paris, France
8. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP Hôpital Jean-Verdier, Bondy, France; Université Paris 13, Bobigny, France
9. Plateforme Bioinformatique MOABI, AP-HP, Paris, France
10. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP Hôpital Universitaire Lariboisière, Paris, France
11. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP Hôpital Universitaire Pitié-Salpêtrière- Charles Foix, Paris, France ; Université Sorbonne Paris-Cité, Paris, France
12. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP hôpital Louis Mourier, Colombes, France ; Université Paris Diderot, INSERM UMR1137, IAME, Paris, France
13. Département de Médecine fœtale, Pôle ORIGYNE.6, AP-HP Hôpital Armand Trousseau, Paris, France ; Université Sorbonne Paris-Cité, Paris, France
14. Maternité Port Royal, AP-HP Hôpital Cochin, Paris, France; Université de Paris ; INSERM UMR_S1139, Paris, France
15. Service d'Hormonologie, AP-HP Hôpital Cochin, Paris, France; Université de Paris ; INSERM UMR_S1139, Paris, France

Mots clefs : DPNI, ADNlc, Trisomie, MSM atypiques.

Résumé :

Depuis environ un an, le dépistage prénatal non invasif par analyse de l'ADN libre circulant (DPNI ADNlc) fait partie du schéma du dépistage prénatal de la Trisomie 21. Il est indiqué, en dépistage secondaire, dans les grossesses à risque modéré voire élevé ($\geq 1/1000$ après calcul par les marqueurs sériques maternels (MSM)) et, en dépistage primaire, dans les grossesses multiples et en cas d'antécédent de trisomie ou translocation robertsonienne parentale impliquant le 21. Des valeurs extrêmes de certains MSM (dites atypiques) seraient associées à un risque plus élevé de trisomies quel que soit le résultat du calcul de risque. Or, ces situations ne font pas partie des indications principales retenues pour la prise en charge du DPNI. Nous avons donc voulu évaluer l'apport du DPNI dans cette indication.

Nous avons mené une étude rétrospective incluant les grossesses singletons ayant eu un dépistage par ADNlc réalisé par la plateforme APHP de DPNI depuis son ouverture (en Mai 2017). Un résultat de MSM est considéré comme atypique lorsqu'il présente l'un des résultats suivants : PAPP-A $< 0,3\text{MoM}$, hCG β $< 0,3\text{MoM}$ ou hCG ou hCG β $> 5\text{ MoM}$. Le DPNI a été réalisée sur une Plateforme CE-IVD selon le protocole NIPT VeriSeq® (Illumina®). Les données cliniques comprenant les issues de grossesse ont été collectées et confrontées aux résultats du DPNI. Par ailleurs, nous avons analysé spécifiquement les situations d'échec à la recherche de la cause de l'échec.

Entre le 1^{er} Mai 2017 et le 1^{er} Octobre 2019, nous avons réalisé un DPNI pour 13604 patientes dans le cadre de grossesses singletons dont 548 étaient adressées pour un profil atypique de MSM avec un risque calculé $< 1/1000$ contre 10961 pour risque $\geq 1/1000$. Le taux de détection des trois trisomies communes dans ce groupe diffère significativement de celui du groupe des patientes ayant un risque calculé $\geq 1/1000$ avec un taux de détection de la Trisomie 21 qui est plus faible dans le groupe des MSM atypiques mais plus de 10 fois plus élevé pour les Trisomies 13 et 18 (0,75 % vs 0,07 % et 0,94 % vs 0,06 %, respectivement). Le taux d'échec était lui trois fois plus élevé dans le groupe des MSM atypiques (0,9 % contre 0,3 %).

Notre étude démontre l'intérêt du DPNI dans l'indication des MSM atypiques quel que soit le résultat du calcul de risque. Ces résultats préliminaires encouragent à poursuivre l'étude pour évaluer plus précisément les performances du DPNI dans cette indication et pouvoir justifier son ajout à la liste des indications prises en charge par l'assurance maladie.

Pièce jointe : Assises2020_abstract-DPNI&MSMatypiques-20191020.docx

FL21 : Caractérisation Clinique et Génomique du Syndrome Microdélétionnel 19p13.3**Auteurs :**

Guillaume Jouret (1), M. Egloff (2), E. Landais (3), O. Tassy (4), F. Giuliano (5), H. Karmous-Benailly (5), C. Coutton (6), F. Devillard (7), K. Dieterich (7), G. Vieville (7), P. Kuentz (8), C. Le Caignec (9), C. Beneteau (9), B. Isidor (9), M. Nizon (9), P. Callier (10), V. Marquet (11), E. Bieth (12), J. Lévy (13), AC Tabet (13), A. Philippe-Recasens (2), S. Lyonnet (2), G. Baujat (2), M. Rio (2), F. Cartault (14), S. Berg (14), S. Scheidecker (15), A. Gouronc (15), A. Schalk (15), C. Jacquin (3), E. Gouy (3), H. Thorn (3), M. Spodenkiewicz (3), C. Poirsier (3), C. Angélini (16), P. Pennamen (16), C. Rooryck (16), M. Doco-Fenzy (3)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Maison Blanche, CHU Reims, Reims, France
2. Génétique Médicale, Imagine, Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Génétique Médicale, CHU de Reims, Reims, France
4. , IGBMC, Strasbourg, Reims, France
5. Génétique Médicale, CHU de Nice, Nice, France
6. Génétique Médicale, CHU de Grenoble Alpes, Reims, France
7. Génétique Médicale, CHU de Grenoble Alpes, Grenoble, France
8. Génétique Médicale, PCBio, Besançon, Besançon, France
9. Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
10. Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
11. Génétique Médicale, CHU de Limoges, Limoges, France
12. Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
13. Génétique Médicale, CHU Robert-Debré, Paris, France
14. Génétique Médicale, CHU La Réunion, La Réunion, France
15. Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
16. Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Syndrome microdélétionnel 19p13.3 ; clinique ; région critique

Résumé :

Dans la littérature médicale, les données sur les remaniements de la région 19p13.3 sont rares. Or les délétions et les duplications de la région critique que nous avons précédemment décrite dans cette région semblent responsables d'une symptomatologie en miroir, associant chez des patients atteints de déficience intellectuelle des anomalies de croissance opposées. Tandis que les patients porteurs de duplications présentent un retard de croissance avec microcéphalie, les patients porteurs de délétions semblent présenter une macrocéphalie et pour certains une grande taille. Pour mieux caractériser le syndrome microdélétionnel 19p13.3, nous avons lancé un appel à collaboration via l'Association des Cytogénéticiens de Langue Française, et nous rapportons une cohorte de 11 nouveaux patients. Grâce à ce travail, nous avons participé à la meilleure caractérisation clinique et génomique de ce syndrome, et proposons des gènes candidats par intégration bio-informatique des données issues du modèle animal.

FL22 : Pseudohypoparathyroïdie : Distorsion du ratio de transmission maternelle des mutations perte de fonction de GNAS**Auteurs :**

Sarah Snanoudj-Verber (1), Arnaud Molin (1), Cindy Colson (1), Nadia Coudray (2), Sylvie Paulien (1), Hervé Mittre (2), Marion Gérard (1), Elise Schaefer (3), Alice Goldenberg (4), Justine Bacchetta (5), Odent Sylvie (6), Sophie Naudion (7), Bénédicte Demeer (8), Laurence Faivre (9), Marie-Laure Kottler (1), Nicolas Gruchy (1), Nicolas Richard (1)

1. Service de génétique, EA7450 BioTARGen, Normandie Univ, UNICAEN, CHU de Caen Normandie, Caen, France
2. Service de génétique, CHU de Caen, Caen, France
3. Service de génétique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service de génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Néphrologie, Rhumatologie et Dermatologie Pédiatrique, CHU de Lyon, Bron, France
6. Service de génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
7. Service de génétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
8. Service de génétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
9. Service de génétique, CHU de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Pseudohypoparathyroïdie, PHP1A, PPHP, GNAS, distortion du ratio de transmission, mutations perte de fonction

Résumé :

La PseudoHypoParathyroïdie de type 1A (PHP1A) et la PseudoPseudoHypoparathyroïdie (PPHP) sont deux maladies rares à transmission autosomique dominante provoquées par des mutations perte de fonction du gène *GNAS* soumis à empreinte, codant la protéine $G_{s\alpha}$. La PHP1A est causée par des mutations sur l'allèle maternel et entraîne une Ostéodystrophie Héritaire d'Albright (AHO) et une résistance à la PTH, tandis que la PPHP avec AHO et sans résistance hormonale est liée à des mutations de l'allèle paternel. Cette étude visait à étudier la transmission des mutations de *GNAS*. Nous avons mené une étude rétrospective sur un grand nombre de familles mutées *GNAS*. Pour éviter un biais de constatation en faveur d'une proportion plus élevée d'enfants affectés du à la manière dont les patients ont été inclus, les cas index faisant partie des fratrie de descendants ont été exclus. Le ratio de distribution des allèles mutés a été calculé à partir des génotypes observés chez des descendants de familles nucléaires et a été comparé au ratio attendu de 50% selon l'héritage mendélien (z-test à un échantillon). La transmission en fonction de la sévérité et du phénotype du parent transmettant de la mutation a également été analysée, ainsi que le sex ratio. L'étude a été réalisée sur 114 familles nucléaires et a inclus 250 descendants. Nous avons montré un excès de transmission maternelle d'allèles mutés (59%, $P=0,022$), d'autant plus important que les mutations étaient sévères (61,7%, $P=0,023$) et que l'allèle provenait de la grand-mère (64,7%, $P=0,036$). Une distribution mendélienne a été observée lorsque les mutations étaient héritées du père. Un déséquilibre du sex ratio en faveur des femmes a été observé parmi les porteurs, avec un sex ratio équilibré chez les descendants sains. La distorsion du ratio de transmission sexe-spécifique observée ici suggère un rôle de $G_{s\alpha}$ dans la biologie des ovocytes ou dans l'embryogenèse, avec des implications pour le conseil génétique.

FL23 : L'apport du séquençage d'exome dans la découverte de variations pharmacogénétiques en lien avec les traitements de l'épilepsie.**Auteurs :**

Simon Verdez (1, 2), Philippine Garret (1, 3), Emilie Tisserant (1), Antonio Vitobello (1, 4), Frédéric Thran Mau-Them (1, 2), Marc Bardoux (5), Juliette Albuissou (6), Céline Verstuyft (7), Patrick Callier (1, 8), Christelle Thauvin-Robinet (1, 2), Laurence Faivre (1, 4)

1. UMR1231 GAD, Inserm, Université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
2. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
3. Laboratoire CERBA, CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
4. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
5. CIC-EC, Université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
6. Département de Biologie et Pathologie des Tumeurs, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
7. Service de génétique moléculaire, pharmacogénétique et hormonologie, Hôpital Bicêtre, Groupe Hospitalier Paris-Sud, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre , Univ. Paris-Sud, Unité UMR 1184, Faculté de médecine , Dijon, France
8. Service de cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : pharmacogénomique pharmacogénétique CYP2C9 épilepsie encéphalopathie

Résumé :

Introduction : En sus de la recherche de variations pathogènes impliquées dans une pathologie, le séquençage d'exome peut permettre la recherche de variations secondaires ayant un lien avec la pharmacogénétique. Une intervention clinique adaptée pourrait donc améliorer la prise en charge des patients à risque iatrogène par la prévention en amont des troubles du métabolisme ou d'une intolérance médicamenteuse. Cela aurait pour effet l'éviction de nombreuses complications en lien avec des traitements en cours et/ou futurs.

Matériel et Méthodes : Afin d'évaluer l'intérêt de la recherche de l'information pharmacogénétique dans les données génomiques issues du séquençage d'exome, nous avons créé un pipeline bioinformatique pour déterminer le statut de 122 variations décrites et classées par PharmGKB ainsi que la présence de variations structurales sur ces gènes d'intérêts. Ce pipeline a été appliqué à une cohorte de 82 patients épileptiques afin de déterminer dans un premier temps la fréquence des variations pharmacogénétiques en lien avec un traitement antiépileptique. Dans un second temps, nous avons extrait l'information médicale pertinente en rapport avec les variations détectées. Nous avons finalement cherché à corréliser les réponses aux traitements prescrits à ces patients avec les variations pharmacogénétiques détectées.

Résultats : Étant donné leurs fréquences, seules les variations de classe 1 sont compatibles avec une pratique clinique. Dans notre cohorte, une seule variation de classe 1 du gène CYP2C9 et impliquée dans le métabolisme de la phénytoïne a été détectée. Un métaboliseur lent et treize métaboliseurs intermédiaires ont également été identifiés dans notre cohorte concernant cette molécule. Parmi les 82 patients de la cohorte, 19 ont reçu un traitement par phénytoïne intraveineuse. Durant leurs hospitalisations, ces patients ont été traités par un protocole standard (15mg/kg de dose de charge et 5mg/kg pour la dose d'entretien) et tous les patients identifiés comme métaboliseurs intermédiaires ont montré des concentrations plasmatiques supérieures à la concentration toxique (30 mg/L).

Conclusion : Ce travail démontre que la détermination du génotype CYP2C9 est possible à partir des données d'exome. Celle-ci pourrait anticiper le risque de surdosage causé par un métabolisme diminué. Malheureusement, les limites du séquençage d'exome ne permettent pas de mettre en évidence toutes les variations impliquées dans le métabolisme des molécules impliquées dans le traitement de l'épilepsie, une partie de celles-ci étant constituées de variations non-codantes. Le séquençage d'exome permet cependant d'extraire une partie de l'information pharmacogénétique en lien avec l'épilepsie, avec un impact sur la prise en charge du patient. Cette information pourrait être enrichie par l'utilisation d'autres approches génomiques telles que le séquençage de génomes.

FL24 : Etude de l'ARNm dans les anomalies constitutionnelles des gènes impliqués dans les cardiomyopathies héréditaires**Auteurs :**

Magalie LODIN (1), Flavie ADER (2), Céline LEDEUIL (3), Patricia REANT (4), Delphine DUPIN DEGUINE (5), Philippe CHARRON (6), Pascale RICHARD (2)

1. UF Cardiogénétique et Myogénétique Moléculaire et cellulaire , Hopitaux Universitaires de la Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, (F-75013), France, Hôpitaux Universitaires de la Pitié- Salpêtrière- Charles Foix , Paris, France
3. UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, (F-75013), France, Hôpitaux Universitaires de la Pitié- Salpêtrière- Charles Foix, Paris, France
4. Service de Cardiologie, Hôpital Haut-Lévêque, Pessac, France , Bordeaux, France
5. Service de génétique médicale , CHU Purpan , Toulouse, France
6. Département de Génétique , Hopitaux Universitaires de la Pitié Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Epissage, PAXgene, cardiomyopathie héréditaire, ARNm

Résumé :

Introduction : Les cardiomyopathies sont des maladies héréditaires de transmission autosomique dominante. Malgré une hétérogénéité génétique importante, le gène *MYBPC3* reste le gène majeur. Dans 2/3 des cas, le mécanisme mutationnel en cause dans *MYBPC3* est l'haploinsuffisance. Les variants touchant les sites canoniques d'épissage sont classiquement considérés comme pathogènes tandis que les variants affectant les séquences introniques flanquantes à ces sites sont considérés comme des variants de signification inconnue (VSI) en l'absence d'analyses fonctionnelles, telles que l'analyse de l'ARNm par RT-PCR ou minigènes.

L'analyse des ARNm du patient implique l'accès au tissu d'expression, ce qui est rare dans le cadre des cardiomyopathies. Ce travail a pour but d'étudier la faisabilité, et de valider l'analyse des transcrits à partir d'un prélèvement sur tube PAXgene et d'évaluer l'effet de certains variants génomiques sur l'épissage.

Patients : Quinze patients porteurs de variants identifiés par séquençage haut débit de panels de gènes de cardiomyopathies ont été inclus dans cette étude. Les variants sélectionnés sont introniques et exoniques et susceptibles d'induire une anomalie d'épissage : 12 variants dans le gène *MYBPC3*, 2 variants dans le gène *MYH7* et 1 variant dans le gène *FLNC*. Parmi ces variants, 2 touchent le nucléotide G en +5 du site donneur d'épissage, 4 sont exoniques (synonymes ou faux-sens), 7 sont situés dans une région intronique profonde, un altère possiblement le point de branchement et un pourrait altérer le site accepteur proche (-5).

Méthode : Les ARN totaux sont extraits à partir de lymphocytes issus d'un prélèvement veineux sur tube PAXgene ou d'une lignée lymphoblastoïde. Les ARNm issus de la transcription illégitime sont rétro transcrits par RT-PCR puis séquencés par la méthode de Sanger.

Résultats : Après optimisation de la technique, les séquences obtenues pour les variants dont la conséquence sur l'épissage était connue (n= 4) montrent un résultat similaire à celui attendu, validant ainsi la fiabilité de cette approche. Les résultats obtenus sur ARNm issus de Paxgene sont identiques à ceux obtenus avec les ARNm issus des lignées lymphoblastoïde, permettant une analyse plus rapide en s'affranchissant de l'étape d'immortalisation d'une lignée et facilitant les modalités préanalytiques en particulier de transport du sang.

Pour les variants (n= 11) dont la conséquence sur l'épissage était inconnue, l'analyse des ARNm a permis d'apporter une conclusion de l'impact des variants et ainsi de les classer comme probablement pathogènes ou probablement bénins.

Conclusion

L'analyse des ARNm à partir d'un tube PAXgene permet une étude fiable et facilitée des transcrits cardiaques en se soustrayant de la contrainte d'accès au tissu d'expression. Les variants de classification inconnue ont pu être reclassés, améliorant ainsi le diagnostic moléculaire, le conseil génétique et permettant une meilleure prise en charge des familles.

FL25 : La génétique de susceptibilité des maladies communes dans la pratique clinique. La régulation clinique des tests des thrombophilies non-rares (TNR) dans la prédiction/prévention de la maladie thromboembolique veineuse (MTEV)**Auteurs :**

Mauro TURRINI (1), Catherine BOURGAIN (2)

1. , Université de Nantes, Nantes, France

2. CERMES3, INSERM, Paris, France

Mots clefs : Maladies complexes ; Maladie thromboembolique veineuse (MTEV) ; Thrombophilies non-rares (TNR) ; tests prédictifs ; prévention primaire et secondaire

Résumé :

Introduit au lendemain de l'identification des TNR, au milieu des années 90 afin de prédire et de prévenir la maladie thromboembolique veineuse (MTEV), le bilan génétique pour les « thrombophilies non-rares » (TNR) est un exemple assez rare de test génétique de susceptibilité pour une maladie complexe à avoir franchi le pas d'un véritable usage de routine en clinique. Bien que ce test soit le plus répandu des tests de génétique post-natale en France, son usage fait encore l'objet de controverse médicale.

Cet article esquisse la trajectoire de sa régulation clinique et illustre l'importance du contexte spécifique d'usage pour comprendre sa diffusion.

Cette analyse vise à nourrir une réflexion plus générale sur les enjeux que pose l'intégration clinique des tests génétiques pour les maladies communes, en considérant notamment les modalités de définition de l'utilité clinique d'un test (statistique vs biologique), des sujets du test (le cas index vs ses apparentés), et des critères en sous-tendant l'accès (modalités des calculs médico-économiques).

FL26 : Des mutations rares du gène du Récepteur à la Prostacycline identifiées dans des patients de Dysplasie Fibromusculaire et de Dissection Spontanée de l'Artère Coronaire**Auteurs :**

Adrien Georges (1), Juliette Albuissou (2), Takiy Berrandou (1), Délia Dupré (1), Valentina D'Escamard (3), Aurélien Lorthioir (2), Patrick Bruneval (1, 4), Antonio Di Narzo (3), Daniella Kadian-Dodov (3), Jeffrey Olin (3), Ewa Warchol (5), Alksander Prejbisz (5), Andrzej Januszewicz (6), David Adlam (7, 8), Nicolas Combaret (9), Pascal Motreff (9), Eleni Giannoulatou (10), Robert Graham (10), Laurence Amar (2), Michel Azizi (2), Heather Gornik (11), Santi Ganesh (12), Jason Kovacic (13), Xavier Jeunemaitre (1, 2), Nabila Bouatia-Naji (1)

1. PARCC/HEGP, Université de Paris, Paris, France
2. Centre de référence de maladies vasculaires rares, AP-HP, Paris, France
3. Icahn School of Medicine, Mount Sinai General Hospital, New-York, Etats-Unis
4. Service d'Anatomo-Pathologie, HEGP, AP-HP, Paris, France
5. Department of Hypertension, Institute of Cardiology, Warsaw, Pologne
6. Department of Hypertension, Institute of Cardiology, Warsaw, France
7. Department of Cardiovascular Sciences, Glenfield Hospital, Leicester, Royaume Uni
8. National Institute for Health Research (NIHR) Leicester Biomedical Research Centre, Glenfield Hospital, Leicester, Royaume Uni
9. Département de Cardiologie, Hôpital Universitaire Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
10. Molecular Cardiology and Biophysics Division, Victor Chang Cardiac Research Institute, Sidney, Australie
11. Department of Cardiovascular Medicine, Heart and Vascular Institute, Cleveland Clinic, Cleveland, Etats-Unis
12. Michigan Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Etats-Unis
13. Icahn School of Medicine, Mount Sinai General Hospital, New-York, France

Mots clefs : Dysplasie Fibromusculaire, Dissection Spontanée de l'Artère Coronaire, mutations rares, prostacycline

Résumé :

Background: Fibromuscular Dysplasia (FMD) and Spontaneous Coronary Artery Dissection (SCAD) are non-atherosclerotic arterial diseases predominantly affecting women. Little is known about their physiopathology mechanisms.

Objectives: We aim at identifying genetic causes to elucidate molecular mechanisms impaired in FMD and SCAD.

Methods: We analyzed 30 exome sequencing datasets that include familial and sporadic FMD cases and applied *in silico* prioritization tools. Follow-up was conducted by targeted or Sanger sequencing (1,071 FMD and 365 SCAD patients) or lookups in exome (264 FMD) or genome sequences (520 SCAD), all independent and unrelated. TRAPD burden test was used to test enrichment in patients compared to gnomAD. The biological effects of rare variants on receptor signaling and protein expression were characterized using transient overexpression in human cells.

Results: We identified a shared rare loss-of-function (LoF) variant ($MAF_{gnomAD}=0.000075$) by an FMD sibling in the prostaglandin I2 receptor (IP) gene (*PTGIR*), a key player in vascular remodeling that was ranked as the top candidate from the *in silico* prioritization. Screening or lookup in >1,300 FMD patients revealed four additional LoFs alleles carriers and a putative enrichment in FMD ($P_{TRAPD}=4\times 10^{-6}$), in addition to several rare missense variants. We confirmed the LoFs (Q163X and P17RfsX6) and 1 missense (L67P) to severely impair IP function *in vitro*. Genetic analyses of *PTGIR* in SCAD revealed one patient who carries Q163X, one with L67P and a one carrying a rare and novel splicing variant (c.768+1C>G).

Conclusions: Our study shows that rare genetic defaults in *PTGIR* are putative causes of FMD and SCAD providing evidence for prostacyclin signaling in non-atherosclerotic stenosis and dissection.

Pièce jointe : Abstract Ass Gén 2020.docx

FL27 : Révision des variants identifiés dans le cadre du diagnostic moléculaire dans les cardiomyopathies hypertrophiques : Conséquences dans la prise en charge familiale.**Auteurs :**

Flavie ADER (1, 2), Adrien BORGEL (2), Alexandre MOERMAN (3), PATRICIA REANT (4), Caroline ROORYCK-THAMBO (5), Philippe CHARRON (6, 7), Pascale RICHARD (8)

1. Faculté de Pharmacie, Université de Paris, Paris, France
2. Service de Biochimie Métabolique, UF cardiogénétique, APHP-HU Pitié Salpêtrière Charlesfoix, Paris, France
3. Service de génétique, CHRU Lille, Lille, France
4. Service de Cardiologie, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
5. Service de génétique, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
6. Centre de référence pour les maladies cardiaques héréditaires, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
7. INSERM, UMR_S 1166, Sorbonne Université, PARIS, France
8. Service de Biochimie Métabolique, UF cardiogénétique, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

Mots clefs : NGS, cardiomyopathie hypertrophique, révision diagnostic, diagnostic pré-symptomatique

Résumé :**Introduction**

Les cardiomyopathies hypertrophiques sont des maladies de transmission majoritairement autosomique dominante. Le premier gène MYH7 impliqué dans cette maladie a été mis en évidence en 1989, depuis le spectre moléculaire s'est étendu à une vingtaine de gènes dont 5 gènes représentent 90% des patients mutés. Lorsqu'un variant causal est identifié chez un cas index, un génotypage est proposé aux apparentés et un suivi cardiologique est alors réalisé chez les porteurs du variant.

Avant l'utilisation du séquençage haut débit seuls les 5 gènes majeurs étaient séquencés. Dans les cardiomyopathies (CM), la fréquence allélique des variants potentiellement causaux doit être $< 0.01\%$ (Walsh, 2017). L'accès aux bases de données de populations (GnomAD) nous a amené à reclassifier des variants considérés préalablement pathogènes. Le but de ce travail a été d'évaluer l'intérêt du re-séquençage d'un panel de gènes de CM chez des patients porteurs de variants dont la pathogénicité est remise en cause.

Patients et méthodes

142 familles porteuses d'un des 17 variants initialement interprétés pathogènes ont été sélectionnées. Pour 46 d'entre elles, du diagnostic pré-symptomatique (DPS) avait été réalisé et elles ont donc bénéficié du séquençage d'un panel de 51 gènes de cardiomyopathies. Les variants pathogènes ou probablement pathogènes ont été retenus pour l'analyse. Les apparentés ont été testés en séquençage Sanger pour ces variants.

Résultats

Une autre cause moléculaire certaine/probable a été retrouvée dans 15 familles (32%). Les nouveaux variants ont été identifiés dans 12 gènes non testés au moment du 1^{er} diagnostic. Parmi les patients porteurs de variants récurrents, aucun variant commun n'a été identifié. Ces résultats sont cohérents avec l'hétérogénéité génétique et allélique de la maladie. Aucun variant causal n'a été retrouvé chez 31 de ces cas index.

Concernant les apparentés (43 individus), parmi 22 DPS négatifs réalisés, 14 ne sont porteurs d'aucun nouveau variant et le suivi cardiaque n'est pas modifié. Huit sont porteurs du nouveau variant et une reprise du suivi cardiaque leur est proposée. Pour les 21 patients positifs pour le premier variant incluant 18 DPS, 13 sont porteurs du nouveau variant causal et le suivi cardiologique n'a pas été modifié. Huit DPS sont indemnes du nouveau variant et leur suivi cardiaque a été levé.

Dans les familles dans lesquelles aucun nouveau variant n'a été identifié, un suivi cardiologique a été proposé aux apparentés de premier degré comme dans toute famille non génotypée.

Conclusion :

La réanalyse des cas index porteurs de variants remis en cause par séquençage haut débit a permis d'identifier une nouvelle cause moléculaire dans 1/3 des cas. La prise en charge cardiologique de ces patients et leurs apparentés a été adaptée selon ces nouveaux résultats. Ce travail montre l'intérêt de la révision moléculaire dans le cadre des cardiomyopathies afin d'adapter la prise en charge des patients et de leur famille.

FL28 : Spectre génétique de la dyskinésie ciliaire primitive en Tunisie et identification d'un allèle majeur Méditerranéen**Auteurs :**

Rahma MANI (1, 2), Sabrina BELKACEM (1), Zohra SOUA (2), Sandra CHANTOT (3), Guy MONTANTIN (1), Sylvie TISSIER (1), Bruno COPIN (4), Jihen BOUGUILA (5), Nicolas RIVE LE GOUARD (1), Lamia BOUGHAMOURA (5), Salma BEN AMEUR (6), Mongia HACHICHA (6), Raoudha BOUSSOFFARA (7), Khadija BOUSSETTA (8), Samia HAMOUDA (9), Abir BEDOUI (5), Habib BESBES (10), Seif MEDDEB (8), Karima CHRAEIT (11), Monia KHLIFA (12), Estelle ESCUDIER (1), Serge AMSELEM (1), Imed MABROUK (2), Marie LEGENDRE (1)

1. U.F. de Génétique Moléculaire,, Hôpital Trousseau, Paris, F-75012, France
2. Unité de Recherche UR14ES19,, Faculté de Médecine de Sousse, Sousse, 4002, Tunisie
3. UF de Génétique Chromosomique, Hôpital Trousseau, Paris, F-75012, France
4. U.F. de Génétique Moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris, F-75012, France
5. Service de Pédiatrie,, CHU Farhat HACHED, Sousse, 4002, Tunisie
6. Service de Pédiatrie,, CHU Hedi CHAKER, Sfax, 3089, Tunisie
7. Service de Pédiatrie,, CHU Tahar SFAR, Mahdia, 5100, Tunisie
8. Département de Pédiatrie B,, Hôpital Béchir HAMZA, Tunis, 1006, Tunisie
9. Département de Pédiatrie B, Hôpital Béchir HAMZA, Tunis, 1006, Tunisie
10. Service de Pédiatrie,, CHU Fattouma BOURGUIBA, Monastir, 5000, Tunisie
11. Service de Pédiatrie,, CHU Mohamed TLATLI, Nabeul, 8000, Tunisie
12. Service de Pédiatrie,, Hôpital Régional MSAKEN, Msaken, 4070, Tunisie

Mots clefs : dyskinésie ciliaire primitive, syndrome de Kartagener, cils, effet fondateur, CCDC39

Résumé :

La dyskinésie ciliaire primitive (DCP) est une ciliopathie héréditaire rare (1/20 000 à 1/2 000 naissances selon les populations) et génétiquement hétérogène (plus de 40 gènes impliqués). Cette maladie est due à un défaut de mobilité des cils mobiles (cils de l'épithélium respiratoire, du tractus génital féminin, cil nodal) et du flagelle des spermatozoïdes. Ce défaut entraîne une altération de la clairance mucociliaire (infections chroniques des voies respiratoires hautes et basses), un défaut de latéralisation des organes (*situs inversus*) chez 50% des patients et fréquemment une hypofertilité masculine (asthénospermie) et féminine (défaut de mobilité des cils tubaires).

Le spectre mutationnel actuel de la DCP a principalement été étudié chez des patients d'origine européenne; il existe notamment peu de données concernant les patients Nord-Africains. L'objectif de l'étude d'une cohorte de patients tunisiens était double: i), confirmer par la génétique moléculaire le diagnostic suspecté cliniquement (score PICADAR) et ii) explorer le spectre génétique de la DCP dans cette population.

Quarante patients (34 familles) avec forte suspicion clinique de DCP ont été recrutés au sein de 8 départements de pédiatrie tunisiens. Pour chaque cas index, les 42 gènes de DCP ont été séquencés par un panel ciblé.

L'étude des 42 gènes a identifié des mutations bi-alléliques dans 82% (28/34) des familles. Les mutations ont été mises en évidence dans huit gènes connus: *CCDC39* (44%), *DNAH5* (12%), *HYDIN* (9%), *TTC25* (6%), *DRC1* (3%), *DNAI1* (3%), *CCDC151* (3%) et *RSPH9* (3%). Le spectre des gènes impliqués chez les patients tunisiens étudiés est très différent de celui décrit dans la littérature. En effet, les 5 gènes décrits comme les plus fréquemment impliqués – au sein de populations majoritairement d'origine européenne – sont: *DNAH5* (19%), *DNAH11* (9%), *CCDC40* (8,5%), *CCDC39* (7%) et *DNAI1* (6,5%).

Près d'un quart (23,5%) des patients tunisiens indépendants portaient la mutation c.2190del de *CCDC39*. La cartographie par puce SNP du locus *CCDC39* chez 6 patients Nord-Africains (deux Tunisiens, deux Algériens et deux Marocains) non apparentés et porteurs de c.2190del a révélé un fragment chromosomique ancestral commun (1,9 à 3,7 Mb) confirmant l'effet fondateur. En utilisant la méthode du déséquilibre de liaison «Gamma», nous avons estimé que l'ancêtre commun le plus récent porteur de c.2190del a vécu au moins 1400 à 1750 ans plus tôt.

L'identification de cet allèle majeur nous permet de proposer une stratégie de diagnostic génétique pour les patients Nord-Africains présentant des signes cliniques très évocateurs de DCP. Une première étape de criblage de la mutation fondatrice c.2190del par PCR-RFLP (abolition d'un site de restriction *MbolI*) permettrait de confirmer le diagnostic chez un quart des patients. Dans un second temps, l'exploration des 42 gènes de DCP par une approche NGS pourrait élucider jusqu'à 80% des cas avec forte suspicion clinique.

Pièce jointe : assises_2020_rahma_V3_ML.pdf

EF01 : Le partage des données, une étape cruciale dans l'identification de nouveaux gènes impliqués dans les déficiences intellectuelles et/ou anomalies du développement : Retour d'expérience après 5 ans d'utilisation de Genematcher

Auteurs :

Ange-Line Bruel (1, 2), Antonio Vittobello (1, 3), Frédéric Tran Mau-Them (1, 3), Anne-Sophie Denommé-Pichon (4, 5), Sophie Nambot (1, 6), Virginie Quéré (1, 3), Julien Thevenon (1, 6), Patrick Callier (1, 3), Sébastien Moutton (1, 7), Arthur Sorlin (8, 9), Christophe Philippe (1, 3), Christel Thauvin-Robinet (1, 6), Laurence Fèvre (1, 6)

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. UMR1231 GAD, Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
5. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU DIJON, Dijon, France
6. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France
7. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
8. UMR1231 GAD, Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
9. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du Développement et syndromes malformatifs », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, CHU DIJON, Dijon, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, Genematcher, exome, partage de données

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 de 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 de ces 5 dernières années, nous avons partagé 224 gènes incluant 215 gènes candidats et 9 gènes précédemment associés à une pathologie humaine.

Dans 80% des cas (179/224 gènes), un match a lieu et les échanges et les corrélations génotype/phénotype qui en ont découlé ont clairement permis de confirmer la pathogénicité du gène candidat dans 91/179 cas (50%). Plus de la moitié d'entre eux sont des variations *de novo* (73.6%) et/ou des variations à l'origine de l'apparition d'un codon stop prématuré (52.7%), témoignant une plus grande facilité à impliquer des variations sporadiques et pertes de fonction dans les pathologies humaines. La récurrence limitée des autres gènes candidats n'a actuellement pas encore permis de conclure sur leur causalité. 45/224 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. Récemment, le partage de gènes morbides connus montre également un intérêt afin de mieux caractériser des pathologies peu décrites, d'élargir le spectre clinique précédemment décrit, voire de mettre en évidence de nouveaux phénotypes/pathologies associés à un même gène. Depuis 2015, le nombre croissant d'utilisateurs de Genematcher et de soumissions a permis d'augmenter significativement le nombre de match et les chances de matcher, ainsi que la rapidité des échanges entre deux équipes et de la mise en place des collaborations internationales qui seront ensuite valorisés par des publications scientifiques.

En conclusion, Genematcher apparaît comme un outil rapide et essentiel à l'interprétation des variations de signification inconnues identifiées par SHD dans des gènes candidats ou morbides. Le partage de données constitue désormais une étape incontournable dans le processus d'identification de nouveaux gènes dans les anomalies du développement et/ou déficiences intellectuelle.

EF02 : Optimisation de l'analyse de séquençage d'exome chez les patients avec déficience intellectuelle et anomalies du développement: du trio au pool parental

Auteurs :

Frédéric Tran Mau-Them (1, 2), Sebastien Moutton (3, 2), Caroline Racine (3), Antonio Vitobello (2, 1), Ange-Line Bruel (2, 1), Sophie Nambot (3, 2), Daphne Lehalle (2), Nolwenn Jean (3), François Lecoquierre (1), Julian Delanne (3), Julien Thevenon (2), Charlotte Poe (1), Thibaud Jouan (2), Martin Chevarin (2), Marjolaine Willems (4), Christine Coubes (4), David Genevieve (4, 5), Nada Houcinat (3), Alice Masurel (3), Anne-Laure Mosca-Boidron (6), Emilie Tisserand (2), Patrick Callier (6), Arthur Sorlin (7), Yannis Duffourd (8), Laurence Faivre (3, 2), Christophe Philippe (6, 1), Christel Thauvin (9, 2)

1. Unité Fonctionnelle d'Innovation diagnostique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
2. Inserm - Université de Bourgogne UMR1231 GAD, CHU Dijon, Dijon, France
3. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du Développement et syndrome malformatifs » de l'Est, CHU Dijon, Dijon, France
4. Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs ADSOOR, CHU Montpellier, Montpellier, France
5. Unité Inserm U1183, CHU Montpellier, Montpellier, France
6. Laboratoire de Cytogénétique et Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
7. Service de génétique médicale, CHU Nancy, Nancy, France
8. Service de Génétique des Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
9. Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Stratégie d'exomes, exomes trio, pool parentaux, anomalie du développement, déficience intellectuelle

Résumé :

Les anomalies du développement et la déficience intellectuelle (AD/DI) présentent une large hétérogénéité clinique et génétique. Elles atteignent environ 3% de la population et sont majoritairement d'origine génétique. Le séquençage de nouvelle génération - en particulier le séquençage d'exome (ES) - est devenu une stratégie de premier plan pour identifier les causes moléculaires de ces maladies. L'ES approche un taux diagnostique moyen d'environ 30% en solo (sES) et d'environ 40% en trio (tES) après ACPA normale. Cependant, le tES représente un surcoût important pour un laboratoire souhaitant déployer l'ES en routine diagnostique. Nous avons ainsi évalué de nouvelles approches afin d'optimiser l'ES.

Au cours des 7 dernières années, nous avons réalisé un sES chez 1592 patients atteints d'AD/DI avec un taux diagnostique de 33%. Afin d'améliorer ce taux, nous avons testé l'intérêt de réaliser un tES en seconde intention (avec séquençage des parents sans reséquençage du cas index) chez 70 patients avec sES négatifs. Cette stratégie a posé un diagnostic positif chez 18/70 patients (26%), impliquant 18 gènes (9 gènes OMIM-morbides et 9 gènes candidats dont certains récemment impliqués en pathologie humaine), et identifié des variations de signification inconnue (VSI) dans 11 gènes chez 10/70 patients (14%).

Fort de ce gain conséquent, nous avons alors testé une stratégie de séquençage avec pools parentaux pour diminuer les coûts de séquençage et permettre ainsi une implémentation en première intention du séquençage parental. En preuve de principe, les ADN de 6 couples de patients présentant différentes variations pathogènes connues ont été regroupés en 2 pools : 1 pool maternel et 1 pool paternel. La profondeur moyenne de séquençage était de 103X et 100X pour les pools paternels et maternels. La représentation allélique théorique d'une variation dans le pool était de 8.3% (1/12).

Nous avons appliqué cette stratégie rétrospectivement (57 patients avec sES négatifs) et prospectivement (122 patients). En rétrospectif, cette stratégie a conduit à un taux de diagnostics supplémentaires de 21% - proche de la stratégie d'ES trio avec séquençage parental secondaire - et d'identification de VSI de 28%. En prospectif, le taux de diagnostics positifs était de 33%, avec un taux de VSI de 16%. Nous avons par ailleurs confirmé l'implication de 6 nouveaux gènes en pathologie humaine chez 7/179 patients (4%).

En conclusion, chez les patients avec AD/DI, l'ES en trio de seconde intention présente un intérêt indéniable en diagnostic et en recherche translationnelle (analyse de gènes non OMIM), grâce à la ségrégation parentale rapide des variations génétiques. Une stratégie d'ES avec pools parentaux représente une alternative économique intéressante puisqu'elle combine une amélioration du taux diagnostique par rapport à l'ES solo, une diminution des coûts de séquençage parental par rapport à l'exome trio et une extension plus facile en recherche translationnelle.

EF03 : Utilisation de la technologie de séquençage de troisième génération pour la reconstruction des séquences nucléotidiques issues d'un chromothripsis

Auteurs :

Simon Verdez (1, 2), Yannis Duffourd (1, 3), Emilie Tisserant (1), Alexandre Plagos (1), Frédéric Thran Mau-Them (1, 2), Christophe Phillippe (1, 2), Christelle Thauvin-Robinet (1, 2), Laurence Faivre (1, 3), Patrick Callier (1, 4), Damien Sanlaville (5, 6), Antonio Vitobello (1, 3)

1. UMR1231 GAD, Inserm, Université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
2. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
3. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
4. Service de cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
5. Hospices Civils de Lyon, Service de Génétique, CHU de Lyon, Lyon, France
6. Equipe GENDEV INSERM U1028, CNRS, UMR5292, Lyon, Lyon, France

Mots clefs : Séquençage de troisième génération , Lectures longues , Chromothripsis

Résumé :

Le chromothripsis est un remaniement chromosomique massif caractérisé par un processus de ré-assemblage brutal et aléatoire. Ce remaniement a pour conséquence la production de plusieurs chromosomes dérivés. Ces nouveaux chromosomes sont constitués de plusieurs blocs issus des chromosomes natifs. Ces remaniements peuvent être associés à des maladies génétiques rares et restent souvent mal caractérisés. L'apport du séquençage à haut-débit de seconde génération n'est pas suffisant pour résoudre cette problématique: la faible taille des lectures et les besoins d'amplification de la méthode sont des biais qui ne permettent que rarement l'analyse moléculaire de cas de chromothripsis. Ainsi, les technologies de séquençage de troisième génération sont des outils prometteurs pour résoudre ce genre de "casse-tête moléculaire", qui consistera ici en la reconstitution des blocs consécutifs aux chromothripsis.

Nous avons séquençé 2 patients atteints de déficience intellectuelle à l'aide de lectures courtes (SR) d'une profondeur moyenne de 30X et par lectures longues (LR) sur un instrument de type Sequel (Pacific Bioscience) à une profondeur moyenne de 20X, afin de reconstruire les séquences ayant subi un remaniement suite au chromothripsis. Nous avons choisi d'utiliser 3 assembleurs (Falcon, Canu et Wtdbg2) afin de reconstruire les chromosomes dérivés issus des chromothripsis. Lors de ces analyses, nous avons également testé différentes méthodes pour améliorer la qualité des données, telles que la correction des LR par les SR.

Nous avons ainsi réussi à isoler 54 blocs consécutifs aux chromothripsis pour le premier patient et 39 pour le second. Les points de cassure les plus prometteurs seront validés par PCR, séquençage Sanger et/ou FISH. Les méthodes permettant d'améliorer les données par correction des LR apportent une réelle amélioration dans la reconstruction du chromothripsis et dans la détection des remaniements génomiques. Les points de cassure détectés présentent une précision plus importante lors de l'utilisation de cette méthode, cette différence de précision est obtenue grâce à un pourcentage d'identité moyen supérieur à 99 % après correction contre 85 % au départ.

EF04 : Séquençage de génome à SeqOIA et AURAGEN: évaluation des performances et limitations de l'examen en vue de l'accréditation

Auteurs :

Pierre BLANC (1), Chrystel LEROY (2), Yasmine ZERDOUMI (1), Sylvain DUGAT (2), Jérémy BERTRAND (1), Lucas RAMON (2), Anne-Christine WAYMEL (1), anne THOMAS (1), Damien SANLAVILLE (1), Michel VIDAUD (2)

1. , AURAGEN, LYON, France

2. , SeqOIA, PARIS, France

Mots clefs : séquençage de génome, validation de méthode, accréditation

Résumé :

Les Laboratoires de Biologie Médicale Multi-Sites (LBMMS) AURAGEN et SeqOIA, ouverts en mai 2019 par leur ARS respectives, entrent en phase de production diagnostique à l'automne 2019, avec une perspective d'accréditation selon la Norme NF EN ISO 15189 courant 2020.

De manière prévisionnelle, le premier examen soumis à l'accréditation par ces laboratoires sera le séquençage de génome entier en constitutionnel.

Conformément aux exigences de la Norme 15189, une validation de la méthode analytique a été réalisée avant la mise en production de l'examen, de sorte à évaluer ses performances mais également à cerner ses limitations. Cette étape constitue un temps essentiel. D'une part, elle permet aux laboratoires d'accéder à la compréhension intime et à la maîtrise technique de l'examen qu'ils proposent. D'autre part, elle est vectrice de transparence et forme le socle de la confiance qu'un prescripteur peut accorder à un examen ainsi qu'aux laboratoires qui le réalisent.

Choix analytiques retenus par SeqOIA et AURAGEN, variabilité intrinsèque du séquençage de génome entier, approche des seuils de validation technique et des limites techniques, choix des cibles diagnostiques, sensibilité analytique, résultats de l'évaluation externe de la qualité (EEQ), cette communication passe en revue un certain nombre de problématiques, tout autant techniques et que médicales, rencontrées à l'occasion de la validation de la méthode du génome entier.

EF05 : SANS DIAG : étude sur le parcours médico-social des patients atteints ou suspectés d'une maladie rare avec anomalie du développement.

Auteurs :

Laure Wallut (1), Christine Peyron (1), Gwendoline Giot (2), Laëtitia Domenighetti (3), Magali Padre (4), Sylvie Odent (5), Laurence Faivre (6), Aurore Pélissier (1)

1. Laboratoire d'Economie de Dijon, Université de Bourgogne, Dijon, France
2. Filière AnDDI-Rares, CHU d'Angers, Angers, France
3. Filière AnDDI-Rares, AP-HP, Paris, France
4. , Association Sans Diagnostic et Unique, Etagnac, France
5. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs, Filière AnDDI-Rares , CHU de Rennes, Rennes, France
6. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs, Filière AnDDI-Rares , CHU de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Sans diagnostic , prise en charge médicale , handicap , inégalités , accès.

Résumé :

Les maladies rares sont des pathologies invalidantes qui nécessitent une prise en charge spécialisée et des soins réguliers et coûteux (DGOS 2016). Un enjeu majeur pour le patient, parallèlement à l'accès au diagnostic, est donc la reconnaissance sociale des incapacités liées à sa pathologie. Le droit à la compensation du handicap (Loi handicap 2005) doit permettre au patient de demander la prise en charge par la collectivité de ses frais de soins, d'accompagnement à la scolarité, etc.

Parcours médical et social du patient sont liés dès lors que le diagnostic est la « clé d'accès » (Eurordis, 2016) à la prise en charge médicale et sociale. Dans ce contexte, les patients « sans diagnostic » pourraient constituer une population singulière puisque leur entrée dans la prise en charge tant médicale que sociale pourrait être retardée (Eurordis 2016).

L'équipe d'économie de la santé du Laboratoire d'Economie de Dijon et la filière AnDDI-Rares mènent une étude sur le parcours médico-social des familles d'enfants (<10ans) atteints d'une maladie rare du développement afin de connaître les spécificités du parcours des patients « sans diagnostic », leurs besoins et difficultés, particulièrement dans l'accès à la reconnaissance du handicap.

Cette étude vise à répondre à trois types d'interrogations :

- Sur les parcours médico-sociaux : sont-ils homogènes ? S'ils varient, peut-on distinguer des parcours-types ? Peut-on mettre en évidence des facteurs explicatifs (modalités de prise en charge, maladie, caractéristiques de la famille) ? Peut-on relier parcours médical et social ? Le premier influence-t-il l'accès à la reconnaissance du handicap ?
- Sur les besoins des familles : identifier les besoins ressentis, exprimés et satisfaits ou non et les difficultés dans les parcours.
- Sur la possibilité que certaines familles ne recourent pas à la reconnaissance du handicap : identifier, quantifier et caractériser les situations de non recours.

L'étude repose sur une enquête par questionnaire en ligne réalisé en conformité avec la MR-004 (CNIL). Les étapes et le calendrier sont : revue bibliographique et construction de l'étude (11/18 - 08/19) ; Diffusion du questionnaire (10/19 à 02/20) ; Analyse et traitement des données (12/19 à 12/20) ; Rapport final (10/19 à 12/20) ; Diffusion de l'étude (communications orales, écrites, publication) (09/19 à 12/21).

Les premiers résultats permettront de caractériser le parcours des patients atteints ou suspectés d'une maladie et de confirmer la pertinence d'analyser au-delà d'une enquête exploratoire les trois champs d'interrogation ci-dessus formulés.

DGOS. 2016. « Plan France médecine génomique 2025 ».

Eurordis. 2009. « The voice of 12,000 patients. Experiences and expectations of rare disease patients on diagnosis and care in Europe ».

———. 2016. « Recommandations conjointes internationales pour répondre aux besoins particuliers des patients atteints de maladies rares non diagnostiquées ».

EF06 : Données secondaires et enjeux psychologiques chez les parents d'enfants atteints d'anomalies du développement. Point d'étape de l'étude FIND.

Auteurs :

Françoise HOUDAYER (1, 2), Françoise HOUDAYER (1), Aline CHASSAGNE (3, 4), Stéphanie STARACI (5, 6), Amandine CADENES (7), Gaetan LESCA (8), Audrey PUTOUX (8), Linda PONS (8), Sophie DUPUIS-GIROD (8), Marianne TILL (8), Carine ABEL (8), Patrick EDERY (9, 10), Massimiliano ROSSI (8, 10), Audrey LABALME (10), Nicolas CHATRON (10), Alice POISSON (11), Aurore PELLISSIER (12, 13), Dominique SALVI (12), Anne FAUDET (14), Myrtille SPENTCHIAN (14), Boris KEREN (14), Meriem YOUSFI (15), Julien BURATTI (14), Cédric MIGNOT (14), Alexandra AFENJAR (14), Sandra WHALEN (14), Perrine CHARLES (14), Solveig HEIDE (14), Linda MOUTHON (14), Elodie GAUTIER (15), Amandine BAUDRAND (15), Caroline SAWKA (15), Geoffrey BERTOLONE (16), Christel THAUVIN-ROBINET (17, 18), Antonio VITO BELLO (17), Anne-Sophie DENOMME PICHON (17), Christophe PHILIPPE (17, 15), Frédéric TRAN MAU THEM (15), Sébastien MOUTTON (15), Arthur SORLIN (15), Sophie NAMBOT (15), Christine BINQUET (19), Christine PEYRON (20), Delphine HERON (14), Damien SANLAVILLE (21, 10), Laurence FAIVRE (17, 18)

1. Génétique clinique, Hospices civils de Lyon, BRON, France
2. PCPP, Université de Paris, , F-92100 Boulogne-Billancourt, France
3. CIC INSERM 1431, CHRU Besançon, Besançon, France
4. Laboratoire de Sociologie et d'Anthropologie (LaSA, EA3189), Université de Bourgogne, Franche-Comté, Besançon, France
5. Génétique Clinique , GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
6. Laboratoire PCPP, Université René Descartes, Paris, France
7. Génétique Clinique , Hospices civils de Lyon, Bron, France
8. Génétique clinique, Hospices civils de Lyon, Bron, France
9. Génétique Clinique , HCL Lyon, LYON, France
10. INSERM U1028 CNRS UMR5292 CNRL GENDEV Team , Université Claude Bernard Lyon 1 , Bron, France
11. Centre de Référence Maladies Rares GénoPsy, CH Le Vinatier, Bron, France
12. Laboratoire d'Économie de Dijon (LEDI), EA7467, Université de Bourgogne, Franche-Comté, Besançon, France
13. FHU TRANSLAD et équipe GAD , INSERM UMR 1231, Franche-Comté, Dijon, France
14. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, GH APHP, Paris, France
15. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Franche-Comté, Dijon, France
16. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, GH APHP, Franche-Comté, Dijon, France
17. FHU TRANSLAD et équipe GAD , CHU Dijon, Franche-Comté, Dijon, France
18. Centre de Référence Anomalies du Développement, CHU Dijon, Franche-Comté, Dijon, France
19. 12 INSERM CIC-EC 1432, CHU Dijon, Franche-Comté, Dijon, France
20. Laboratoire d'Économie de Dijon (LEDI), EA7467, Université de Bourgogne, Franche-Comté, Dijon, France
21. Génétique Clinique , Hospices civils de Lyon, LYON, France

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

Résumé :

Introduction : L'étude FIND vise à analyser les bénéfices médicaux, les enjeux économiques et les effets psychologiques de la recherche et de l'annonce de données secondaires (DS) obtenues par séquençage à haut débit d'exome (SHD-E) chez des patients atteints d'anomalies du développement (AD). **Méthode et matériel :** Il a été proposé à des parents de patients atteints d'AD qui bénéficiaient pour la première fois d'un SHD-E en contexte diagnostique de rechercher trois groupes de données secondaires. Groupe 1 : 122 gènes causant des maladies à révélation plus ou moins tardive, accessible à une prévention ou à un traitement principalement en oncologie et cardiologie. Groupe 2 : 114 gènes concernant le statut de porteur hétérozygote de maladies récessives fréquentes ou liés à l'X impactant le conseil génétique familial. Groupe 3 : 3 gènes avec des variants pharmacogénomiques connus pouvant conduire à des adaptations médicamenteuses. Des entretiens individuels semi-structurés ont été réalisés auprès de 23 parents de patients avec des DS (dans chacun des 3 groupes) juste après la consultation d'annonce de résultats et à distance de celle-ci. **Résultats et discussion :** 80% des parents ont accepté la recherche des DS chez leur enfant avec 6% de refus pour au moins 1 groupe. Les résultats préliminaires de 31 entretiens (sur 90 prévus) montrent que dans un contexte d'errance diagnostique les parents sont demandeurs d'informations exhaustives, et qu'ils ne regrettent pas d'avoir accepté la recherche de DS. Pour autant, l'accumulation de résultats (diagnostic primaire + DS, ou plusieurs DS) entraîne un excès d'informations difficile à traiter dans le temps de la consultation de résultat. Le caractère particulièrement anxiogène des DS du groupe 1 s'est surtout exprimé par l'expression du soulagement des parents des enfants non concernés par ce type de résultats. Toutes DS confondues, les émotions et notamment l'anxiété parentale se sont exprimées de manière explicite ou implicite car contrôlée par des mécanismes de défense tels que la banalisation, la rationalisation et la déni. Ces réactions dépendent beaucoup du contexte : connaissance familiale et représentations de la pathologie concernée ; projet d'enfant ou grossesse en cours ; traitements médicamenteux en cours. Les mesures de prévention et l'anticipation du suivi médical en cas de DS positive sont aussi clairement apparues comme des éléments contenantants de l'anxiété parentale. Elles redonnent du pouvoir d'action et le sentiment d'être utile à des parents qui se sentent souvent impuissants dans un contexte de déficience intellectuelle chez leur enfant. **Conclusion :** La recherche de DS n'est pas sans effet, comme le met en évidence le registre émotionnel utilisé par de nombreux parents. Pallier l'incertitude, avoir des réponses, atténuer les angoisses, rester dans le combat, sont au cœur des expériences et attentes singulières exprimées au cours des entretiens.

EF07 : Une énigme dans la fratrie

Auteurs :

Béatrice CHILDS (1)

1. GENETIQUE MEDICALE, INSTITUT IMAGINE, PARIS, France

Mots clefs : ENFANT - HANDICAP - PSYCHISME - FRATRIE - COMPLEXE FAMILIAL - COMPLEXE FRATERNEL - IMPACTS - ENIGME - DESTIN- DESTINEE

Résumé :

Quand un enfant d'une fratrie est touché par la maladie et le handicap, qu'il soit sensoriel, neurologique ou psychique, le psychisme de chaque membre de la fratrie s'en trouve affecté, et modifié. En effet, ceux considérés comme *sans problème*, assistent et soutiennent des parents qui affrontent de térébrantes questions : celles du diagnostic, du traitement possible, de l'espérance de vie, de la prise en charge à long terme d'un frère ou d'une soeur atteint d'une maladie génétique grave. Puis ces frères et soeurs là devront plus tard faire face à ces inquiétudes, pour eux-mêmes, et éventuellement pour leur propre descendance.

Les travaux concernant la fratrie dans notre champ d'études sont d'un intérêt relativement récent. Or on sait depuis longtemps l'acuité de la question fraterne dans la construction psychique d'un sujet, ce que les notions de *complexe familial* et de *complexe fraternel* éclairent d'un jour particulier.

À partir de quelques éléments théoriques et d'exemples cliniques, nous proposons de présenter les principaux points d'impacts que constitue la présence- souvent énigmatique- d'un enfant malade au sein d'une fratrie. Au risque de geler la dynamique psychique de la famille, et d'y confondre destinée(s) individuelle(s) et destin familial, ce sujet paraît fondamental dans la clinique qui est la nôtre.

Les mots de la philosophe Elizabeth de Fontenay dans son dernier essai « Autobiographie de mon frère » (2018) illustreront notre conclusion.

EF08 : Profil intellectuel d'adultes atteints d'un syndrome de Silver-Russell dû à un défaut de méthylation du locus IGF2/H19 dans la région 11p15

Auteurs :

Mélissa Burgevin (1), Agnes Lacroix (1), Genavee Brown (1), Myriam Mikaty (2), Virginie Coutinho (3, 4), Annick Toutain (5, 6), Marie Vincent (7), Dominique Martin-Coignard (8), Florence Petit (9), Régis Coutant (10), Christel Thauvin-Robinet (11), Bruno Donadille (12), Irène Netchine (13, 14), Sylvie Odent (2, 15)

1. LP3C (Laboratoire de Psychologie: Cognition, Comportement, Communication), EA 1285, Univ Rennes, Rennes, France
2. Service de Génétique Clinique, Centre de Référence Maladies Rares CLAD-Ouest, CHU de Rennes, Rennes, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital des Enfants Armand Trousseau, Paris, France
4. Inserm, Centre de Recherche en Épidémiologie et Santé des Populations, Villejuif, France
5. Service de Génétique, CHU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France
6. UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
8. Service de Génétique, CH du Mans, Le Mans, France
9. Clinique de Génétique, Centre de Référence CLAD Nord-Ouest, CHU de Lille, Lille, France
10. Service d'endocrinologie et diabétologie pédiatrique, CHU Angers, Angers, France
11. Service de Génétique Médicale, Centre de Référence Maladies Rares, CHU Dijon-Bourgogne, Dijon, France
12. Service d'endocrinologie, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
13. Service d'explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital des Enfants Armand Trousseau, Paris, France
14. Inserm, UMR S 938, Centre de Recherche Saint Antoine, Sorbonne Universités, Paris, France
15. CNRS, IGDR (Institut de Génétique et Développement de Rennes) - UMR 6290, Univ Rennes, Rennes, France

Mots clefs : Syndrome de Silver-Russell, épimutation 11p15, adultes, évaluation cognitive, profil intellectuel

Résumé :

Le syndrome de Silver-Russell (SSR, OMIM#180860, ORPHA#813) est un syndrome génétique rare qui associe un retard de croissance intra-utérin et post-natal sévère, un périmètre crânien relativement préservé à la naissance, une asymétrie corporelle, un front proéminent et des difficultés d'alimentation pendant l'enfance. Les deux principales causes génétiques identifiées à ce jour sont une disomie uniparentale maternelle du chromosome 7 dans 5-10% des cas, et un défaut de méthylation au locus *IGF2/H19* dans la région 11p15 dans 40-60% des cas. Les individus atteints du SSR présentent des signes cliniques variables, notamment en fonction de la cause génétique sous-jacente. Jusqu'à présent, peu d'études se sont focalisées sur le profil intellectuel et cognitif des individus atteints du SSR. Pourtant, ce sont des préoccupations importantes pour les familles, associées à des questions sur l'inclusion scolaire/professionnelle, le développement social et l'autonomie. Les quelques études existantes ont porté principalement sur des cohortes pédiatriques et les patients inclus étaient diagnostiqués avec des critères non standardisés. À l'heure actuelle et à notre connaissance, il n'existe pas de recherches publiées concernant le fonctionnement intellectuel des adultes. Notre étude vise à établir le profil intellectuel, les forces et faiblesses, des adultes atteints d'un SSR par rapport à des données normatives. Six hommes et quatre femmes âgés de 18 à 39 ans ont complété l'échelle de Wechsler pour adultes (WAIS-IV). Tous les individus inclus présentaient une anomalie du locus *IGF2/H19*. Les mesures réalisées comprenaient le quotient intellectuel (QI) des patients et portaient sur quatre domaines cognitifs : la compréhension verbale, le raisonnement perceptif, la mémoire de travail, et la vitesse de traitement. Des statistiques descriptives et des corrélations linéaires ont été utilisées pour étudier les facteurs associés aux résultats du QI. Des informations cliniques et médicales telles que les rééducations passées et en cours, les difficultés quotidiennes perçues, ont également été collectées à partir d'entretiens et de questionnaires. Les résultats ont montré que le QI moyen se situait dans la moyenne ($M = 95,40$; $DS = 18,55$). Les patients avaient de meilleures performances en compréhension verbale par rapport aux autres domaines, constituant ainsi un véritable point fort dans leur profil cognitif. Les patients et/ou leurs familles ont rapporté des difficultés quotidiennes fréquentes : des difficultés d'apprentissage et une faible estime de soi étaient perçues chez 60% des adultes. Cette première étude documente le fonctionnement intellectuel des adultes ayant un SSR dû à une anomalie du locus *IGF2/H19*. Elle montre qu'une prise en charge précoce et multidisciplinaire de l'enfance à l'âge adulte semble importante dans ce syndrome pour traiter les problèmes médicaux, cognitifs et psychosociaux potentiels.

Pièce jointe : Profil intellectuel adultes SSR - Mélissa Burgevin.docx

EF09 : Information sur le risque génétique de la Maladie de Huntington au sein des familles: les changements entre 2000 et 2019

Auteurs :

Juliette Hennessy (1), Juliette Hennessy (2), Sophie Tezenas du Montcel (3), Giulia Coarelli (1), Anna Heinzmann (1), Ariane Herson (4, 5), Christilla Boucher (4), Sabrina Sayah (1, 5), Stephannie Staraci (4), Elodie Petit (1), Marcela Gargiulo (4, 5), Alexandra Durr (1)

1. Sorbonne Université, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM), AP-HP, Inserm, CNRS, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis de Santé Publique, Medical Information Unit, Pitié-Salpêtrière Charles-Foix Hôpital Universitaire, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris (AP-HP), Paris, France
4. Consultation de génétique, AP-HP, Pitié-Salpêtrière Charles-Foix Hôpital Universitaire, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris (AP-HP), Paris, France
5. Institut de Myologie, Pitié-Salpêtrière Charles-Foix Hôpital Universitaire, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris (AP-HP), Paris, France

Mots clefs : Maladie de Huntington, communication, changement, deux décennies

Résumé :

Objectif : Étudier comment circule l'information génétique dans les familles concernées par la Maladie de Huntington (MH) et leurs attitudes sur la réalisation d'un test présymptomatique avant et après l'âge de 18 ans. Nous avons comparé une étude réalisée sur ce sujet par notre équipe en 2000 avec une réalisée en 2019 pour savoir ce qui avait changé pour les personnes concernées et leurs familles pendant deux décades en ce qui concerne l'information du risque et le test présymptomatique.

Méthode : Un questionnaire était distribué en 2000, en format papier par l'association Huntington France, et en 2019, sur le site internet de l'association et en consultation de génétique du Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière sur tablette. Les questions concernaient les attitudes quant aux motivations pour informer les enfants du risque génétique et la réalisation du test présymptomatique avant et après l'âge de 18 ans.

Population : La population était constituée des personnes concernées par la MH, incluant des personnes à risque, des porteurs asymptomatiques ou non porteurs de l'expansion CAG pathologique, des personnes atteintes de MH et les conjoints des personnes concernées.

Résultats : Alors qu'en 2000, les répondants (n=148) souhaitaient majoritairement que les cliniciens informent les enfants (2000 : 71/148 (50%) vs 2019 : 93/293 (35%)), en 2019 ils (n=293) souhaitaient majoritairement que les parents informent les enfants (155/ 293 (58%) vs 67/148 (47%)), $p < 0,01$). En 2000, 57% des personnes interrogées ne conseillaient pas à leurs enfants de faire le test présymptomatique après 18 ans alors qu'en 2019 seuls 27% ne le conseillent pas ($p < 0,01$). Le nombre de personnes ne conseillant pas le test présymptomatique avant 18 ans est lui aussi en baisse : en 2000, 61% ne sont pas pour la réalisation d'un test présymptomatique avant 18 ans, alors qu'en 2019 38% sont contre la réalisation avant 18 ans ($p < 0,01$). Néanmoins, l'information à la parentèle reste un sujet tabou : moins de la moitié des participants ont été informés par leurs parents de l'existence de la maladie dans la famille tant en 2000 (30%) qu'en 2019 (45%, $p < 0,06$). Encore 41% des participants pensent que ce n'est pas aux parents d'informer de l'existence de la maladie familiale. De plus, l'incertitude sur le bienfondé du test présymptomatique avant 18 ans est une réalité incontestable avec 40% en 2019 « je ne sais pas » vs 25% en 2000 ($p < 0,01$).

Conclusion : En 20 ans, bien que les mentalités changent et que davantage de personnes souhaitent que ce soit les parents qui informent les enfants, l'information à la parentèle reste un tabou. La difficulté à informer ses enfants du risque génétique persiste malgré le souhait des personnes concernées d'être informées par leurs ascendants. Le bienfondé du test présymptomatique chez les mineurs suscite des doutes et de l'incertitude.

Pièce jointe : Abstract Assises de génétique 2020 Information familles 17.10.pdf

EF10 : Optimisation du rendement diagnostique du séquençage d'exome chez les fœtus avec anomalies congénitales multiples, par une priorisation des variations génétiques basée uniquement sur les scores bio-informatiques

Auteurs :

Ange-Line Bruel (1, 2), Mathilde Lefebvre (1, 3), Emilie Tisserant (1), Nicolas Bourgon (4), Yannis Duffourd (5, 3), Mirna Assoum (1), Paul Kuentz (6), Elise Schaefer (7), Salima El Chehadeh-Djebbar (8), Maria-Cristina Antal (9), Valérie kremer (10), Françoise Girard-Lemaire (10), Jean-Louis Mandel (11), Daphné Lehalle (6, 12), Sophie Nambot (1, 12), Nolwenn Jean-Marçais (1, 12), Nada Houcinat (1, 12), Sébastien Moutton (1, 13), Nathalie Marle (14), Laetitia Lambert (15), Philippe Jonveaux (16), Bernard Foliguet (17), Jean-Pierre Mazutti (18), Dominique Gaillard (19), Elisabeth Alanio (20), Céline Poirisier (21), Anne-Sophie Lebre (22), Marion Aubert-Lenoir (23), Francine Arbez-Gindre (24), Sylvie Odent (25), Chloe Quelin (25, 26), Philippe Loget (27), Mélanie Fradin (25), Marjolaine Willems (28), Nicole Bigi (29), Marie-Josée Perez (30), Sophie Blesson (31), Christine Francannet (32), Anne-Marie Beaufrère (33), Sophie Patrier (34), Anne-Marie Guerrot (35), Alice Goldenberg (36), Nicole Laurent (37), Christophe Philippe (1, 3), Frédéric Tran Mau-Them (1, 3), Julien Thevenon (1, 12), Laurence Faivre (1, 12), Christel Thauvin-Robinet (1, 12), Antonio Vittobello (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. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
4. Inserm - UB UMR 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », FHU-TRANSLAD, CHU DIJON, dijon, France
5. FHU-TRANSLAD, Équipe EA42271 GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
6. FHU-TRANSLAD,INSERM UMR1231, Équipe GAD, CHU Dijon, Dijon, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Centre de génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
9. Service de Fœtopathologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle et prénatale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
11. Département Médecine translationnelle et neurogénétique , Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, Strasbourg, France
12. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France
13. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
14. Laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire , CHU DIJON, dijon, France
15. UF de génétique médicale , Maternité régionale, CHU de Nancy, Nancy, France
16. Laboratoire de génétique médicale, CHU de Nancy, Nancy, France
17. Laboratoire de Biologie de la Reproduction et du Développement , CHU de Nancy, Nancy, France
18. Laboratoire de Biologie de la Reproduction et du Développement, CHU de Nancy, Nancy, France
19. Service de Génétique, Hôpital Maison Blanche, CHRU Reims, Reims, France
20. Service de fœtopathologie, CHU Reims, Reims, France
21. Laboratoire de cytogénétique, CHU Reims, Reims, France
22. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, CHU Reims, Reims, France
23. Service d'imagerie médicale, CHU Besançon, Besançon, France
24. Service de fœtopathologie, CHU Besançon, Besançon, France
25. Service de génétique clinique, CHU Rennes, Rennes, France
26. Service de fœtopathologie, CHU Rennes, Rennes, France
27. Laboratoire d'Anatomie-Pathologie, CHU Rennes, Rennes, France
28. Equipe Maladies Génétiques de l'Enfant et de l'Adulte, CHU Montpellier, Montpellier, France
29. Service de fœtopathologie, CHU Montpellier, Montpellier, France
30. Service de fœtopathologie, CHU Montpellier, Montpellier, France
31. Service de Génétique, CHU Tours, Tours, France
32. Service de génétique médicale, CHU Clermont-Fd, Clermont-Fd, France
33. Service de fœtopathologie, CHU Clermont-Fd, Clermont-Fd, France
34. Service de fœtopathologie , CHU Rouen, Rouen, France
35. Service de génétique clinique, CHU Rouen, Rouen, France
36. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles Nicolle, CHU Rouen, Rouen, France
37. Service de fœtopathologie, CHU DIJON, dijon, France

Mots clefs : exome, bio-informatique, fœtus

Résumé :

Au cours des 30 dernières années, les technologies d'échographie obstétricale ont nettement amélioré la détection anténatale des syndromes malformatifs. Leur diagnostic étiologique est un élément clé pour préciser le pronostic fœtal, l'issue de la grossesse et le conseil génétique. En France, le diagnostic génétique étiologique prénatal repose actuellement sur le caryotype, l'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) et le séquençage de gènes ciblés. Un grand nombre de fœtus polymalformés restent sans diagnostic, aboutissant souvent à une interruption de grossesse devant le risque élevé de gravité pronostique. Le séquençage d'exome (ES) bouleverse actuellement la génétique médicale, avec un taux diagnostique postnatal *en solo* d'environ 30% dans les anomalies du développement. Peu d'études ont été réalisées chez des cohortes de fœtus polymalformés, celles-ci montrent un rendement diagnostique de l'ES solo plus faible (.20%) notamment à cause de la faible connaissance de la corrélation génotype-phénotype à l'état fœtal. Dans ce contexte, le développement de nouvelles stratégies dédiées à la d'identification de variations causales indépendamment des signes cliniques paraît indispensable.

Nous avons réalisé un ES *solo* chez 95 fœtus polymalformés sans diagnostic évident et ACPA normale. Deux stratégies diagnostiques

d'interprétation des données (gènes morbides OMIM) ont été déployées séquentiellement. D'une part, une stratégie « genotype-first » basée sur des scores bio-informatiques et les bases de données d'annotation indépendamment du phénotype fœtal. Sont retenues: (a) les variations annotées (probablement) pathogènes dans la base ClinVAR, compatibles avec le mode de transmission rapporté, (b) les variations à l'origine d'un codon stop prématuré dans les gènes intolérants à la perte-de-fonction, (c) les variations récessives prédites délétères dans les pathologies de transmission récessive. La causalité des variations est confirmée par une analyse de ségrégation par séquençage Sanger et phénotypage inverse. D'autre part, une stratégie classique, basée sur l'interprétation des variations faux-sens non répertoriés dans ClinVar identifiable d'emblée par une corrélation génotype-phénotype. Dans un second temps, nous avons étendu l'analyse aux gènes non morbides. Ainsi, un diagnostic positif a été posé chez 22/95 fœtus (23.1%) dont 3/22 gènes n'ont pas été identifiés par la stratégie classique et 3/22 autres gènes ne l'ont pas été par la stratégie « genotype-first ». Par ailleurs, 11 gènes candidats ont été identifiés (11.5%).

La combinaison séquentielle d'une stratégie « genotype-first » suivie par une stratégie classique basée d'emblée sur les corrélations phénotypes-génotypes permet d'identifier plus rapidement la cause génétique dans les cohortes fœtales et d'identifier des ultérieurs nouveaux gènes candidats pouvant, en principe, combler l'écart entre le taux diagnostic pré- et postnatal.

Pièce jointe : 2020_Assise_Bruel_FoetexBioinfo.docx

EF11 : Séquençage haut-débit d'une série de 80 fœtus avec malformation cardiaque complexe et/ou hétérotaxie

Auteurs :

Patrice BOUVAGNET (1), Hui LIU (2), Anna-Gaëlle GIGUET (3), Thomas SIMONET (4), Emmanuelle SZENKER (5), Laetitia LAMBERT (6), Catherine VINCENT-DELORE (7), Sophie SCHEIDECKER (8), Mélanie FRADIN (9), Fanny MORICE-PICARD (10), Ciorna CIORNA-MONFERRATO (11), Estelle COLIN (12), Florence FELLMANN (13), Sophie BLESSON (14), Pierre-Simon JOUK (15), Christine FRANCANET (16), Florence PETIT (17), Bruno REVERSADE (18)

1. Laboratoire de Génétique, CHU de Martinique, Fort de France, Martinique
2. Department of Anatomy, Hainan Medical College, Haikou, Chine
3. CPDPN, Hôpital MFME, CHU Martinique, Fort de France, Martinique
4. Service de Génétique, CHU Lyon, Lyon, France
5. Human Genetics & Embryology Laboratory, Institute of Medical Biology, Singapour, Singapour
6. Génétique Clinique UF6211, Maternité Régionale Universitaire, Nancy, France
7. Consultation Génétique Clinique, Pôle Mère Enfant, Centre Hospitalier Arras, Arras, France
8. Service de Génétique Médicale, Hôpital Hautepierre, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
9. Service de Génétique Médicale, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
10. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Service de Génétique, Hôpital Femme Mère Enfant, CHR Metz-Thionville, Metz, France
12. Service de Génétique Clinique, CHU Angers, Angers, France
13. Service de Génétique, Hôpital Cantonal de Lausanne, Lausanne, Suisse
14. Service de Génétique, Centre Hospitalier Bretonneau, CHU Tours, Tours, France
15. Service de Génétique Médicale, Hôpital de la Tronche, CHU Grenoble, Grenoble, France
16. Service de Génétique Médicale, Hôpital Estaing, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
17. Service de Génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
18. Human Genetics & Embryology Laboratory, Institute of Medical Biology, A*STAR, Singapour, Singapour

Mots clefs : Foetus, Malformation Cardiaque, Séquençage Haut-Débit, Hétérotaxie

Résumé :

Introduction : Environ 10 % des cas de malformation cardiaque congénitale ont une cause dépistée par la cytogénétique classique. L'ACPA est capable d'identifier environ 10 % supplémentaire d'anomalie chromosomique. Nous voulions découvrir quel pourcentage de variants nucléotidiques simples pouvait être identifié comme causal dans une série de fœtus avec malformation cardiaque et/ou hétérotaxie.

Méthodes : L'ADN de 80 fœtus diagnostiqués avec une malformation cardiaque sévère et/ou une hétérotaxie et sans anomalie cytogénétique causale ont été séquencés sur un panel de 489 gènes impliqués dans les maladies cardiovasculaires.

Résultats : il y avait 48 fœtus de sexe masculin et 32 de sexe féminin, avec une histoire familiale dans 52 cas (65%) et pas de consanguinité parentale dans 76 cas (95%). Tous les fœtus avaient une malformation cardiaque sévère sauf un qui avait une hétérotaxie et des anomalies de développement de la ligne médiane. Cinquante deux cas (64%) avaient une hétérotaxie en plus des malformations cardiaques. Vingt huit cas (34%) avaient des anomalies extra-cardiaques et extra-hétérotaxie.

Une mutation causale a été identifiée dans 12/80 cas (15%) avec un pourcentage plus élevé dans le groupe avec hétérotaxie (10/52 cas, 19%) comparé au groupe sans hétérotaxie (2/28 cas, 7%) et dans 3 cas avec des anomalies extra-cardiaques et extra-hétérotaxie (3/28, 11%). Le mode d'hérédité était récessif pour 7 gènes et dominant avec expression variable pour 2 gènes. Étonnamment, une mutation homozygote a été trouvée dans 4 cas dont un seulement dont la consanguinité parentale était connue.

Conclusion : le séquençage haut-débit peut découvrir le variant nucléotidique causal dans environ 15 % des cas de malformation cardiaque et/ou hétérotaxie après avoir éliminé une cause cytogénétique. Le conseil génétique pour les grossesses futures des couples concernés a été très amélioré. A notre surprise, une relation parentale distante est impliquée dans environ 4 % des cas.

EF12 : Séquençage haut débit de génome en diagnostic prénatal : quels enjeux ?

Auteurs :

Christel THAUVIN (1, 2), Frédéric TRAN MAU-THEM (1, 3), Thierry ROUSSEAU (4), Aline CHASSAGNE (5), Yannis DUFFOURD (6), Marie-Laure HUMBERT-ASENCIO (7), Elodie GAUTIER (8), Jeanne AMIEL (9), Dominique BONNEAU (10), Damien SANLAVILLE (11), Sabine SIGAUDI (12), Alain VERLOES (13), David GENEVIEVE (14), Caroline ROORYCK-THAMBO (15), Florence PETIT (16), Sylvie ODENT (17), Isidor BERTRAND (18), Nathalie MARLE (19), Boris KEREN (20), Patrick CALLIER (1, 21), Christophe PHILIPPE (1, 22), Catherine LEJEUNE (7), Christine BINQUET (23), Laurence FAIVRE (1, 24)

1. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental disorders, Université de Bourgogne-Franche Comté, FHU TRANSLAD, Dijon, France
2. Centre de Référence Maladies Rares "Déficiences Intellectuelles de causes rares", FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Unité Fonctionnelle «Innovation diagnostique dans les maladies rares», laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. CPDPN, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
5. Inserm CIC 1431; EA 3189, LASA, CHU Besançon; Université de Franche-Comté, Besançon, France
6. EA4271 Génétique des Anomalies du Développement; FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
7. CIC 1432 INSERM, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
8. FHU TRANSLAD - Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
9. Service de Génétique Médicale et Clinique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
10. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
11. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Lyon, Lyon, France
12. Département de génétique médicale, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
13. Département de Génétique, CHU Paris - Hôpital Robert Debré, Paris, France
14. Département Génétique Médicale, Maladies rares et médecine personnalisée, CHU de Montpellier - Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
15. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France
16. Centre de Référence Maladies Rares, CHRU Lille, Lille, France
17. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Rennes, Rennes, France
18. Service de génétique médicale - Unité de Génétique clinique, CHU Nantes, Nantes, France
19. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
20. UF de génomique du développement, CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
21. Laboratoire de cytogénétique et génétique moléculaire, FHU TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
22. Unité Fonctionnelle «Innovation diagnostique dans les maladies rares», laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
23. FHU TRANSLAD; INSERM CIC 1432 (CIC-EC), CHU Dijon, Dijon, France
24. Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement et syndromes malformatifs", FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : Séquençage haut débit, génome, diagnostic prénatal, enjeux

Résumé :

Lors de la découverte échographique anténatale de malformations congénitales et/ou d'anomalies morphologiques mineures (5 à 10% des grossesses), le diagnostic étiologique représente un véritable défi médical. En effet, le pronostic s'avère variable selon les étiologies sous-jacentes, allant de fœtopathies acquises à des maladies génétiques rares. En France, le diagnostic étiologique prénatal repose sur l'imagerie ou des investigations biologiques: infectieuses, métaboliques, immunologiques ou génétiques. Plus de la moitié des fœtus porteurs d'anomalie(s) restent sans diagnostic étiologique.

Le séquençage haut débit pangénomique (exome/génome-SHD) bouleverse la génétique médicale, avec un taux diagnostique postnatal de plus de 40% pour les anomalies du développement. Dans le cadre du diagnostic prénatal (DPN), peu de pays se lancent dans le séquençage de génome (GS), en raison de la nécessité de délais courts pour rendre les résultats le plus tôt possible au cours de la grossesse, des difficultés d'interprétation des données génomiques en présence de données cliniques parcellaires, réduites aux données d'imagerie prénatales, et du risque d'identifier des variations de signification inconnue (VSI), indépendamment de la question posée. Pourtant, la confirmation d'un diagnostic génétique peut s'avérer d'une importance majeure pour affiner le pronostic et aider les couples à prendre des décisions par rapport à la grossesse en cours, à un projet parental ultérieur, à l'information familiale ou au parcours de soins de manière plus générale.

Proposer aux couples d'avoir accès au GS dans le cadre du DPN soulève cependant de nombreuses questions et de nouveaux enjeux cliniques, biologiques, éthiques et organisationnels :

- cliniques: pour quelles indications est-il licite de proposer le SHD pangénomique en DPN: devant la découverte de tout syndrome polymalformatif ? De toute malformation isolée ? Quel que soit le pronostic fœtal ? Lorsque le pronostic est incertain et qu'un diagnostic étiologique pourrait modifier l'issue de la grossesse ?

- biologiques : quels résultats rendre ? Faut-il rendre les VSI ? Les données incidentes ? Quelle faisabilité ?

- éthiques : quelles sont les attentes des patients ? Les craintes des professionnels ?

- organisationnels : jusqu'à quel terme maximal le SHD peut-il être proposé ? Comment aider les couples à gérer l'attente de nouveaux résultats et le délai supplémentaire lié à ces résultats par rapport à l'ACPA ? Faut-il leur proposer un accompagnement spécifique pendant cette attente supplémentaire (psychologue, conseiller en génétique) ? Quels écueils organisationnels ?

Notre travail a consisté à mener une étude pilote pour démontrer la faisabilité d'implémenter le SHD en diagnostic prénatal. Il sera nécessaire de la compléter par un projet d'étude de l'organisation des soins, afin d'appréhender les nouvelles coopérations nécessaires entre professionnels de santé et leur acceptabilité pour cette implémentation.

EF13 : Prévalence des anomalies chromosomiques non dépistées par le test ADNlc dans l'intervalle 1/51-1/250 du calcul du risque de la trisomie 21

Auteurs :

Nicolas FRIES (1), Sandra LE GARREC (2), Georges HADDAD (3), Matthieu EGLOFF (4), Yves VILLE (5)

1. CFEF, Collège Français d'Echographie Foetale , MONTPELLEIR, France
2. Service Maternité, Centre Hospitalier Nord Deux-Sèvres, PARTENAY, France
3. Maternité-Génétique, Centre hospitalier Simone Veil , Blois, France
4. Laboratoire de Génétique Biologique , CHU La Milétrie, POITIERS, France
5. Service d'obstétrique et de médecine fœtale, Hôpital Necker, PARIS, France

Mots clefs : ADNlc, Risque combiné, 1/51-1/251, Invasif, Anomalies chromosomiques

Résumé :

Objectifs : Connaître la prévalence des anomalies chromosomiques non dépistées par le test ADNlc dans l'intervalle 1/51-1/250 du calcul du risque de la trisomie 21.

Méthodes : Cette étude est une analyse rétrospective d'une population de grossesses singletons ayant eu un dépistage combiné de la trisomie 21 dans lequel la clarté nucale (CN) a été mesurée par un échographiste évalué par le Collège Français d'Echographie Foetale entre le 1er janvier 2016 et le 31 décembre 2016. La base de données BioNuQual a permis d'identifier toutes les patientes dont le risque du dépistage combiné était compris entre 1/51 et 1/250. Parmi les 372162 patientes de la base, 9912 (2,7%) avaient un risque compris entre 1/51 et 1/250. Pour cet intervalle de risque, 2650 analyses du caryotype ont été réalisés. Parmi les anomalies non détectables par l'ADN libre circulant (ADNlc), nous n'avons retenu que celles qui nécessitent un conseil génétique.

Résultats Parmi les anomalies du caryotypes retrouvées, 30 (20%) étaient non dépistables par l'ADNlc et nécessitaient un conseil génétique, soit : 10 pathogènes, 11 dysgonosomies et 9 non pathogènes, principalement des translocations équilibrées. La valeur prédictive positive (VPP) du dépistage combiné au seuil de 1/51-1/250 pour les anomalies chromosomiques non dépistées par le DPNI est de 1,1% (30/2650) et de 0,4% (10/2650) pour les anomalies hautement pathogènes.

Conclusion : La proposition exclusive de dépistage par un test d'ADNlc dans le groupe à risque 1/51-1/250 ne permet pas de donner à la patiente une information au risque résiduel d'anomalies chromosomiques.

EF14 : Diagnostic prénatal non invasif de maladies monogéniques par exclusion du variant paternel. De la preuve de principe à l'accréditation, retour sur 3 ans d'expérience...

Auteurs :

Nicolas Vaucouleur (1), Lucie Orhant (2), Nathalie Deburgrave (2), Camille Verebi (3), Alexandre Perrier (3), Mathilde Pacault (3), Aurélia Gruber (3), Thierry Bienvenu (2), Emmanuelle Girodon (2), Dominique Vidaud (2), France Leturcq (2), Michel Vidaud (2), Juliette Nectoux (2)

1. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaires, HUPC Cochin, paris, France
2. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, HUPC Hôpital Cochin, Paris, France
3. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaires, HUPC Hôpital Cochin, paris, France

Mots clefs : Diagnostic prénatal non invasif d'exclusion, DPNI, maladie monogénique, ADN foetal circulant

Résumé :

Pour limiter les risques de fausse-couche associés aux procédures invasives du diagnostic prénatal classique, nous avons développé un protocole standardisé et accrédité visant à proposer un diagnostic prénatal non invasif (DPNI) d'exclusion des maladies monogéniques. Son principe repose sur la détection qualitative de variants pathogènes absents du génome maternel, ce qui permet de proposer le DPNI dans de nombreuses situations, telles que certaines pathologies sporadiques, les pathologies dominantes de transmission paternelle et les pathologies récessives, lorsque les deux parents sont porteurs de variants pathogènes différents.

Depuis la mise au point de ces tests au laboratoire en 2017, plus de 120 tests ont été réalisés par PCR digitale en routine diagnostique pour les pathologies suivantes : achondroplasie, dysplasies thanatophores, mucoviscidose, neurofibromatose de type 1 et 2... Le processus de validation de méthode a permis l'identification des points critiques à valider, telles que les performances analytiques inhérentes à chaque essai spécifique de variant pathogène, mais aussi l'établissement des critères d'interprétation des résultats. L'analyse de risques résiduels a permis de mesurer les limites réelles de la méthode, notamment liées à la faible concentration d'ADN dans le plasma et à la nature des variants pathogènes recherchés.

La mise en œuvre de ces tests dans notre laboratoire de génétique moléculaire nous permet de rapporter la plus large cohorte de DPNI d'exclusion des maladies monogéniques jamais décrite. Nos résultats indiquent une grande précision pour la détection précoce des variants pathogènes paternels dans le plasma maternel et ouvrent de nouvelles perspectives pour étendre cette approche à de nombreuses autres maladies monogéniques.

EF15 : Syndromes de Silver Russell et de Beckwith-Wiedemann : distribution en mosaïque d'anomalies épigénétiques

Auteurs :

Aurélié PHAM (1, 2), Virginie STEUNOU (1), Nathalie THIBAUD (3), Eloise GIABICANI (1, 4), Irène NETCHINE (1, 4), Frederic BRIOUDE (1, 4)

1. UMR 938, Centre de Recherche Saint Antoine, Sorbonne Université, PARIS, France
2. Service de néonatalogie, Hôpital Trousseau, APHP 6, PARIS, France
3. Laboratoire de biologie moléculaire endocrinienne, Hôpital Trousseau, APHP 6, PARIS, France
4. Explorations fonctionnelles endocriniennes, Hôpital Trousseau, APHP 6, PARIS, France

Mots clefs : syndrome de silver russell, syndrome de beckwith-wiedemann, épigénétique, mosaïque

Résumé :

Introduction. L'empreinte parentale est un mécanisme épigénétique à l'origine de l'expression monoallélique de gènes en fonction de leur origine parentale. La région chromosomique humaine 11p15.5 contient deux domaines soumis à empreinte parentale (ICR1 comprenant *IGF2* et ICR2 comprenant *CDKN1C*), jouant un rôle important dans le contrôle de la croissance fœtale et postnatale. Des modifications génétiques (disomie uniparentale ou mutations gain/perte de fonction) ou épigénétiques de la région 11p15.5 sont associés à deux syndromes en miroir : le syndrome de Silver Russell (SRS associant retard de croissance, difficultés alimentaires, anomalies métaboliques et pubertaires) et le syndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS associant excès de croissance avec risque tumoral accru durant l'enfance). Les anomalies épigénétiques à l'origine de ces syndromes surviennent le plus souvent à un stade postzygotique. Bien que très peu de données n'aient été rapportées sur le sujet, les récents consensus internationaux portant sur les syndromes SRS et BWS proposent de tester d'autres tissus en cas d'absence d'anomalie moléculaire détectée sur les leucocytes.

Méthodes. L'analyse du niveau de méthylation d'ICR1 et ICR2 a été réalisée par RT qPCR allèle spécifique à partir de l'ADN de fibroblastes de patients répondant aux critères cliniques de SRS ou BWS, chez qui les analyses moléculaires de la région 11p15.5 étaient normales dans les leucocytes.

Résultats. Dix patients (trois SRS et sept BWS) avaient des index de méthylation normaux dans le sang et anormaux dans les fibroblastes. Les trois patients SRS avaient un score de Netchine Harbison $\geq 4/6$. Les sept patients BWS avaient une asymétrie corporelle, dont deux présentaient une asymétrie corporelle isolée. Deux patients BWS avaient développé des tumeurs embryonnaires (un néphroblastome bilatéral et un hépatoblastome). Une perte de méthylation en 11p15 a été détectée sur les fibroblastes des trois patients SRS, un gain de méthylation en ICR1 11p15 chez deux patients BWS, une perte de méthylation en ICR2 11p15 chez deux autres patients BWS et une disomie uniparentale paternelle en 11p15 chez les autres trois patients.

Conclusion. Le profil de méthylation en 11p15 peut varier en fonction des tissus étudiées. L'analyse d'un second tissu permet d'identifier un mécanisme moléculaire chez des patients répondant sans anomalie moléculaire dans les leucocytes, avec un intérêt majeur dans la prise en charge des patients. Ceci confirme la distribution en mosaïque des anomalies épigénétiques, et donc en faveur de leur survenue post-zygotique. Ceci renforce l'intérêt de tester d'autres tissus en cas de suspicion clinique de BWS/SRS sans anomalie moléculaire sur les cellules circulantes. L'analyse du niveau de méthylation d'ICR1 et ICR2 est actuellement en cours au laboratoire chez d'autres patients présentant une asymétrie corporelle et des niveaux de méthylation normaux dans le sang.

Pièce jointe : Abstract_Assises_PHAM.docx

EF16 : Le profilage de méthylation du génome de l'épithélium pigmenté rétinien chez des individus atteints de dégénérescence maculaire liée à l'âge révèle des différences de méthylation et d'expression des gènes *SKI*, *GTF2H4* et *TNXB*.

Auteurs :

Louise Porter (1), Neil Saptarshi (1), Yongxiang Fang (2), Sonika Rath (3), Anneke den Hollander (4), Simon Clark (5), Paul Bishop (5), Timothy Olsen (6), Triantafyllos Liloglou (7), Venkata RM Chavali (3), Luminita Paraoan (1)

1. Eye and Vision Science, University of Liverpool, Liverpool, Royaume Uni
2. Centre for Genomic Research, University of Liverpool, Liverpool, United Kingdom, Royaume Uni
3. Department of Ophthalmology, University of Pennsylvania School of Medicine, Pennsylvania, Etats-Unis
4. ophthalmology, Radboud UMC, Nijmegen, Pays-Bas
5. Division of Evolution and Genomic Sciences, University of Manchester, Manchester, Royaume Uni
6. Mayo Clinic, Mayo Clinic, Rochester, Etats-Unis
7. Institute of Translational Medicine, University of Liverpool, Liverpool, Royaume Uni

Mots clefs : Epigénétique, méthylation de l'ADN, dégénérescence maculaire liée à l'âge, génétique ophtalmique.

Résumé :

Résumé :

Introduction : La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est une maladie dégénérative du centre de la rétine et la cause principale de cécité. L'épithélium pigmenté rétinien (EPR) est un site primaire de pathogénèse. Les antécédents génétiques de la DMLA sont largement décrits. Malheureusement, ces connaissances n'ont pas encore généré de traitements pour les formes de DMLA les plus courantes. Dans ce contexte, les mécanismes épigénétiques de régulation d'expression génique spécifiques au tissu concerné sont d'intérêt considérable. Notre étude s'intéresse à l'identification de gènes différenciellement méthylés dans la DMLA dans l'EPR et à la différenciation des aberrations de méthylations locales de l'ADN des aberrations globales, les aberrations épigénétiques locales étant parfois associées à des épimutations motrices, potentiellement plus sensibles à la modulation thérapeutique. **Méthodes :** Etude d'association panépigénomique et profilation sélective de l'expression de gènes dans l'EPR provenant de donneurs humains phénotypés pour la DMLA. Profilage de méthylation pangénomique (Illumina 450k BeadChip array) sur 44 échantillons de EPR (25 DMLA et 19 contrôles) et validation des résultats par pyroséquençage de 55 échantillons (30 DMLA et 25 contrôles), incluant un échantillonnage de répliques techniques (n=38) et biologiques (n=17). L'analyse de *Long Interspersed Nucleotide Element 1* (LINE-1) fut appliquée pour estimer le niveau de méthylation globale de l'ADN dans l'EPR. RT-qPCR fut employée sur des échantillons indépendants pour mesurer les changements d'expression des gènes différenciellement méthylés. **Résultats :** Le profilage de méthylation pangénomique identifia des loci et régions génomiques multiples différenciellement méthylés dans la DMLA, comprenant les gènes *SKI* ($p=1.18 \times 10^{-9}$), *GTF2H4* ($p=7.03 \times 10^{-7}$), et *TNXB* ($p=6.30 \times 10^{-6}$). Le pyroséquençage valida les loci différenciellement méthylés cg18934822, associé au proto-oncogène *SKI*, et cg22508626 dans *GTF2H4* et exclut un changement global du niveau de méthylation de l'EPR dans la DMLA. Nous avons également démontré des modifications de l'expression des gènes *SKI*, *GTF2H4*, et *TNXB* dans l'EPR de donneurs indépendants atteints de DMLA. Des études de réplication furent réalisées sur sang entier. **Conclusions :** Ce travail représente, à ce jour, l'étude plus importante de la méthylation pangénomique de l'EPR dans la DMLA associée à des changements d'expression des gènes différenciellement méthylés, atteignant pour la première fois un niveau de signification statistique pangénomique et identifiant de nouvelles cibles pour les études translationnelles futures. Auparavant, aucune étude n'a associé *SKI* et *GTF2H4* à la DMLA, ces loci régulant des processus pathophysiologiques impliqués dans la maladie tels que la signalisation par facteur de croissance transformant-beta (TGF beta) (*SKI*) et les mécanismes de réparation de l'ADN dépendant de la transcription (*GTF2H4*).

Pièce jointe : PORTERIfABSTRACAssises2020.docx

EF17 : La base de données CEMARA au sein de la filière AnDDI-Rares : 10 ans d'épidémiologie dans les anomalies du développement en France

Auteurs :

Claude Messiaen (1), Caroline Racine (2), Ahlem Khatim (1), Sylvie Odent (3), Didier Lacombe (4, 5), Sylvie Manouvrier (6, 7), Patrick Edery (8), Nicole Philip (9), David Genevieve (10), Christel Thauvin-Robinet (11, 12), Tania Attié-Bitach (13), Pierre-Henri Roux-Levy (12), Laurent Demougeot (11), Lilia Ben Slama (14, 13), Christine Biquet (15), Arnaud Sandrin (1), Alain Verloes (16, 17), Laurence Faivre (18, 19)

1. Banque Nationale de Données Maladies Rares, DSI-WIND, APHP, PARIS, France
2. Centre de référence anomalies du développement et syndrome malformatifs, CHU de Dijon, DIJON, France
3. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital Sud, CHU de Rennes, RENNES, France
4. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
5. INSERM UMR1211, Université de Bordeaux, BORDEAUX, France
6. Centre de référence anomalies du développement et syndrome malformatifs, CHRU de Lille, LILLE, France
7. EA 7364 RADEME Maladies rares du développement et du métabolisme, Université Lille, LILLE, France
8. Centre de référence anomalies du développement et syndrome malformatifs, Hôpital Femme-Mère-Enfant Hospices Civils de Lyon, LYON, France
9. Centre de référence anomalies du développement et syndrome malformatifs, Département de génétique médicale, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, MARSEILLE, France
10. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Montpellier, MONTPELLIER, France
11. Filière AnDDI-Rares, CHU de Dijon, DIJON, France
12. INSERM UMR1231 et FHU TRANSLAD, Université de Bourgogne, DIJON, France
13. Foetopathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
14. Filière AnDDI-Rares, CHU de Dijon, PARIS, France
15. Centre d'Investigation Clinique - Épidémiologie Clinique, CHU de Dijon, DIJON, France
16. Centre de référence anomalies du développement et syndrome malformatifs, AP-HP, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
17. INSERM UMR1141, Université de Paris, PARIS, France
18. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Dijon, DIJON, France
19. Equipe GAD (Génétique des anomalies du développement), UMR INSERM 1231, Université de Bourgogne, DIJON, France

Mots clefs : maladies rares, filière AnDDI-Rares, anomalies du développement, syndromes malformatifs, épidémiologie, CEMARA, BNDMR

Résumé :

Introduction :

Depuis le PNMR1, la DGOS affiche une orientation forte pour la mise en place d'un vaste programme épidémiologique sur les maladies rares, en parallèle de la mise en place des centres de références maladies rares (CRMR). En 2007, les CRMR ont adopté l'application CEMARA mise en place par la base nationale de données maladies rares (BNDMR), permettant le recueil de données patients vus au sein des CRMR. Après une période de 10 ans, la filière AnDDI-Rares et la BNDMR analysent les données colligées, permettant de montrer les intérêts et les difficultés d'un tel projet national.

Matériel et méthodes :

Un set de données minimal (SDM) a été collecté en prospectif pour tous les patients. Ce SDM comprend des données sur le cas index et apparentés, le diagnostic et les activités médicales. Une analyse rétrospective anonymisée de toutes les visites a été réalisée, dans le but d'en tirer des informations administratives, démographiques, d'organisation des soins, ou plus ciblées.

Résultats :

228.243 patients ont été reçus en 10 ans, 167.361 atteints (âge médian 11 ans, 54% enfants, 46% adultes) et 60.882 apparentés non-atteints (âge médian 37 ans), avec un sex-ratio équilibré. La majorité des patients (87%) n'étaient pas vus plus d'une fois par an. 52% des patients viennent pour une démarche diagnostique, et 85% des demandes sont gérées lors de consultations simples. Parmi les 2872 pathologies retrouvées, 66.5% le sont chez moins de 10 patients, 28% entre 10-100, 5.2% entre 100-1,000, et 0.4% chez plus de 1,000. 45.6% des patients n'ont pas de diagnostic et 6.7% un diagnostic incertain. 71% des diagnostics étaient posés dans la première année. La majorité des enfants sont adressés par leur pédiatre (46%) et des adultes par un médecin spécialiste (34%). Compte tenu de la couverture géographique des centres, les patients ont une distance moyenne à parcourir de 25.1 km. Des focus peuvent être fait par groupe de pathologies (anomalies chromosomiques par exemple) ou par pathologie, avec comparaison aux données de prévalence de la littérature.

Discussion :

Cet effort épidémiologique permet d'acquérir une meilleure connaissance des activités de la filière AnDDI-Rares sur 10 ans de pratique. Cette base de données est un point fort pour la mise en place d'études de recherche épidémiologiques, cliniques, thérapeutiques. Les limites identifiées sont la non-exhaustivité des données due à la participation facultative des CCMR, l'hétérogénéité des données implémentées par du personnel administratif/étudiants et la présence de doublons lorsqu'un patient est pris en charge par différents CRMR. L'intégration dans les dossiers patients du SDM grâce à un cadre d'interopérabilité national (ASIP) et la mise en place de la BNDMR permettront une meilleure exhaustivité et renforceront la qualité des données. Cet effort est comparé à des initiatives européennes et internationales, mises en place de façon intégrée aux systèmes de santé ou dans des initiatives de recherche.

EF18 : Cartographie fine des loci 2q35 et 8p12 associés à la prédisposition au cancer différencié de la thyroïde chez les Européens et Océaniens

Auteurs :

Julie Guibon (1, 2), Pierre-Emmanuel Sugier (1), Mojgan Karimi (1), Om Kulkarni (2), Jean-François Deleuze (3), Anne Boland (3), Delphine Bacq-Daian (4), Céline Besse (3), Evgenia Ostroumova (5), Ausrele Kesminiene (5), Marie-Christine Boutron-Ruault (6), Carole Rubino (1), Pascal Guénel (7), Florent De-Vathaire (1), Fabienne Lesueur (2), Thérèse Truong (1)

1. Inserm, U1018, CESP (Centre de Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations), Université Paris-Saclay, Université Paris-Sud, Villejuif, France
2. Inserm, U900, Institut Curie, Université PSL, Mines ParisTech, Paris, France
3. Institut de biologie François Jacob, CEA, Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Université Paris-Saclay, Evry, France
4. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, Evry, France
5. Section Environnement et Rayonnements, Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), -, Lyon, France
6. , Inserm CESP (Centre de Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations), Université Paris-Saclay, Université Paris-Sud, Villejuif, France
7. , INSERM, CESP (Centre de Recherche en Epidémiologie et Santé des Populations), Université Paris-Saclay, Université Paris-Sud, Villejuif, France

Mots clefs : cancer différencié de la thyroïde, prédisposition génétique, étude cas-témoins, étude de fine-mapping, SNPs

Résumé :

Les cancers différenciés de la thyroïde (CDT) sont les cancers les plus fréquents des glandes endocrines. L'incidence des CDT se caractérise par de fortes variations ethniques et géographiques avec une incidence élevée observée dans les populations océaniques. Des études d'association pangénomiques (ou GWAS) ont identifié dans des populations européennes et asiatiques plusieurs loci de prédisposition au CDT notamment en 2q35, 8p12, 9q22 et 14q13. Alors que les loci 9q22 et 14q13 ont été largement étudiés, les signaux en 2q35 et 8p12 restent à affiner.

Afin d'identifier de potentiels variants causaux, nous avons réalisé une étude de cartographie fine (*fine-mapping*) en 2q35 et 8p12 à partir des données GWAS du consortium EPITHYR regroupant sept études cas-témoins. Au total 1885 cas et 2321 témoins d'origine européenne, mélanésienne ou polynésienne ont été génotypés à l'aide de la puce Illumina OncoArray. Après imputation, environ 2000 SNPs en 2q35 et 6000 SNPs en 8p12 ont été analysés.

L'association SNP-CDT a été testée avec un modèle de régression logistique mixte. Pour identifier les variants causaux potentiels, nous avons réalisé des analyses conditionnelles permettant de tester l'association résiduelle après ajustement sur le top SNP, et utilisé deux méthodes bayésiennes : PAINTOR et une analyse de colocalisation (R package coloc). PAINTOR permet d'intégrer des données d'annotation fonctionnelle des SNPs et l'analyse de colocalisation permet de calculer des probabilités a posteriori de causalité (PP) sous l'hypothèse que deux phénotypes (risque de CDT et expression des gènes dans les tumeurs thyroïdiennes) partagent un même variant causal. Les données d'expression de gènes proviennent du Cancer Genome Atlas disponibles via l'outil PanCanQTL.

Nous avons confirmé dans notre population européenne les associations entre les SNPs aux loci 2q35 et 8p12 identifiés dans les précédentes GWAS et le risque de CDT. Bien que non significatives, les associations sont répliquées pour la majorité des SNPs publiés chez les Polynésiens et les Mélanésiens.

Chez les Européens, rs16857609 en 2q35 a été mis en évidence avec les PP les plus élevées ($PP_{\text{PAINTOR}} = 0,84$, $PP_{\text{colocalisation}} = 0,41$; $OR=1,4$, $p=1,6 \times 10^{-10}$). Bien que l'association chez les Mélanésiens et les Polynésiens ne soit pas significative, ce SNP a également la PP la plus élevée chez ces populations. Rs16857609, situé dans l'intron 5 de *DIRC3*, est fortement associé à l'expression de *DIRC3* et d'*IGFBP5* dans les carcinomes thyroïdiens. Au locus 8p12, le SNP rs2439304 dans la région promotrice de *NRG1* est associé au CDT chez les Européens ($OR=1,2$, $p=1,4 \times 10^{-3}$) et est identifié avec la PP la plus élevée dans les trois populations. Ce SNP est également associé à l'expression de *NRG1* dans les carcinomes thyroïdiens.

Ainsi nous avons confirmé dans EPITHYR le rôle des régions 2q35 et 8p12 dans la prédisposition au CDT et nos résultats permettront de prioriser les variants pour de futures études fonctionnelles.

Pièce jointe : Abstract_Assises_Genetiques_Epithyr_FineMapping_Guibon.pdf

EF19 : Facteurs de risque génétiques des cancers différenciés de la thyroïde : une étude d'association pangénomique dans la population multi-ethnique du consortium EPITHYR

Auteurs :

Therese Truong (1), Julie Guibon (1)

1. CESP, INSERM, Villejuif, France

Mots clefs : cancer différencié de la thyroïde, analyse pangénomique, SNPs

Résumé :

Le cancer différencié de la thyroïde (CDT) est la tumeur maligne endocrinienne la plus fréquente. Son incidence varie considérablement à travers le monde et une incidence élevée est rapportée dans certaines îles du Pacifique, telles qu'Hawaii, la Nouvelle-Calédonie et la Polynésie française. Des différences ethniques ont également été observées, avec des taux plus élevés chez les Mélanésien que chez les autres groupes ethniques de Nouvelle-Calédonie. Les causes sous-jacentes de ces variations géographiques et ethniques sont encore mal connues et un rôle des facteurs environnementaux et génétiques, ainsi que des changements dans les pratiques de dépistage, sont suspectés. Jusqu'à présent, peu de loci de prédisposition génétique ont été identifiés et les études d'association pangénomiques (GWAS) publiées ont été réalisées dans des échantillons de taille limitée.

Afin d'identifier de nouveaux loci de prédisposition au CDT, nous avons mené une étude GWAS à l'aide des données du consortium EPITHYR, qui comprend des sujets de 7 études cas-témoins en population générale conduites en France métropolitaine, en Polynésie, en Nouvelle-Calédonie, à Cuba et en Biélorussie. Au total, 3527 personnes d'origine européenne (1554 cas / 1973 témoins) et 649 personnes d'origine océanienne (301 cas / 348 témoins) ont été génotypées avec la puce OncoArray (Illumina). Après imputation, les analyses portaient sur environ 9 millions de SNP chez les Européens et 7 millions de SNP chez les Océaniens. Les odds ratios (OR) ont été calculés à l'aide de modèles logistiques mixtes avec la matrice de relation génétique en effet aléatoire, ajustés sur l'âge, le sexe et l'étude. Les analyses ont été stratifiées par sexe, groupe ethnique, groupe d'âge (< 50 ans et 50 ans), histologie (carcinome papillaire ou folliculaire) et taille du carcinome (< 10 mm et ≥ 10 mm).

Nos résultats ont confirmé les loci dans les régions 2q35, 8p12, 9q22 et 14q13 rapportés précédemment chez les européens. L'association du CDT à ces loci n'est pas significative dans les populations océaniques. Chez les Européens, nous avons identifié en plus un nouveau signal en 1p31 (OR = 0,51, $p = 3.10^{-8}$) et cette association est plus marquée chez les sujets de moins de 50 ans. Nous avons également mis en évidence un signal significatif en 1p32 chez les sujets de plus de 50 ans et chez les sujets dont le carcinome mesurait moins de 10 mm au moment du diagnostic.

De manière intéressante, le SNP en 1p31 est également associé à l'expression du gène *NFIA* dans les cellules tumorales thyroïdiennes. Ce gène est impliqué dans la régulation de la prolifération cellulaire. Le SNP en 1p32 est corrélé avec un SNP situé dans le gène *FAF1*, impliqué dans l'apoptose. Ce gène a été associé au risque de CDT dans une précédente étude « gène candidat ». Les analyses de réplification sont en cours et seront présentées.

Ainsi, les données GWAS d'EPITHYR apportent des informations supplémentaires sur la prédisposition génétique au CDT.

EF20 : Prise en compte des antécédents familiaux pour prévenir 10 530 cancers colorectaux par an en France

Auteurs :

Simon Rey (1), Anna Serova-Erard (2), Caroline Pétorin (3), Agnès Vimal (3), Julien Scanzi (4), Jacques-Olivier Bay (5), Armand Abergel (4), Denis Pezet (3), François Cornélis (1)

1. GENOAP (GENétique Oncogénétique Adulte Prévention), CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. GENOAP (GENétique Oncogénétique Adulte Prévention), CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France
3. Chirurgie digestive, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France
4. Hépatogastro-entérologie, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France
5. Oncologie, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : cancer colorectal, maladie multifactorielle, prévention personnalisée, antécédents familiaux

Résumé :

Le cancer colo-rectal (CCR) atteint 40 500 personnes par an en France, dont 25% avaient des antécédents familiaux de CCR. La recommandation actuelle pour les apparentés au premier degré de patients atteints de CCR avant 65 ans, hors cause monogénique, est le dépistage par coloscopie à partir de 45 ans, tous les 5 ans jusqu'à 75 ans. L'extension de ce dépistage familial quel que soit l'âge de survenue du CCR a été recommandée par les sociétés savantes françaises et américaines de gastro-entérologie.

L'objectif de l'étude est d'évaluer les antécédents familiaux de CCR chez les patients atteints de CCR.

De février à avril 2019, nous avons recueilli l'arbre généalogique et les antécédents familiaux chez les patients atteints de CCR pris en charge consécutivement en Oncologie digestive. Pour chaque cas de CCR survenu avant le diagnostic du patient, nous avons précisé l'âge de diagnostic et le degré de parenté.

Excluant 2 syndromes de Lynch, 70 patients ont été inclus, 40 hommes et 30 femmes, dont le diagnostic de CCR a été porté (diag) entre 33 et 84 ans (moyenne (moy) 60 ans, médiane (med) 61 ans). Des antécédents familiaux de CCR ont été retrouvés pour 18 patients (26%), 8 hommes et 10 femmes (diag 49-75 ans, moy 62 ans, med 63 ans) :

- 7 patients (10%, diag 50-75 ans, moy 65, med 66) avaient un apparenté au premier degré atteint avant 65 ans (diag 53-65 ans, moy 60, med 61).
- 4 autres patients (6%, diag 53-66 ans, moy 59, med 59) avaient un apparenté au premier degré atteint après 65 ans (diag 68-87 ans, moy 77, med 77).
- 7 autres patients (10%, diag 49-67 ans, moy 60, med 63) avaient un apparenté au second degré atteint (diag 46-80 ans, moy 59, med 55).

Dans cette série de 2019 de CCR *a priori* multifactoriel, 26% des patients avaient des antécédents familiaux de CCR au moment de leur diagnostic. Le potentiel pour la prévention du CCR en suivant parfaitement les recommandations actuelles est de 10%. En étendant ces recommandations jusqu'aux apparentés au second degré quel que soit l'âge de diagnostic, le potentiel est de 26% de CCR prévenus par an. La proportion de cas familiaux étant cohérente avec celle attendue selon les données épidémiologiques, ces observations pourraient être extrapolées à la population générale, pour un potentiel de 10 530 CCR prévenus par an. La mortalité du CCR à 5 ans étant estimée à 50% et 1/3 des CCR survenant avant 65 ans, 5 265 décès par CCR, dont 1755 prématurés, pourraient être évités chaque année par un dépistage coloscopique optimal des personnes ayant des antécédents familiaux de CCR. Afin de confirmer ces données et de disposer d'un indicateur pour mesurer l'impact des actions de prévention, nous poursuivons le recueil des données.

Le recueil systématique des antécédents familiaux détaillés de CCR, mission qui pourrait être assurée par des Services de Génétique dûment dotés

(0,1 ETP secrétaire / 300 CCR), permettrait de développer le dépistage familial pour prévenir jusqu'à 26 % des CCR, évitant 10 530 cas par an.

Pièce jointe : assises 2020 antécédents CCR_SR_ASE_FBC.docx

EF21 : Vps13b, l'analogue murin du gène impliqué dans le syndrome de Cohen, est essentiel à la spermiogénèse à travers sa fonction dans le transport endomembranaire.

Auteurs :

Romain Da Costa (1, 2), Morgane Bordessoules (1), Magali Guilleman (1, 3), Virginie Carmignac (1), Vincent Lhussiez (1), Hortense Courot (1), Amandine Bataille (4), Chlémaire Amandine (4), Céline Bruno (1, 3), Patricia Fauque (1, 3), Christel Thauvin-Robinet (1, 2), Laurence Faivre (1, 2), Laurence Duplomb (1, 2)

1. Inserm, UMR1231, Equipe GAD, Université de Bourgogne Franche Comté, F-21000 Dijon, France, Dijon, France
2. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, F-21000 Dijon, France, Dijon, France
3. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpital François Mitterrand, Université de Bourgogne Franche Comté, F-21000 Dijon, France, Dijon, France
4. Plateforme d'Imagerie Cellulaire CellImaP/DimaCell, Inserm LNC UMR1231, F-21000 Dijon, France, Dijon, France

Mots clefs : Vps13b, Rab6, Infertilité, Spermiogénèse, Transport vésiculaire, Acrosome, Golgi, Endosome, Lysosome.

Résumé :

L'acrosome du spermatozoïde est une structure formée à partir du transport vésiculaire provenant de l'appareil de Golgi et du système endolysosomal. La régulation du transport endomembranaire qui conduit à la formation de l'acrosome n'est actuellement que partiellement élucidée. Le gène *VPS13B* impliqué dans le syndrome de Cohen (maladie rare de transmission récessive autosomique associant dysmorphie faciale typique, microcéphalie, déficience intellectuelle, répartition tronculaire des graisses avec risque de diabète de type II et de maladies cardiovasculaires, rétinopathie pigmentaire et neutropénie) code pour une protéine impliquée dans le transport endolysosomal, en interagissant notamment avec RAB6.

Nous avons généré le premier modèle murin du syndrome de Cohen par un système de recombinaison Cre-LoxP (délétion de l'exon 3/décalage du cadre de lecture/codon STOP prématuré dans l'exon 4) (Poster Lhussiez *et coll.*). L'étude de sa reproduction a révélé une infertilité des mâles *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3}. Afin d'explorer les causes de cette infertilité, nous avons tout d'abord effectué un spermogramme des souris *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3}. Celui-ci a montré que les spermatozoïdes de ces souris sont peu nombreux, non mobiles et présentent des anomalies de morphologie (tête ronde). Les colorations à l'Hématoxylin/Eosin et à l'acide périodique de Schiff (PAS) ont mis en évidence une différenciation incomplète des spermatides en spermatozoïdes. En effet, l'acrosome, structure marquée au PAS, qui permet aux spermatozoïdes de féconder l'ovule, n'est pas développé chez les spermatozoïdes *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3}. Lors de la spermiogénèse, Vps13b et son interacteur Rab6 sont ainsi localisés au niveau de l'acrosome des spermatides issues de souris sauvages. Le marquage des membranes acrosomales par des lectines et des anticorps spécifiques a mis en évidence un transport endomembranaire anormal dans les spermatides *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3}. L'ensemble de nos résultats démontre que Vps13b permet l'adressage, le transport ou l'ancrage des vésicules acrosomales sur la membrane nucléaire, site de formation de l'acrosome. En l'absence de Vps13b, la membrane acrosomale et les protéines de l'acrosome sont redirigées vers l'endosome puis le lysosome lors de la différenciation des spermatides. La compréhension des paramètres moléculaires qui font que Vps13b est essentiel au transport des vésicules acrosomales pourrait permettre d'identifier des défauts de transport dans les tissus affectés dans le syndrome de Cohen. Déterminer si les hommes atteints du syndrome de Cohen présentent un spermogramme comparable à celui des souris *Vps13b*^{ΔEx3/ΔEx3} pourrait aussi contribuer à cet objectif.

EF22 : Jumping et jumping-like translocations constitutionnelles : des remaniements rares mais peut-être méconnus

Auteurs :

Kévin CASSINARI (1), Eric JEANDIDIER (2), Ferdi KUNDUL (1), Anne-Clarie BREHIN (1), Alain DIGUET (3), Eric VERPSYCK (3), Radhia M'KACHER (4), Sophie PATRIER-SALLEBERT (5), Thierry FREBOURG (1), Nathalie LE MEUR (1), Géraldine JOLY-HELAS (6), Pascal CHAMBON (1)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. Service de Génétique, Pôle de Biologie GHRMSA, Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France
3. Service de gynécologie-obstétrique, CHU Charles-Nicolle, Rouen, France
4. Radiobiology and Oncology Laboratory, CEA, IRCM, University Paris-Saclay, Paris, France
5. Fédération d'Anatomopathologie, CHU Charles-Nicolle, Rouen, France
6. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France

Mots clefs : Jumping Translocations, ACPA, mosaïques, diagnostic anténatal

Résumé :

Introduction : Les translocations sauteuses (*jumping translocations*) constituent une classe très particulière de remaniements chromosomiques combinant mosaïcisme et remaniements chromosomiques multiples. Dans chaque lignée cellulaire, un même fragment d'un chromosome donneur est transloqué avec un chromosome receveur différent. Ces phénomènes, bien décrits dans les hémopathies et les tumeurs solides, demeurent très rares en cytogénétique constitutionnelle (Reddy *et al.*, Am J Genet 2010). Les *jumping like translocations*, de mécanisme similaire mais inversé (un unique chromosome receveur et plusieurs chromosomes donneurs), sont quant à elles, exceptionnelles et jusqu'alors uniquement décrites en cytogénétique somatique (Sarova *et al.*, Cancer Genet 2014). Nous décrivons ici une observation de *jumping like translocation*, détectée en période anténatale.

Présentation clinique et explorations cytogénétiques : Au décours de l'exploration d'une hyperclarté nucale à 5 mm chez le fœtus d'une femme sans antécédents particuliers, les analyses cytogénétiques (caryotype, FISH et CGH-array) des villosités chorales révèlent la présence de quatre populations cellulaires, dont une normale. Les trois autres populations cellulaires sont porteuses d'une translocation réciproque déséquilibrée responsable d'une délétion 15q26.1-qter de 8,5 Mb associée soit à une duplication 2q31.1-qter de 44,3 Mb, soit à une duplication 3pter-p21.3 de 45 Mb ou bien à une duplication 15q26.1 de 2,5 Mb. La grossesse s'est arrêtée spontanément à 23 semaines d'aménorrhée dans un contexte de syndrome polymalformatif comprenant un retard de croissance intra-utérin sévère, un hygroma kystique, un pied bot gauche et une hernie diaphragmatique gauche.

Discussion : Au-delà de la complexité du diagnostic d'anomalies multiples en mosaïque, cette observation décrit pour la première fois une cartographie de *jumping like translocation* par CGH-array et démontre la présence d'un point de cassure unique pour le chromosome receveur. Cette observation renforce également l'hypothèse d'un mécanisme de survenue en plusieurs étapes lié à une instabilité chromosomique transitoire s'étendant sur plusieurs cycles cellulaires et reposant probablement sur un raccourcissement de la longueur des télomères et/ou sur l'apparition de néo-télomères.

Références

- Berger *et al.*, Genes Chromosomes Cancer. 2007
- Sarova *et al.* Cancer Genet. 2014
- Reddy *et al.*, Am J Genet. 2010
- Behrens *et al.*, Genes Chromosomes Cancer. 2019

Pièce jointe : Jumping Translocation-KC.PC.docx

**EF23 : Mise en place d'une plateforme de prise en charge clinico-biologique des insuffisances ovariennes prématurées (IOP) au
CHU de Rennes**

Auteurs :

Linda Akloul (1), Solène Duros (2), Mathilde Domin-Bernhard (2), Erika Launay (3), Anne-Sophie Neyroud (4), Laura Mary (3), Bénédicte Nouyou (3), Laurent Pasquier (5), Caroline Schluth-Bolard (6), Vincent Lavoué (2), Célia Ravel (7, 8), Elena Tucker (9), Andrew Sinclair (9), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (10, 8), Sylvie Odent (11, 12), Jean Leveque (13), Sylvie Jaillard (10, 8)

1. Service de Génétique Clinique, CLAD Ouest, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France
2. Département de Gynécologie Obstétrique et Reproduction Humaine, CHU Rennes, Rennes, France
3. Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
4. Service de Biologie de la Reproduction-CECOS, CHU Rennes, Rennes, France
5. Service de Génétique Clinique, CLAD Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
6. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
7. Service de Biologie de la Reproduction-CECOS, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France
8. INSERM U1085-IRSET, Université de Rennes 1, F-35042 Rennes, Rennes, France
9. Murdoch Children's Research Institute, Royal Children's Hospital, Melbourne, Australie
10. Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France
11. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France
12. IGDR UMR 6290 CNRS, Université de Rennes 1, F-35042 Rennes, Rennes, France
13. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Rennes, Rennes, France

Mots clefs : insuffisances ovariennes prématurées, séquençage massif en parallèle, prise en charge optimale

Résumé :

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) touche 1% des femmes âgées de moins de 40 ans et représente une cause majeure d'infertilité féminine. Elle est caractérisée par la survenue de troubles du cycle, notamment aménorrhée, associés à une élévation du taux sanguin de la FSH et une baisse du taux sanguin de l'œstradiol. Les mécanismes à l'origine d'une IOP peuvent être un défaut dans la formation des follicules primordiaux, une activation défectueuse de ces derniers, une maturation ovocytaire ou une folliculogenèse défailtantes, ou encore une atrophie folliculaire accélérée. L'IOP a souvent une cause génétique, chromosomique ou génique. Les gènes identifiés sont notamment impliqués dans le développement gonadique, la méiose, la réparation de l'ADN, la folliculogenèse, l'apoptose, le métabolisme, le fonctionnement mitochondrial et la stéroïdogénèse. L'utilisation des approches de séquençage massif en parallèle chez des patientes avec IOP a permis ces dernières années d'obtenir de nouvelles données sur la génétique de cette pathologie. En effet, de nouveaux gènes associés à l'IOP ont pu être rapportés, avec de nouveaux cas régulièrement décrits, l'identification de voies génétiques communes entre différentes situations d'atteinte ovarienne, entre infertilités féminine et masculine ou la mise en évidence de potentiels liens entre IOP et cancer. Par ailleurs, une origine oligo- ou polygénique de l'IOP peut être suspectée, notamment en cas de phénotype variable associé à une anomalie moléculaire d'un même gène.

Nous rapportons les résultats des études moléculaires effectuées par séquençage massif en parallèle chez des patientes présentant une situation de défaillance ovarienne (IOP ou diminution de la réserve ovarienne). Les approches utilisées (séquençage d'exome ou de génome pour l'identification de points de cassure de remaniements chromosomiques) a permis de rapporter de nouveaux variants dans des gènes connus d'IOP ainsi que de nouveaux gènes candidats. Pour certains d'entre eux, des études fonctionnelles valident le caractère délétère du variant observé. Les études moléculaires mises en place au CHU de Rennes s'intègrent dans le cadre du développement d'une plateforme régionale de prise en charge clinico-biologique des IOP, incluant les services de médecine et biologie de la reproduction, génétique clinique et biologique. Le but de cette plateforme sera d'offrir une prise en charge optimale aux patientes et à leurs familles (prise en charge pour don d'ovocyte, préservation de fertilité, lutte contre les comorbidités, soutien psychologique, conseil génétique). Elle permettra également de réaliser une interface avec les plateformes de séquençage dans le cadre du plan France Médecine Génomique 2025, pour l'indication IOP.

EF24 : Syndrome de persistance des canaux de Müller (PMDS) dû à des microdélétions : un défi diagnostique

Auteurs :

Lucie TOSCA (1, 2), Jérôme BOULIGAND (3), Laure LECERF (4), Nathalie JOSSO (5), Gérard TACHDJIAN (1, 2), Jean-Yves PICARD (6)

1. AP-HP, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Hôpital Antoine Bécère, 92140 Clamart, France
2. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Université Paris-Sud Paris Saclay, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Service de Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France
4. Unité 955, INSERM - Université Paris-Est, Faculté de Médecine, 94000 Créteil, France
5. UMRS_938 Centre de Recherche Saint Antoine, INSERM - Sorbonne Université, 75012 PARIS, France
6. UMRS_938 Centre de Recherche Saint Antoine, INSERM - Sorbonne Université, 75012 Paris, France

Mots clefs : PMDS, AMH, AMHR2, délétion, DSD

Résumé :

Le syndrome de persistance des canaux de Müller (PMDS) est une maladie autosomique récessive caractérisée par la persistance de dérivés Müllériens, utérus et trompes de Fallope, chez des mâles 46,XY dont les organes génitaux sont normalement virilisés. Il est habituellement provoqué par des mutations des gènes codant pour l'hormone anti-Müllérienne (AMH) ou pour son récepteur primaire AMHR2 (Picard et al., 2017). Nous avons découvert dans deux familles non apparentées de grandes microdélétions dans le gène AMHR2. Le gène AMHR2 comporte 11 exons et il est localisé sur le bras long du chromosome 12, bande 12q13.13.

La famille 1 est d'origine roumaine, elle a une consanguinité connue. Le patient a été d'abord exploré par amplification PCR classique et séquençage de Sanger. La PCR n'a pas permis l'amplification des exons 7 à 11. Le séquençage des exons 1 à 6 a montré une séquence normale.

La famille 2 est d'origine flamande, et comporte deux frères atteints, dont un seul a pu être exploré. Une mutation ponctuelle a été détectée, c.532C > T, changeant un codon CGA codant pour une Arginine en un codon Stop TGA, soit p.(Arg178*). Un diagnostic de mutation homozygote a d'abord été retenu, mais l'exploration des parents a donné un résultat inattendu : la mutation ponctuelle est présente chez le père, mais pas chez la mère, faisant suspecter chez elle une délétion touchant tout ou partie du gène AMHR2.

De fait, les deux familles ont été explorées par analyse par puce à ADN de type CGH-array (Agilent Technologies) avec un format haute résolution 1M (format 244K pour les parents). Dans la famille 1, une délétion partielle du gène AMHR2 a été détectée, présente à l'état homozygote chez le patient et à l'état hétérozygote chez chacun de ses deux parents, et touchant la partie aval du gène. Ces résultats corrélaient avec une analyse NGS ciblée sur les gènes impliqués dans la différenciation sexuelle montrant que la microdélétion touche les exons 7 à 11, et se termine dans le grand 6^{ème} intron central du gène AMHR2, qui mesure près de 3 Kpb.

Dans la famille 2, une autre délétion du gène AMHR2 a été détectée, qui recouvre tout le gène, elle est présente à l'état hétérozygote chez le patient et chez sa mère.

Nos résultats constituent la première démonstration de microdélétions responsables du PMDS. Ils montrent le risque de diagnostic incomplet quand le séquençage classique est utilisé sans que les parents soient accessibles à l'étude. Ils montrent aussi l'intérêt des techniques de CGH-array et de NGS ciblé quand des microdélétions sont à l'origine du syndrome. Il faut noter l'absence de malformations et de retard mental, qui sont souvent rapportés pour les délétions de plus grande taille et à l'état hétérozygote chez des patients ne présentant pas de phénotype PMDS.

Picard JY, Cate RL, Racine C, Joso N (2017). The persistent Müllerian duct syndrome: An update based upon a personal experience of 157 cases. Sexual Development 11 109-125

Pièce jointe : Tosca abstract Assises 2019.docx

EF25 : Oligothérapie antisens pour lever l'arrêt prématuré de la traduction du gène CEP290 chez deux individus atteints de dystrophies rétiniennes.

Auteurs :

Iris Barny (1), Isabelle Perrault (1), Nicolas Goudin (2), Sabine Defoort-Dhellemmes (3), Imad Ghazi (4), Josseline Kaplan (1), Jean-Michel Rozet (1), Xavier Gérard (1)

1. Laboratoire de Génétique en Ophtalmologie, Institut Imagine - Université Paris Descartes, Paris, France
2. Cell Imaging Core Facility of the Structure Fédérative de Recherche Necker, Institute of Genetics Diseases, Imagine, Paris, France
3. Service d'Exploration de la Vision et Neuro-Ophtalmologie, Pôle d'Imagerie et Explorations Fonctionnelles, CHRU de Lille, Lille, France
4. Department of Ophthalmology, IHU Necker-Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : CEP290, AON, Dystrophies rétiniennes

Résumé :

Introduction : *CEP290* code une protéine centrosomale essentielle à la formation et la maintenance des cils primaires et mobiles. Les mutations récessives de ce gène sont responsables d'anomalies de la ciliogénèse et provoquent un large spectre de pathologies allant d'une cécité néonatale rétinienne, l'amaurose congénitale de Leber (ACL) à des ciliopathies multiviscérales. Récemment, nous avons rapporté l'existence d'atteintes rétiniennes inhabituellement modérées chez des individus porteurs de mutations bialléliques tronquantes, compensées par l'exclusion spontanée (basal exon skipping, BES) et/ou induite par la mutation (nonsense-associated altered splicing, NAS) des exons mutants. Cette observation nous a conduits à considérer un saut d'exon ciblé pour rétablir un cadre ouvert de lecture et corriger les anomalies ciliaires associées à une mutation nonsense récurrente du gène *CEP290* responsable d'ACL (c.4723A > T, p.Lys1575* ; exon 36).

Matériel et méthodes : Utilisation d'un oligonucléotide antisens (AON) ciblant l'exon 36 du gène *CEP290* dans des lignées de fibroblastes de contrôles et de deux patients non-apparentés porteurs à l'état homozygote de la mutation p.Lys1575* (P1 and P2) et atteints respectivement d'une dystrophie rétinienne précoce et sévère (EOSRD) et d'une ACL. L'ARNm et la protéine CEP290 ainsi que l'intégrité du métabolisme ciliaire ont été analysés avant et après traitement.

Résultats : L'analyse de l'ARNm du gène *CEP290* d'une rétine humaine et des fibroblastes contrôles a révélé l'existence d'un saut endogène basal de l'exon 36. Dans les fibroblastes des deux patients l'exclusion de l'exon 36 était accrue, suggérant l'implication d'un NAS en plus du BES. De plus, nous avons observé une corrélation entre l'abondance du transcrit déléte de l'exon 36 ($\Delta 36$), le nombre de cellules ciliées et la sévérité de l'atteinte rétinienne des deux patients (abondance $\Delta 36$ et pourcentage de cellules ciliées supérieurs chez P1 atteint d'EOSRD par rapport à P2 atteint d'ACL). L'analyse qualitative des cils a par ailleurs révélé un allongement axonemal, suggérant un trafic intraflagellaire anormal. L'utilisation de l'AON ciblant l'exon 36 nous a permis d'augmenter l'abondance du transcrit $\Delta 36$ et de la protéine CEP290, de diminuer la taille des cils et d'améliorer la ciliogénèse chez P2 mais pas chez P1 exprimant un niveau d'ARNm déléte de l'exon 36 plus important.

Discussion : Cette étude montre qu'une augmentation modérée de la quantité de protéine CEP290 déléte des acides aminés codés par l'exon 36 dans les cellules de patients améliore la formation des cils mais qu'une quantité trop importante compromet la ciliogénèse. L'utilisation d'oligonucléotides antisens visant au saut de l'exon 36 dans des organoïdes rétiens dérivés d'iPSCs de patients porteurs de la mutation c.4723A > T mérite donc toute considération pour déterminer si la même observation pourrait être faite dans les photorécepteurs.

Pièce jointe : Abstract ASSISES 2020_Iris Barny.docx

EF26 : Identification d'un nouveau mécanisme pathogène dans le syndrome de Usher de type 1 par étude des transcrits du gène PCDH15 et séquençage long-reads de l'ADN

Auteurs :

Christel Vaché (1), Jacques Puechberty (2), Valérie Faugère (1), Floriane Darmaisin (1), Alessandro Liquori (1), David Baux (1), Gema Garcia-Garcia (3), Catherine Blanchet (4), Christian Hamel (5), Isabelle Meunier (5), Michel Koenig (1), Franck Pellestor (6), Anne-Françoise Roux (1)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Service de Génétique Clinique, CHU Montpellier, Montpellier, France
3. Laboratoire de génétique des maladies rares, CHU Montpellier, Montpellier, France
4. Service ORL, CHU Montpellier, Montpellier, France
5. Centre National de Référence Maladies Rares "Affections Sensorielles Génétiques", CHU Montpellier, Montpellier, France
6. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Plateforme Chromostem, CHU Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Usher syndrome, transcrits de fusion, séquençage long-reads, anomalie de structure

Résumé :

Le syndrome de Usher de type 1 (USH1) est une maladie autosomique récessive rare caractérisée par la présence d'une surdité neurosensorielle congénitale profonde associée à des troubles vestibulaires et le développement d'une rétinite pigmentaire. Le gène *PCDH15*, qui code pour la protocadhérine 15, est l'un des cinq gènes impliqués dans cette pathologie. En diagnostic moléculaire son étude est classiquement réalisée lors d'un séquençage NGS de panel de gènes, avec analyse des séquences exoniques et introniques flanquantes, complété par différentes techniques permettant la recherche de grands réarrangements.

Cette approche, utilisée depuis plusieurs années dans notre laboratoire, permet dans la très grande majorité des cas d'identifier les deux variants *PCDH15* responsables de la pathologie ; néanmoins, chez une patiente présentant des signes cliniques caractéristiques d'un USH1 seule une variation causale *PCDH15* a pu être détectée. Le travail présenté ici décrit les différentes étapes qui ont été alors développées pour identifier et caractériser la seconde altération à l'origine de sa pathologie.

À partir d'analyses RT-PCR, réalisées sur des ARNs issus de cellules nasales en culture, nous avons tout d'abord mis en évidence d'un défaut d'amplification de la jonction des exons 13 à 14. Le séquençage des 30 kb de l'intron 13 par NGS n'ayant pas permis d'identifier une seconde altération pouvant expliquer ce résultat, de nouvelles études ARNs par RACE PCR ont été ensuite menées. Celles-ci ont finalement permis de détecter la présence des transcrits de fusion *PCDH15-Linc00844* et *BICC1-PCDH15*, témoins d'une grande inversion paracentrique du chromosome 10.

Afin de valider et caractériser ce variant de structure, nous avons ensuite cherché à identifier les points de cassure de cet événement mutationnel par séquençages long-reads de l'ADN de la patiente en utilisant la technologie nanopore (Minlon, ONT-Oxford Nanopore Technologies). Les résultats de cette analyse montrent que ces points de cassures sont localisés au sein de séquences rétrovirales endogènes HERVH qui ne sont pas couvertes lors d'une analyse NGS.

L'ensemble de cette étude a permis d'identifier pour la première fois dans le syndrome de Usher l'implication d'une inversion paracentrique de 4,6 Mb du chromosome 10 altérant directement le gène *PCDH15*. Ces anomalies de structure équilibrées sont difficilement détectables et, bien que rares, certainement sous-estimées. Au niveau des laboratoires de diagnostic moléculaire, l'utilisation du séquençage long-reads reste encore limité mais l'intérêt croissant de ses différentes applications en génétique médicale ainsi que les améliorations constantes de cette technologie devraient permettre son déploiement dans le cadre d'offres de diagnostic exhaustif.

Pièce jointe : Christel Vaché_assises 2020.docx

EF27 : Une piste thérapeutique pour une ciliopathie multisystémique associée à une mutation du gène TUBB4B.

Auteurs :

Sabrina Méchaussier (1), Maria Descartes (2), Josseline Kaplan (1), Jean-Michel Rozet (1), Isabelle Perrault (1)

1. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique (LGO), Institut Imagine, Paris, France

2. Département de Génétique, Université de l'Alabama, Birmingham, Etats-Unis

Mots clefs : TUBB4B, tubulinoopathie, ciliopathie, taxol

Résumé :

Introduction. Nous avons récemment rapporté l'identification de mutations hétérozygotes affectant le résidu Arg391 de l'isotype 4B de la β -tubuline (*TUBB4B*) à l'origine d'une maladie dégénérative très sévère et précoce touchant la rétine et la cochlée dans quatre familles non apparentées. L'étude des microtubules (MT) et de la ciliogénèse dans des fibroblastes de patients et dans un modèle de surexpression des protéines mutantes a révélé des anomalies de la dynamique du réseau de MT sans atteinte ciliaire. Nous rapportons une nouvelle mutation du gène *TUBB4B* (p.Pro358Ser) survenue *de novo* chez un individu de petite taille, atteint de cécité associée à une surdité de perception et présentant une insuffisance rénale chronique et des infections ORL récurrentes. Les études fonctionnelles démontrent l'existence d'une double atteinte tubulaire et ciliaire majeure.

Matériel et méthodes. Les cellules ciliées de l'épithélium nasal du patient ont été collectées par brossage et analysées par microscopie électronique à transmission (MET). La dynamique des MT et la ciliation ont été analysés par immunocytochimie dans un modèle cellulaire de surexpression des protéines TUBB4B p.Pro358Ser ou sauvage marquées par un FLAG en C-ter en présence ou non d'un inhibiteur de la dépolymérisation des MT, le taxol (25 nM).

Résultats. L'étude des cils des cellules de l'épithélium nasal du patient a mis en évidence une raréfaction majeure de cils, de graves anomalies axonémales et des corps basaux très désorganisés. Celle des cellules surexprimant la protéine mutante a montré une absence du réseau de MT et de cil primaire. L'analyse de la structure atomique de la β -tubuline a révélé que le résidu Pro358 était situé dans une région de liaison au taxol qui, ajouté au milieu de culture, a permis de restaurer la ciliation et la formation d'un réseau de MT comprenant la tubuline mutante, dans le modèle de surexpression.

Discussion et conclusion. Les anomalies ciliaires graves observées dans les cellules de l'épithélium nasal du patient et celles induites par la surexpression de la protéine mutante dans un modèle cellulaire sont en accord avec l'implication de la mutation dans le phénotype ciliaire du patient. La présence de MT et de cils primaires après traitement par le taxol, une drogue largement utilisée dans le traitement des cancers, pose la question de son mode d'action sur la protéine mutante et de son utilisation thérapeutique chez le patient.

EF28 : Expression ectopique de Sox21 par adoption d'un enhancer de Dct et surexpression d'un gène du glaucome chez la souris modèle de la microcorie congénitale liée aux délétions du chromosome 13q32.1.

Auteurs :

Clémentine Angée (1), Brigitte Nedelec (1), Pierre David (2), Sylvie Gerber (1), Sylvain Crippa (3), Bruno Passet (4), Jean-Luc Vilotte (4), Nicolas Chassaing (5), Josseline Kaplan (1), Dario Lupianez (6), Corrine Kostic (3), Patrick Calvas (5), Jean-Michel Rozet (1), Lucas Fares-Taie (1)

1. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique (LGO), Institut Imagine, Paris, France
2. Plateforme de Transgénèse, Institut Imagine, Paris, France
3. Faculté de Biologie et Médecine, Hôpital ophtalmique Jules Gonin, Lausanne, Suisse
4. Animal Models for the Differentiation of Tissues (MoDiT), INRA-AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France
5. Service de Génétique Clinique, Hôpital Purpan, Toulouse, France
6. Berlin Institute for Medical Systems Biology (BIMSB), Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Berlin, Allemagne

Mots clefs : Microcorie congénitale, Glaucome primitif à angle ouvert, Développement irien, Topologically-Associating-Domain, Sox21.

Résumé :

Introduction. La microcorie congénitale (MCOR) est une maladie rare dominante autosomique du développement irien caractérisée par une absence du muscle dilatateur (MD). C'est aussi un modèle d'étude du glaucome primitif à angle ouvert (GPAO, 4% de la population mondiale) qui survient dans 30% des cas de MCOR et inhabituellement précocement. En 2015, nous avons montré que la microcorie est due à des délétions submicroscopiques du chromosome 13q32.1 altérant invariablement *GPR180* et *TGDS*. La perte de fonction individuelle de ces gènes à l'état hétérozygote ne peut expliquer à elle seule la maladie, suggérant une modification de l'architecture régulationnelle de la région 13q32.1 où sont localisés trois gènes d'intérêt: *DCT*, impliqué dans la pigmentation irienne, *SOX21*, qui régule l'expression de *PAX6* impliqué dans le développement irien, et *ABCC4* qui joue un rôle dans le maintien de la pression intra-oculaire (PIO), dont l'augmentation est un facteur majeur de GPAO.

Matériel & Méthode. La région synténique du locus MCOR (35kb) a été délétée chez la souris. Le phénotype clinique et moléculaire des animaux hétérozygotes a été analysé par pupillométrie, RTqPCR, RNAseq, Western Blot, CHIPseq et 4Cseq.

Résultats. Si la délétion est létale à l'état homozygote, les animaux hétérozygotes sont viables et normaux à l'exception d'un diamètre pupillaire modérément réduit ($p < 0.01$). Les analyses du transcriptome irien ont révélé la dérégulation d'un gène unique aux alentours de la délétion : *Sox21*, exprimé de façon ectopique (confirmé par RT-qPCR et analyse Western Blot) avant la formation du MD et se poursuivant à l'âge adulte. Les analyses des données du 4Cseq ciblant la région entourant *Sox21* ont montré la présence d'un TAD couvrant 1Mb, de *Dct* à *Uggt2*, incluant le locus MCOR. *Sox21* interagit avec tous les gènes présents dans le TAD dont l'organisation semble inchangée chez l'hétérozygote. Les données d'analyse ChIPseq-H3K27Ac irien ont permis d'identifier deux enhancers actifs de *Dct* et le ChIPseq-*Sox21* a pointé les cibles ADN de *Sox21* dans l'iris des animaux hétérozygotes. L'une d'entre-elles, impliquée dans le maintien de la PIO, était dérégulée dans les données de RNAseq.

Conclusion. Nous montrons ici que la délétion minimale à l'origine de la MCOR modifie l'architecture régulationnelle de la région 13q32.1 conduisant à l'expression illégitime de *Sox21* dans l'iris en développement. Nous suggérons qu'en l'absence de leurs cibles endogènes *Tgds* et *Gpr180*, les enhancers de *Dct* privilégient leur interaction avec le promoteur de *Sox21*, soit en raison d'une modification de la compétition entre promoteurs ou par réduction de la distance génomique dans le TAD. Enfin, nous suggérons que le GPAO des patients MCOR est secondaire à la dérégulation de *Sox21* plutôt qu'à celle d'*Abcc4* également localisé dans le TAD.

Pièce jointe : abstract_CAngee.pdf

EF29 : Le séquençage haut-débit couplé à l'analyse protéomique des dépôts amyloïdes: un diagnostic de certitude du type d'amylose pour une nouvelle médecine anti-amyloïde ciblée

Auteurs :

caroline Beugnet (1), Magali Colombat (2), Cécile Fourrage (1, 3), Patrick Nitschké (4), Christine Bole (5), Julie Steffann (1), Bonnefont Jean-Paul (1), Sylvain Hanein (6), Sophie Valleix (1)

1. Génétique Moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Service d'Anatomopathologie, Institut Universitaire du Cancer Toulouse Oncopole, Toulouse, France
3. Plateforme Bioinformatique, Institut Imagine, Paris, France
4. Bioinformatic Core Facility, Institut Imagine, Paris, France
5. Genomic Core Facility, INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
6. Translational Genetic, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : NGS, Spectrométrie de masse, microdissection laser, dépôts amyloïdes, amyloses héréditaires

Résumé :

Introduction : Les amyloses constituent un groupe large et hétérogène de pathologies qui ont toutes en commun la présence de dépôts amyloïdes ayant une morphologie fibrillaire et des caractéristiques de coloration et ultrastructurales similaires. Les dépôts amyloïdes sont constitués majoritairement par une protéine qui, pour des raisons diverses, subit un changement conformationnel conduisant à une structure en feuillets bêta-croisés, hautement pathogénique et toxique pour les tissus entraînant un dysfonctionnement irréversible des organes touchés. Actuellement, plus de 30 protéines différentes sont à l'origine d'une forme d'amylose chez l'Homme. Les amyloses peuvent toucher n'importe quel organe, être systémiques et/ou localisées à un seul organe, acquises ou héréditaires. Le diagnostic clinique est complexe, sans signes spécifiques nécessitant la mise en évidence histologique de dépôts amyloïdes pour affirmer le diagnostic d'une amylose. Ensuite, il faut déterminer avec précision la nature de la protéine en cause, c'est-à-dire « typer » l'amylose chez chaque patient car les options thérapeutiques sont très différentes selon l'amylose. Très récemment, le paysage thérapeutique s'est enrichi de l'utilisation avec succès d'oligonucléotides antisens et siRNA qui permettent de réduire considérablement et de façon spécifique la production de la protéine amyloïde en cause. Par conséquent, face à ces nouveaux espoirs thérapeutiques, un diagnostic de certitude du type d'amylose pour chaque patient devient la base incontournable pour distinguer les formes traitables et non traitables.

Méthodes et résultats: Pour cela, nous avons développé un panel NGS incluant 20 gènes impliqués dans les amyloses héréditaires et nous rapportons les résultats génétiques d'une large série de patients atteints de différentes formes d'amylose systémique ou localisée, héréditaire ou acquise. Dans des cas sélectionnés, l'analyse des dépôts amyloïdes par spectrométrie de masse en tandem, après microdissection au laser, a été réalisée et les données du typage par protéomique ont été corrélées avec les résultats génétiques pour déterminer la pathogénicité d'un nouveau variant ou pour démontrer une nouvelle forme d'amylose héréditaire.

Conclusions : L'analyse NGS couplée à l'analyse des dépôts amyloïdes par spectrométrie de masse est une approche combinée innovante en pratique diagnostique, permettant d'augmenter la fiabilité du diagnostic du type d'amylose. Par conséquent, ce diagnostic de certitude du type d'amylose permet d'améliorer le conseil génétique, le dépistage des patients à risque et la mise en place d'un traitement ciblé.

EF30 : Mitochondrial defect in muscle precedes neuromuscular junction degeneration and motor neuron death in CHCHD10S59L/+ mouse

Auteurs :

Sylvie Bannwarth (1), Emmanuelle Genin (1), Blandine Madji Hounoum (2), Konstantina Fragaki (1), Sandra Lacas-Gervais (3), Alessandra Mauri-Crouzet (1), Françoise Lespinasse (1), Julien Neveu (1), Baptiste Ropert (1), Gaëlle Augé (1), Charlotte Cochaud (1), Cynthia Lefebvre-Omar (4), S Bigou (4), Aude Chiot (4), Fanny Mochel (5), Séverine Boillée (4), Christian Lobsiger (6), Delphine Bohl (4), Jean-Ehrland Ricci (2), Véronique Paquis-Flucklinger (1)

1. IRCAN, Université Côte d'Azur, Inserm U1081, CNRS UMR7284, CHU de Nice, Nice, France
2. C3M, Université Côte d'Azur, Inserm U1065, Nice, France
3. Centre Commun de Microscopie Appliquée, Université Côte d'Azur, Nice, France
4. ICM, Inserm U1127, CNRS UMR7225, Sorbonne Universités, Paris, France
5. Département de Génétique et Centre de Référence des Maladies Neurométaboliques de l'Adulte, UPMC, Sorbonne universités, Paris, France
6. ICM, Inserm U1127, CNRS UMR7225, Sorbonne Universités, p, France

Mots clefs : CHCHD10, ALS, mitochondria

Résumé :

Recently, we provided genetic basis showing that mitochondrial dysfunction can trigger motor neuron disease (MND). We reported patients, carrying the p.Ser59Leu heterozygous mutation in *CHCHD10*, from a large family with a mitochondrial myopathy associated with MND. Rapidly, our group and others reported *CHCHD10* mutations in amyotrophic lateral sclerosis (ALS), frontotemporal dementia (FTD)-ALS and other neurodegenerative diseases. We generated knock-in (KI) mice, carrying the p.Ser59Leu mutation, that mimic the mitochondrial myopathy with mtDNA instability displayed by the patients from our original family. Before 14 months of age, all KI mice developed a fatal mitochondrial cardiomyopathy associated with enhanced mitophagy. *CHCHD10*^{S59L/+} mice also displayed neuromuscular junction (NMJ) and motor neuron degeneration with hyper-fragmentation of the motor end plate and moderate but significant motor neuron loss in lumbar spinal cord at the end stage of the disease. At this stage, we observed TDP-43 cytoplasmic aggregates in spinal neurons. We also showed that motor neurons differentiated from human iPSC carrying the p.Ser59Leu mutation were much more sensitive to Staurosporine or glutamate-induced caspase activation than control cells. CHCHD10 is highly expressed in the NMJ post-synaptic part and we observed CHCHD10 abnormal expression in *CHCHD10*^{S59L/+} mice. Furthermore, we found OXPHOS deficiency in muscle of *CHCHD10*^{S59L/+} mice at 3 months of age in the absence of neuron loss in spinal cord.

Our data confirm that mitochondrial deficiency associated with *CHCHD10* mutations can be at the origin of MND. The pathological effects of the p.Ser59Leu mutation target the muscle prior to NMJ and motor neurons and, likely lead to OXPHOS deficiency, loss of cristae junctions and destabilization of internal membrane structure within mitochondria at motor end plate of NMJ, impairing neurotransmission. Our results are in favor with a key role for muscle in MND associated with *CHCHD10* mutations.

EF31 : Un outil d'interprétation des réarrangements du génome mitochondrial couplant eKLIPse à une approche de machine learning

Auteurs :

Céline Bris (1, 2), David Goudenège (1, 2), Valérie Desquiret - Dumas (1, 2), Sylvie Bannwarth (3), Pauline Gaignard (4), Aurélien Trimouille (5), Benoit Rucheton (6), Stéphane Allouche (7), Claude Jardel (8), Abdel Slama (9), Magalie Barth (1), Marco Spinazzi (10), Marie-Laure Martin-Negrier (5), Cécile Rouzier (11), Yann Péréon (12), Véronique Paquis-FLUCKLINGER (3), Christophe Verny (10), Dominique Bonneau (13, 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. Service de génétique clinique, CHU de Nice, Nice, France
4. Laboratoire de biochimie, CHU Paris-Sud - Hôpital de Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France
5. Service de génétique, Groupe Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
6. Service de biochimie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Laboratoire de Biochimie, CHU Caen, Caen, France
8. Laboratoire de Biochimie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Laboratoire de Biochimie, CHU Paris-Sud - Hôpital de Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France
10. Service de neurologie, CHU d'Angers, Angers, France
11. Université Côte d'Azur, INSERM U1081, CNRS UMR7284, IRCAN, CHU de Nice, Nice, France
12. Service d'explorations fonctionnelles, CHU de Nantes, Nantes, France
13. Service de génétique clinique et cytogénétique, CHU d'Angers, Angers, France

Mots clefs : ADN mitochondrial, grands réarrangements, machine learning, bioinformatique, eKLIPse

Résumé :

INTRODUCTION. Les défauts de maintenance de l'ADN mitochondrial (ADNmt) causés par des gènes nucléaires sont à l'origine d'un grand nombre de maladies mitochondriales se caractérisant par l'accumulation de délétions multiples de l'ADNmt. Cependant, ces délétions s'accumulent également au cours du vieillissement, ce qui rend leur interprétation difficile chez les patients suspectés de maladies mitochondriales. L'objectif de ce travail était d'identifier les critères permettant de discriminer ces deux situations, en utilisant eKLIPse, un outil bioinformatique de détection des grands réarrangements de l'ADNmt.

PATIENTS ET METHODES. Une cohorte de dérivation comportant des données de séquençage de nouvelle génération (NGS) de l'ADNmt a été analysée avec eKLIPse pour des patients (P) présentant des variants pathogènes connus de gènes nucléaires impliqués dans la maintenance de l'ADNmt et des contrôles (C) à partir de biopsies musculaires (32 P et 53 C) et de prélèvements urinaires (10 P et 37 C).

Les profils délétionnels ont été comparés entre les deux groupes par classes d'âge de manière à identifier les critères discriminants et permettre le développement d'un modèle d'analyse par une approche de type réseau neuronal. Celui-ci a ensuite été testé sur une cohorte de validation de 40 patients adressés au laboratoire entre janvier 2018 et juin 2019, pour valider son intérêt en diagnostic.

RESULTATS. L'analyse des données NGS d'ADNmt grâce à eKLIPse a permis d'identifier l'accumulation de délétions de l'ADNmt pour tous les patients dans le tissu musculaire et cellules uroépithéliales, et seulement pour 2/3 des contrôles pour les 2 tissus. Plusieurs paramètres discriminant les patients des contrôles en fonction de leur âge ont été identifiés et intégrés à un modèle d'analyse (nombre de délétions, hétéroplasmie, répétitions aux points de cassure, localisation et pourcentage de délétion cumulée). Pour la cohorte de validation, l'utilisation d'eKLIPse a permis l'identification de délétions de l'ADNmt pour 19 patients (47,5%). Pour 15 de ces patients les délétions observées ont été associées au vieillissement, et pour les 4 autres à une anomalie de maintenance, confirmant notamment la pathogénicité de variants de signification inconnue (VSI) dans les gènes *POLG* et *TWNK*.

CONCLUSION. L'analyse des données de NGS de l'ADNmt sur muscle et urine à l'aide d'eKLIPse a permis de différencier des profils délétionnels caractéristiques en fonction de leur origine : défaut de maintenance de l'ADNmt ou processus de vieillissement physiologique. L'utilisation de ce modèle permet d'orienter la stratégie diagnostique vers l'analyse des gènes nucléaires impliqués dans la maintenance de l'ADNmt en cas d'identification de délétions multiples, mais également comme outil de validation fonctionnelle pour faciliter la classification des VSI selon les critères de l'ACMG pour les gènes nucléaires associés à la maintenance de l'ADNmt.

EF32 : Dix nouvelles mutations du gène *GFM1* chez des enfants avec hypotonie axiale et dystonie

Auteurs :

Benedetta Ruzzenente (1), Giulia Barcia (2), Marlène Rio (2), Zahra Assouline (2), Coralie Zangarelli (3), Naig Gueguen (4), Valerie Desquiret Dumas (4), Pascale Marcorelles (5), Manuel Schiff (3), Abdelhamid Slama (6), Magalie Barth (4), Marie Hully (7), Pascale de Lonlay (8), Arnold Munnich (2), Isabelle Desguerre (7), Jean-Paul Bonnefont (9), Julie Steffann (10), Vincent Procaccio (4), Nathalie Boddaert (11), Agnès Rötig (1), Metodi D Metodieiev (3)

1. , Institut Imagine : 24 Boulevard du Montparnasse, 75015 Paris, Paris, France
2. , Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 Rue de Sèvres 75015 Paris, Paris, France
3. , Institut IMAGINE, Paris, France
4. , MitoVasc Institute, Angers, France
5. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, CHRU de Brest, Brest, France
6. , Biochemistry laboratory, Hôpital Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
7. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
8. , Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
9. 2 Service de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
10. Service de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
11. Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : mitochondrial diseases, OXPHOS defect, mitochondrial translation, *GFM1*

Résumé :

Pathogenic *GFM1* variants have been linked to neurological phenotypes with or without liver involvement, but only a few cases have been reported in the literature.

Here, we report clinical, biochemical and neuroimaging findings from nine unrelated children carrying *GFM1* variants, 10 of which were not previously reported. All patients presented with neurological involvement—mainly axial hypotonia and dystonia during the neonatal period—with five diagnosed with West syndrome; two children had liver involvement with cytolysis episodes or hepatic failure. While two patients died in infancy, six exhibited a stable clinical course. Brain MRI showed involvement of basal ganglia, brainstem and periventricular white matter. Mutant EFG1 and OXPHOS proteins were decreased in patient fibroblasts consistent with impaired mitochondrial translation. Thus, we expand the genetic spectrum of *GFM1*-linked disease and provide detailed clinical profiles of the patients that will improve the diagnostic success for other patients carrying *GFM1* mutations.

Pièce jointe : Ruzzenente *GFM1* Abstract.docx

EF33 : Pertinence et rendement diagnostique des gènes associés à la cardiomyopathie arythmogène

Auteurs :

Adeline Goudal (1, 2), Matilde Karakachoff (2, 3), Pierre Lindenbaum (2), Estelle Baron (2), Stéphanie Bonnaud (2), Florence Kyndt (2, 1), Emmanuelle Bourcereau (4), Aurélie Thollet (2), Richard Redon (2), Stéphane Bézieau (1, 2), Jean-Jacques Schott (2), Vincent Probst (2), Julien Barc (2)

1. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France
3. Clinique des données, INSERM, CIC 1413 , CHU Nantes, Nantes, France
4. l'institut du thorax, CHU Nantes, Nantes, France

Mots clefs : Cardiomyopathie arythmogène, next generation sequencing, classification internationale des variants, tests d'enrichissement, rendement diagnostique

Résumé :

La cardiomyopathie arythmogène (CAM) est une cardiopathie héréditaire dans laquelle les cardiomyocytes sont progressivement remplacés par du tissu fibro-adipeux. L'arrêt cardiaque peut être la première manifestation de cette pathologie, notamment chez les jeunes sportifs. A ce jour, 16 gènes sont associés à cette pathologie, avec 50% des patients atteints porteurs d'un variant rare pathogène, le plus fréquemment dans les 5 gènes codant pour les protéines desmosomales (*PKP2*, *DSC2*, *DSG2*, *DSP* et *JUP*). L'implication des 11 autres gènes (associés à d'autres cardiopathies) reste encore très débattue. Le développement du séquençage haut-débit a permis de mettre en évidence l'existence de nombreux variants rares parmi les individus de la population générale conduisant à ne plus conclure à la pathogénicité d'un variant sur sa rareté. Il convient donc désormais de s'appuyer sur d'autres critères afin de s'assurer de la réelle implication d'un gène ainsi que des variants rares reportés.

Nous proposons dans cette étude de déterminer la pathogénicité des variants selon la classification ACMG puis d'évaluer la pertinence des gènes décrits dans le diagnostic moléculaire de la CAM. Nous mettrons aussi en relation le phénotype des patients selon la pathogénicité des variants.

179 patients atteints de CAM ont été séquencés sur un panel de 71 gènes associés aux cardiopathies héréditaires incluant 11 gènes les plus fréquemment décrits dans la CAM. Les variants sont classés selon les recommandations internationales de l'ACMG grâce à 2 outils bio-informatiques. Nous réalisons des tests de type burden (CAST) et de dispersion (SKAT, SKAT-O) entre notre population de patients et une population contrôle sur les gènes du panel.

34.6% de nos patients (62/179) sont porteurs de variants pathogènes, avec *PKP2* en tête chez 42 patients. 17.3% des patients (31/179) sont également porteurs de variants de signification inconnue dans les gènes associés à la CAM. Les tests d'enrichissement ont démontré un enrichissement significatif en variants pathogènes chez *PKP2*, *DSP*, *DSG2* et *DSC2* ($p < 0.001$) et en variants de signification inconnue dans les gènes *PKP2* ($p < 0.01$), *DSG2* ($p < 0.01$) et *DSC2* ($p < 0.001$). Aucun enrichissement n'a été observé parmi les autres gènes. Les patients porteurs d'un variant dans les gènes associés à la CAM sont diagnostiqués plus précocement que les patients non porteurs ($p < 0.001$).

Parmi les gènes décrits, seuls les gènes desmosomaux comptent une proportion significative de variants rares pathogènes chez les patients atteints de CAM par rapport à la population contrôle. Les variants de signification inconnue dans les gènes *PKP2*, *DSG2* et *DSC2* semblent contribuer à la pathologie et méritent d'être investigués afin de renforcer le rendement diagnostique de la CAM. Enfin, l'âge d'apparition des symptômes est corrélé à la présence d'un variant pathogène justifiant ainsi un dépistage familial précoce pour une meilleure prise en charge clinique.

Pièce jointe : abstract_AG_assises_genetique.docx

EF34 : Atteinte aortique chez les patients suivis pour un syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire

Auteurs :

Salma Adham (1, 2), Anne Legrand (1, 3), Jean-Michaël Mazzella (1), Violaine Dalens (4), Clarisse Billon (1, 2), Michael Frank (1), Xavier Jeunemaitre (1, 3)

1. Centre de référence des maladies vasculaires rares, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Faculté de médecine, Université de Paris, Paris, France
3. PARCC U970, INSERM, Paris, France
4. Médecine interne, CHU de Québec, Québec, Canada

Mots clefs : syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire, aorte

Résumé :

Introduction : Le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SEDv) est une maladie génétique rare (fréquence estimée 1/100 000) autosomique dominante liée au gène *COL3A1*. La principale complication est l'atteinte vasculaire avec des anévrismes, dissections voire ruptures des artères de moyen calibre chez des adultes jeunes. Il existe une hétérogénéité phénotypique entre les patients porteurs de variants avec haplo-insuffisance et ceux avec variants dominants négatifs (variants faux-sens glycine, variants d'épissage).

Objectif : L'objectif principal de ce travail est de décrire la prévalence de l'atteinte aortique dans les trois sous-groupes de variants. L'objectif secondaire est la description des lésions artérielles non aortiques au sein de ces mêmes sous-groupes.

Matériels et méthodes : Nous avons inclus des patients atteints de SEDv moléculairement confirmé et suivis dans le centre de référence ou l'un des centres de compétence du réseau national (cohorte RaDiCo SEDVASC), quels que soient leur âge, leur statut et leur sexe.

Résultats : Un total de 310 patients a été recensé (175 cas index, 135 apparentés), avec une majorité de femmes (62%) et de patients en vie (85%). L'âge médian des patients à l'inclusion est de 43 ans (IQR 30 – 54). Les variants se répartissent comme suit : 59% variants faux-sens glycine, 22% variants d'épissage et 19% variants d'haplo-insuffisance. Une complication cardiovasculaire est rapportée chez 68% des sujets, et 26% d'entre eux ont une atteinte aortique. La présence d'un variant glycine ou d'épissage est associée à une complication inaugurale sévère ($p = 3,448 \times 10^{-5}$). La répartition des lésions artérielles (aortiques vs artères viscérales ou périphériques) est associée au génotype, les individus avec variants d'haplo-insuffisance ayant tendance à avoir plus souvent une atteinte aortique ($p = 0,064$, OR : = 1,19 95%CI [-0,43 – 0,76]) et moins souvent une atteinte cervicale ($p = 0,038$), viscérale ($p = 0,006$) ou iliofémorale ($p = 0,05$). Enfin, on retrouve une fréquence moindre de ruptures artérielles chez les patients SEDv avec variant d'haplo-insuffisance ($p = 1,21 \times 10^{-5}$), mais également des fréquences moindres de dissections et d'anévrismes qui sont majoritairement identifiés chez les patients avec variant glycine ($p = 1,22 \times 10^{-8}$ et $6,81 \times 10^{-9}$ respectivement).

Discussion : Ces résultats confirment la fréquence de l'atteinte aortique chez les patients SEDv avec variant d'haplo-insuffisance, ainsi qu'un moindre risque artériel quel que soit le type de lésion chez ces sujets, justifiant une prise en charge différenciée en fonction du type de mutation *COL3A1*.

Pièce jointe : Abstract Aorte SEDv tous -XJ - SAM.docx

EF35 : Variants pathogènes EPHB4 : un phénotype chevauchant avec la maladie de Rendu-Osler ?

Auteurs :

Mélanie EYRIES (1), Florence PETIT (2), Aurélien PALMYRE (3), Olivia BOCCARA (4), Augustin OZANNE (5), Tiffany BUSA (6), Annick TOUTAIN (7), Christian LAVIGNE (8), Bertrand ISIDOR (9), Chloé QUELIN (10), Marie-Antoinette SEVESTRE-PIETRI (11), Isabelle BOURGAULT (3), Philippe CHARRON (12), Florence RICCARDI (13), Sebastien BARBAROT (14), Odile BOUTE (2), Thierry CHINET (12), Florence COULET (1), Florent SOUBRIER (1)

1. Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Clinique de Génétique "Guy Fontaine", CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, LILLE, France
3. Centre pluridisciplinaire HHT, Hôpital Ambroise PARE, BOULOGNE, France
4. Service de dermatologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
5. Centre pluridisciplinaire HHT, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
6. Département de Génétique Médicale, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
7. Service de Génétique - Unité de Génétique Clinique, CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau, TOURS, France
8. Service de Médecine interne, CHU d'Angers, ANGERS, France
9. Service de Génétique - Unité de Génétique Clinique, CHU de Nantes - Hôtel Dieu, NANTES, France
10. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes - Hôpital Sud, RENNES, France
11. Service de Médecine Vasculaire, CHU Amiens-Picardie, AMIENS, France
12. Centre pluridisciplinaire HHT, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
13. Département de Génétique Médicale, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, MARSEILLE, France
14. Service de dermatologie, CHU de Nantes - Hôtel Dieu, NANTES, France

Mots clefs : Malformations capillaires, Télangiectasies, Malformations artério-veineuses, MRO, CM-AVM, RASA1

Résumé :

Les variants pathogènes du gène *EPHB4* ont été récemment décrits comme associés au syndrome de malformation capillaire-malformation artério-veineuse (CM-AVM) de type 2 (CM-AVM2) caractérisé par la présence de malformations capillaires (MC), de télangiectasies et de malformations artério-veineuses (MAV). Ce syndrome est très proche du syndrome CM-AVM de type 1 (CM-AVM1) associé à des variants pathogènes du gène *RASA1* et peut également avoir des signes cliniques chevauchants avec ceux de la maladie de Rendu-Osler (MRO), définis par les critères de Curaçao à savoir la présence d'épistaxis, de télangiectasies cutanéomuqueuses, de MAV pulmonaires, neurologiques ou hépatiques et d'antécédents familiaux. Les variants pathogènes des gènes *ACVRL1* et *ENG* sont responsables de MRO. L'analyse moléculaire de ces pathologies phénotypiquement proches est réalisée par séquençage haut débit (NGS) d'un panel de gènes incluant les gènes MRO (*ACVRL1*, *ENG*, *SMAD4* et *BMP9*) et les gènes CM-AVM (*RASA1*, *EPHB4*). 318 cas index suspectés de MRO sur la présence d'au moins 2 critères de Curaçao (n=216) ou de CM-AVM (n=102) ont été analysés de façon prospective à l'exception de 8 patients analysés rétrospectivement. Dix-huit variants pathogènes de *EPHB4* ont été identifiés : 13 chez des patients avec une suspicion de CM-AVM et 5 chez des patients avec une suspicion clinique de MRO. La transmission a été testée pour 7 patients et tous les variants ont été identifiés chez au moins 1 parent à l'exception d'un variant *de novo*. De plus, un variant non-sens a été identifié à l'état homozygote chez un patient dans un contexte de consanguinité, sans signe de sévérité accrue du phénotype. La quasi-totalité des cas index porteurs d'un variant pathogène *EPHB4* présentent des lésions vasculaires cutanées (17/18) de type télangiectasies, principalement chez les patients suspectés MRO (4/5), et/ou des malformations capillaires multiples. Ces lésions cutanées sont associées à la présence d'une MAV chez 5 patients sur 16 explorés : 3 MAV cérébrales dont une anomalie de la veine de Galien, 1 MAV de la face, et 1 MAV hépatique chez un patient suspecté MRO. Des épistaxis sont présentes chez 3 patients dont 2 patients suspectés MRO. Une patiente présente un phénotype particulier associant une malformation des sinus duraux sans shunt artério-veineux, des anomalies veineuses de développement et un angiome cervical profond.

Dans notre cohorte, le signe clinique majeur est la présence de lésions vasculaires cutanées multiples. Ces lésions de type télangiectasie parfois associées à des épistaxis, ou une MAV de localisation hépatique ont évoqué prioritairement un diagnostic de MRO chez 5 patients mais l'analyse moléculaire a révélé un diagnostic de CM-AVM2. L'hétérogénéité phénotypique associée aux variants pathogènes d'*EPHB4* justifie la réalisation d'un panel élargi de gènes permettant le diagnostic de CM-AVM2 au sein des différents syndromes de malformation vasculaire héréditaire.

EF36 : Mise en place d'un Observatoire du syndrome de Marfan au sein de la Fédération Française de Basket-Ball

Auteurs :

Jean-Michaël MAZZELLA (1), François TASSERY (2, 3), Marianne GROC (4, 3), Juliette ALBUISSON (1, 5)

1. APHP, Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares ; Université Paris-Descartes Paris, France, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
2. Commission Médicale, Fédération Française de Basket-Ball, Paris, France
3. Centre Fédéral de Basket-Ball, Institut National du Sport, de l'Expertise et de la Performance, Vincennes, France
4. Commission Médicale, Fédération Française de Basket-Ball, PARIS, France
5. Département de Biologie et Pathologie des Tumeurs, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France

Mots clefs : Syndrome de Marfan, Fédération Française de Basket-Ball, prise en charge, jeunes sportifs

Résumé :

Certaines maladies héréditaires du tissu conjonctif sont responsables de caractéristiques physiques pouvant apporter un avantage pour la pratique sportive, telles la grande taille, la dolichosténomélie et l'arachnodactylie du syndrome de Marfan pour le basket-ball. De ce fait, la sélection des jeunes basketteurs sur des critères de taille notamment induit un risque de biais de sélection vers ces pathologies.

La pratique sportive en compétition est contre-indiquée dans ces syndromes, du fait d'un risque important de complication cardiovasculaire aiguë (Braverman *et al.*, 2015), rendant complexe la gestion au cas par cas de ces jeunes sportifs après le diagnostic.

La Fédération Française de Basket-Ball a considéré prioritaire le dépistage précoce de la maladie chez le jeune basketteur de haut niveau, afin d'organiser une réorientation dans de bonnes conditions et garantir un suivi médical adapté.

Un Observatoire du syndrome de Marfan a été mis en place en 2018, composé d'un généticien, un conseiller en génétique, et deux médecins fédéraux du sport. Une procédure de dépistage a été instaurée, impliquant tous les sportifs de 14 à 17 ans du Centre Fédéral de Basket-ball. Trente critères cliniques, échographiques et familiaux de maladies du tissu conjonctif ont été évalués. La méthode utilisée n'a pas suivi les seuils du score de Ghent, du fait de son inadéquation au contexte (âge jeune, contexte asymptomatique, exclusion des individus avec dilatation aortique).

Vingt-six sportifs ont été évalués (15 garçon, 11 filles). L'hyperélasticité cutanée est présente chez 2/3 (n=17). L'arachnodactylie et la dolichosténomélie sont présentes chez plus de la moitié (n=14). Les hernies de paroi, les signes du pouce et du poignet ou la tendance scoliotique ne sont présentes que chez un seul cas (4%). 20% présentent des antécédents familiaux contributifs (n=5): pneumothorax, myopie sévère ou atteinte cardiovasculaire. Pour 1/3 (n=9), l'évaluation retrouve au plus 3 critères diagnostiques cliniques positifs. La moitié des cas (n=13) présente 4 ou 5 critères diagnostiques, nécessitant une réévaluation plus complète. 15% (n=4) présentent entre 6 et 9 critères diagnostiques positifs, faisant suspecter chez eux un syndrome de Marfan ou apparenté.

Une proportion importante de jeunes basketteurs du Centre Fédéral présentent plusieurs critères diagnostiques d'atteinte du tissu conjonctif. L'hyperélasticité cutanée, critère fréquent et inattendu, n'est pas typique du syndrome de Marfan. L'excès de critères diagnostiques de maladie du tissu de soutien par rapport à la population générale n'est pas expliqué. Ces données évoquent de possibles liens entre grande taille et propriétés du tissu conjonctif dans cette population spécifique.

Nous proposons de réaliser chez tous les jeunes basketteurs de haut niveau un examen clinique adapté. En cas de forte suspicion de syndrome de Marfan, une consultation au CNR pour un bilan médical complet accompagné d'un conseil génétique est proposée.

Pièce jointe : Abstract FFBB Basket Assises_2020-JMM-JA.docx

EF37 : Identification de trois nouveaux gènes de susceptibilité au rétrécissement aortique calcifié : IL6, ALPL et NAV1

Auteurs :

Christian Dina (1), Sébastien Theriault (2), David Messika-Zeitoun (3), Solena Le Scouarnec (1), Sidwell Rigade (1), Romain Capoulade (1), Floriane Simonet (1), Benoit Arsenault (2), Simon Lecointe (1), Estelle Baron (1), Christophe Baufreton (4), Vincent Probst (1), Richard Redon (1), Philippe Pibarot (5), Patrick Mathieu (5), Thierry Le Tourneau (1), Yohan Bossé (5), Jean-Jacques Schott (1)

1. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France
2. Department of Molecular Medicine, IUCPQ, Quebec, Canada
3. Cardiology Department, AP-HP, Bichat Hospital, Paris, France
4. Service de chirurgie cardiovasculaire, CHU Angers, Angers, France
5. , IUCPQ, Quebec, Canada

Mots clefs : Valve aortique, Association, GWAS

Résumé :

BACKGROUND: Calcific aortic valve stenosis (CAVS) is a frequent and life-threatening cardiovascular disease for which there is currently no medical treatment available. To date, only 2 genes, LPA and PALMD, have been identified as causal for CAVS. We aimed to identify additional susceptibility genes for CAVS.

METHODS: A GWAS (genome-wide association study) meta-analysis of 4 cohorts, totaling 5115 cases and 354 072 controls of European descent, was performed. A TWAS (transcriptome-wide association study) was completed to integrate transcriptomic data from 233 human aortic valves. A series of post-GWAS analyses were performed, including fine-mapping, colocalization, phenome-wide association studies, pathway, and tissue enrichment as well as genetic correlation with cardiovascular traits.

RESULTS: In the GWAS meta-analysis, 4 loci achieved genome-wide significance, including 2 new loci: IL6 (interleukin 6) on 7p15.3 and ALPL (alkaline phosphatase) on 1p36.12. A TWAS integrating gene expression from 233 human aortic valves identified NAV1 (neuron navigator 1) on 1q32.1 as a new candidate causal gene. The CAVS risk alleles were associated with higher mRNA expression of NAV1 in valve tissues. Fine-mapping identified rs1800795 as the most likely causal variant in the IL6 locus. The signal identified colocalizes with the expression of the IL6 RNA antisense in various tissues. Phenome-wide association analyses in the UK Biobank showed colocalized associations between the risk allele at the IL6 lead variant and higher eosinophil count, pulse pressure, systolic blood pressure, and carotid artery procedures, implicating modulation of the IL6 pathways. The risk allele at the NAV1 lead variant colocalized with higher pulse pressure and higher prevalence of carotid artery stenosis. Association results at the genome-wide scale indicated genetic correlation between CAVS, coronary artery disease, and cardiovascular risk factors.

CONCLUSIONS: Our study implicates 3 new genetic loci in CAVS pathogenesis, which constitute novel targets for the development of therapeutic agents.

Pièce jointe : abstract assises.docx

EF38 : Contribution du gène ABCC2 au syndrome de Dubin-Johnson et aux maladies cholestatiques à composante génétique

Auteurs :

Christophe Corpechot (1), Véronique Barbu (2), Olivier Chazouillères (1), Pierre Broué (3), Muriel Girard (4), Bertrand Roquelaure (5), Yves Chrétien (1), Catherine Dong (1), Olivier Lascols (2), Chantal Housset (1), Isabelle Jéru (2)

1. Centre de Référence des Maladies Inflammatoires des Voies Biliaires et des Hépatites Auto-Immunes, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
2. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
3. Hépatologie pédiatrique et Maladies Hérititaires du Métabolisme, Hôpitaux de Toulouse, Toulouse, France
4. Hépatogastroentérologie et Nutrition Pédiatrique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
5. Hépatogastroentérologie et Nutrition Pédiatrique, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

Mots clefs : ABCC2, Dubin-Johnson syndrome, hépatocyte, cholestase néonatale, transporteur canaliculaire

Résumé :

Introduction. Le gène *ABCC2*, qui code un transporteur membranaire hépatobiliaire, est impliqué dans le syndrome de Dubin-Johnson (DJS), une maladie hépatique rare autosomique récessive. Le premier objectif de cette étude était de déterminer la valeur diagnostique de l'analyse du gène *ABCC2* dans la plus large cohorte de DJS rapportée à ce jour et de réévaluer le spectre clinique associé. Alors que la cholestase est généralement considérée comme un critère clinique d'exclusion du diagnostic, nous avons observé un nombre important de patients avec des manifestations cholestatiques transitoires. Cela nous a amenés secondairement à évaluer la contribution de variants potentiellement pathogènes d'*ABCC2* dans des maladies cholestatiques à composante génétique.

Méthodes. Cette étude inclut 32 patients avec un diagnostic clinique de DJS et 372 patients adressés pour des maladies cholestatiques avec un fort déterminisme génétique : lithiase biliaire à faible niveau de phospholipides (syndrome LPAC ; n=192), cholestase gravidique (n=97), et cholestase récurrente bénigne (n=83). Le gène *ABCC2* a été analysé par séquençage nouvelle génération.

Résultats. La très grande majorité des patients (94%) avec un diagnostic clinique de DJS ont un diagnostic génétique positif, avec une grande diversité de variants ponctuels et de CNV (copy number variations) dans *ABCC2*. De manière frappante, 27% des patients ont débuté leur maladie par des manifestations cholestatiques : 4 cholestases néonatales, 2 cholestases gravidiques, une cholestase induite par la prise de contraceptifs oraux, et une cholestase spontanée. Cette implication nouvelle du gène *ABCC2* dans l'étiologie des cholestases néonatales nous a amenés à caractériser de manière fine ces cholestases néonatales sur le plan clinique et biologique. Par contre, les variants rares potentiellement pathogènes d'*ABCC2* ne semblent pas jouer de rôle dans les maladies cholestatiques à forte composante génétique, avec une fréquence de ces variants équivalente à celle retrouvée dans la population générale.

Conclusions. L'étude de cette large série montre que le syndrome de DJS est une maladie Mendélienne très homogène sur le plan clinique et génétique. Le diagnostic génétique est déterminant pour faire un diagnostic précoce, en particulier dans les formes de cholestases néonatales. *ABCC2* n'est pas un gène jouant un rôle majeur dans les formes oligogéniques de maladies cholestatiques.

**EF39 : Analyse par panel NGS d'une série de 188 patients présentant un déficit hypophysaire multiple (réseau GENHYPOPIT) :
GLI2 deuxième cause génétique**

Auteurs :

Morgane PERTUIT (1), Amira MOHAMED (1), Svetlana GOROKHOVA (2, 1), Nicolas LENFANT (2), Valerie DELAGUE (3), Pauline ROMANET (4, 2), Frederic CASTINETTI (5, 2), Anne BARLIER (2, 4), Rachel REYNAUD (2, 6), Thierry BRUE (2, 5), Alexandru SAVEANU (4, 2)

1. Laboratoire de Biologie Moléculaire, AP-HM Hôpital Conception, MARSEILLE, France
2. MMG, AMU-INSERM U1251, Faculté de Médecine, Aix-Marseille Université, MARSEILLE, France
3. MMG, AMU-INSERM U1251, Faculté de Médecine, Aix-Marseille Université, Marseille, France
4. Laboratoire de Biologie Moléculaire et CRMR HYPO, AP-HM Hôpital Conception, MARSEILLE, France
5. Endocrinologie et CRMR HYPO, AP-HM Hôpital Conception, MARSEILLE, France
6. Pédiatrie et CRMR HYPO, AP-HM Hôpital Timone et Hôpital Conception, MARSEILLE, France

Mots clefs : déficit hypophysaire multiple, PROP1, GLI2, IGSF1

Résumé :

Introduction: L'hypopituitarisme congénital se caractérise par un déficit en hormone antéhypophysaire non acquis, allant d'un déficit hormonal unique (déficit isolé en GH (IGHD) le plus fréquent) à un déficit multiple (CPHD). Dans les 2 cas, le phénotype peut être uniquement hypophysaire ou s'associer à des malformations des structures voisines (posthypophyse ectopique (EPP), oculaires ou de la ligne médiane). Dans le cadre du réseau Genhypopit, le séquençage séquentiel en Sanger d'une dizaine de gènes chez 1200 cas index a retrouvé des mutations dans 8 % des cas, les plus fréquentes dans *PROP1* (4%). De nombreux gènes candidats se sont rajoutés ces dernières années.

Objectif, patients et méthodes: Comparer les résultats obtenus chez 188 patients présentant un CPHD (ou IGHD en âge pédiatrique), reçus entre 2014 et 2016, entre un séquençage séquentiel en Sanger d'une dizaine de gènes et le séquençage d'un panel de 25 gènes par NGS (impliqués dans le CPHD, IGHD, ainsi que dans les déficits thyroïdiens et corticotropes isolés). La librairie à façon Qiaseq (Qiagen®) a été séquencée sur un séquenceur Nextseq500 (Illumina®). L'analyse bioinformatique a été réalisée par un pipeline BioMedical Genomics Workbench (Qiagen®).

Résultats: Par séquençage Sanger séquentiel nous avons identifié chez 16/188 patients (**8,5%**) des variants pathogènes ou probablement pathogènes (classe 4 et 5) affectant les gènes *PROP1* (**5.9%**), *POU1F1*, *LHX4*, *HESX1*, *TBX19* et *GH1*. Le séquençage par panel NGS nous a permis d'identifier des variants pathogènes ou probablement pathogènes chez 24/188 patients (**12,8%**). Si l'intégralité des variants identifiés par analyse Sanger a pu être confirmée par NGS, 8 nouveaux variants de classe 4 et 5 ont pu être identifiés sur *GLI2* (4), *IGSF1* (2), *GHSR* (1) et *TSHB* (1). Parmi ces 8 nouveaux variants seul le variant pathogène hétérozygote de TSHB n'explique pas le phénotype de CPHD. Des variants de signification inconnu (VASI) selon la classification de Richards ont été retrouvés par NGS dans 20/25 gènes analysés chez 76/188 patients (40,4%). Un tiers d'entre eux (**13,3%**) sont des variants très rares (<0.01% ou absents du GnomAd), avec des prédictions in silico pathogènes et/ou avec publication discordante (pathogène ou VASI) dans les bases de données (Clinvar, LOVD, HGMD). L'analyse des familles (variants de novo; co-ségrégation génotype phénotype) est en cours. Aucune grande délétion/insertion n'a été identifiée par le module d'analyse CNV du logiciel d'analyse.

Conclusion: L'analyse par panel NGS a permis **d'augmenter de 50 %** l'identification de gène responsable de déficit hypophysaire dans la série analysée. Ce nombre reste faible (12,8%), même si probablement parmi le nombreux VASI très rares identifiés (13,3%) une partie sera réclassifiée en probablement pathogène, après d'analyses complémentaires. Dans cette série les mutations de *GLI2* représente la 2ème cause de CPHD au global, voir la 1ère dans les cas de CPHD avec EPP.

EF40 : Syndrome de Bartter anténatal transitoire lié à l'X : description de nouveaux cas liés à des variations pathogènes dans le gène *MAGED2*

Auteurs :

MARGUERITE HUREAUX (1), ALEXANDRA BRUEL (2), RODOLPHE DARD (3), CHARLOTTE DUBUCS (4), Young-Theresa KWON (5), JULIEN THEVENON (6), PAULINE LE TANNO (6), ISABELLE VRILLON (7), ALBAN ZIEGLER (8), ROSA VARGAS-POUSSOU (1)

1. Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France
2. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes , NANTES, France
3. Service de Génétique médicale, Centre Hospitalier Intercommunal de Poissy, POISSY, France
4. Service de Génétique médicale, Oncopole Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, TOULOUSE, France
5. Service de Néphrologie, Hôpital Robert Debré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, Paris, France
6. Unité de génétique clinique, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble site Nord - Hôpital Couple-Enfant, GRENOBLE, France
7. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy - Hôpitaux de Brabois, NANCY, France
8. Service de Génétique médicale, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Faculté de Santé - Université d'Angers, ANGERS, France

Mots clefs : Hydramnios, syndrome de Bartter anténatal, NGS, *MAGED2*

Résumé :

Les bases moléculaires du syndrome de Bartter anténatal transitoire ont été découvertes récemment (Laghmani K. et al NEJM 2016). Elles reposent sur des mutations du gène *MAGED2*, situé sur le chromosome X (Xq11). Le syndrome de Bartter anténatal transitoire est une des formes de syndrome de Bartter les plus sévères en période périnatale avec un hydramnios majeur au cours du 2^{ème} trimestre de la grossesse et un tableau de polyurie et perte de sel en période néonatale paradoxalement transitoire. Des manifestations extra-rénales ont été décrites chez les patients avec ce syndrome, incluant des malformations cardiaques et neurologiques (Legrand A et al. cJASN 2018). Bien que de transmission récessive liée à l'X, nous avons décrit des manifestations sévères chez des sujets de sexe féminin avec une inactivation différentielle du chromosome X (Legrand A et al. cJASN 2018). Nous rapportons 12 nouveaux cas, dont 1 cas de sexe féminin, issus de 8 familles différentes. Parmi ces familles, 5 sont porteuses de mutations non précédemment décrites (p.(Ala489_Ala491del); c.1166-11_1166-2del;p.?; p.(Glu152*); p.(Arg476*); p.(Arg239Profs*5)). Dans cette nouvelle série, l'allèle muté a été transmis par la mère dans 6 cas, par le père chez un cas et l'ADN parental n'était pas disponible pour une famille. Le terme moyen de découverte de l'hydramnios était de 21.7 semaines d'aménorrhée, l'âge gestationnel moyen à la naissance était de 26.6 semaines d'aménorrhée et quatre fœtus sont morts nés. Le poids de naissance moyen se situait au 87^{ème} percentile. Chez un patient de sexe masculin, le syndrome de Bartter était accompagné d'une tétralogie de Fallot et d'une fente labio-palatine qui a conduit à une interruption médicale de grossesse. Parmi les patients pour qui nous disposons des données de suivi, 3 patients présentaient un syndrome de perte rénale de sel à la naissance tandis que 2 patients de sexe masculin n'ont pas eu de manifestations en période néonatale. De façon intéressante, chez un de ces deux patients l'hydramnios s'est résolu de façon spontanée à 32 semaines d'aménorrhée. Nous avons observé dans 7 familles des antécédents d'hydramnios avec soit des pertes fœtales: 14 fœtus de sexe masculin (le diagnostic génétique a pu être confirmé sur biopsie fœtale ou sur liquide amniotique chez 4 fœtus); soit de naissances suivies de décès dû à des complications de la prématurité chez 2 petites filles. Ces résultats soulignent (1) l'importance d'évoquer ce syndrome devant une histoire familiale d'hydramnios idiopathique; (2) la variabilité phénotypique de ce syndrome: qui va de la mortalité fœtale à l'absence de symptômes passant par une tubulopathie avec perte de sel en période néonatale qui s'améliore avec l'âge.

EF41 : Importance des analyses structure-fonction pour l'interprétation clinique des variants faux-sens rares et la mise en évidence de nouveaux mécanismes physiopathologiques : exemple de l'hémochromatose de type 4

Auteurs :

Kévin Uguen (1, 2), Marlène Le Tertre (3, 4), Chandran Ka (3, 4), Ahmad Elbahnsi (5), Isabelle Gourlaouen (6, 4), Christophe Beroud (7, 8), David Salgado (7), Claude Ferec (3), Isabelle Callebaut (5), Gérald Le Gac (3, 4)

1. Service de génétique médicale, CHRU de Brest, Brest, France
2. Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, UBO, Brest, France
3. Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, Service de génétique médicale, CHRU de Brest, Brest, France
4. Laboratoire d'Excellence GR-Ex, GR-Ex, Paris, France
5. IMPMC, UMR7590 CNRS, Sorbonne Université, Paris, France
6. Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, Etablissement Français du Sang, Brest, France
7. INSERM, GMGF, Aix Marseille University, Marseille, France
8. Laboratoire de Génétique Moléculaire, APHM, Hôpital TIMONE Enfants, Marseille, France

Mots clefs : Interprétation clinique de variants rares, relations structure/fonction, hémochromatose, ferroportine

Résumé :

L'hémochromatose de type 4 (HC4) est une maladie génétique rare du métabolisme du fer qui ségrège sur le mode autosomique dominant et qui débute généralement à l'âge adulte. Décrite sur plusieurs continents, elle représenterait la seconde forme génétique de surcharge en fer après l'hémochromatose *HFE*. La maladie est marquée par une forte hétérogénéité phénotypique, en partie expliquée par la présence de variations perte et gain de fonction au locus *SLC40A1*. L'existence de nombreuses phénotopies complique le diagnostic.

SLC40A1 code la ferroportine 1 (FPN1), seul exportateur de fer connu chez les mammifères. L'expression de FPN1 à la surface de cellules spécialisées du métabolisme du fer est fortement régulée par l'hepcidine, hormone hyposidérémiant synthétisée par le foie. Il faut remarquer qu'en dehors d'une variation d'épissage hypomorphe et de la délétion d'un acide aminé, toutes les variations aujourd'hui associées à la maladie correspondent à des variants faux-sens. Cela peut être expliqué par la fonction unique et essentielle de FPN1 au niveau cellulaire et systémique.

Dans ce contexte, l'interprétation clinique des variants révélés par l'analyse moléculaire du gène *SLC40A1* est extrêmement limitée. Au travers d'une analyse exhaustive des données de la littérature et de la mise en place d'une base de données UMD (« Universel Mutation Database »), nous avons ainsi pu constater que la pathogénicité de plusieurs variants décrits dans la littérature était discutable ou infondée (classifications ACMG ou ANPGM). Cette observation est la conséquence de plusieurs facteurs: la publication d'un nombre croissant de cas isolés, des descriptions phénotypiques incomplètes et des données expérimentales hétérogènes. En combinant des analyses structurales (modélisations 3D de la protéine humaine FPN1) et fonctionnelles (mesures d'expression membranaire, d'export du fer et de résistance à l'hepcidine) nous avons classé de manière objective 22 variants faux-sens sur les 55 décrits (Br. J. Haematol. 2009, Hum. Mut. 2013, Hum. Mol. Genet. 2014). Cela nous a permis de mettre en évidence le défaut de spécificité de plusieurs outils de hiérarchisation fonctionnelle (Poly-Phen2, SIFT et Mutation Taster).

Plus récemment, nous avons démontré l'intérêt des études structure-fonction dans la compréhension des bases physiopathologiques de l'HC4. En nous appuyant sur l'étude fonctionnelle de mutations décrites chez des patients et des analyses de dynamique moléculaire, nous avons établi que des résidus polaires et chargés forment des ponts salins et des liaisons hydrogènes au niveau intracellulaire. Ces liaisons non-covalentes apparaissent relativement flexibles. Elles permettraient ainsi à la protéine FPN1 d'exporter le fer au travers de changements de conformations réversibles. Nous pensons que l'altération de ces liaisons est à la base d'un mécanisme original de perte de fonction qui concernerait, à ce jour, un total de 13 variants (Haematologica 2018, Faseb 2019).

Pièce jointe : AGHM2020_SLC40A1_VF.docx

EF42 : Syndrome progéroïde de Werner : aspects génétiques et cliniques de la cohorte française et proposition d'un protocole de suivi

Auteurs :

Benjamin DAURIAT (1), Nancy UHRHAMMER (2), Corinne VIGOUROUX (3), Philippe LACROIX (4), Henri ADAMSKI (5), Cindy COLSON (6), Florence DEMURGER (7), Hélène DOLLFUS (8), Hervé LEVESQUE (9), Valérie DROUIN-GARRAUD (10), Christine FRANCCANNET (11), Fabienne GIULIANO (12), Bertrand ISIDOR (13), Claude MORAIN (1), Marc PISTORIUS (14), Gwenaél LEGUYADER (15), Isabelle RAINGEARD (16), Marlène RIO (17), Yves-Jean BIGNON (2), Catherine YARDIN (1)

1. Génétique Médicale, CHU de Limoges, Limoges, France
2. Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
3. Centre national de référence Pathologies Rares de l'Insulino-Sécrétion et de l'Insulino-Résistance, AP-HP Hôpital Saint-Antoine, PARIS, France
4. Médecine Vasculaire, CHU de Limoges, Limoges, France
5. Dermatologie, CHU de Rennes, Rennes, France
6. Génétique Médicale, CHU de Caen, Caen, France
7. Génétique Médicale, CHU de Rennes, Rennes, France
8. Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
9. Médecine Interne, CHU de Rouen, Rouen, France
10. Génétique Médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
11. Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
12. Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France
13. Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
14. Médecine Interne, CHU Nantes, Nantes, France
15. Génétique Médicale, CHU Poitiers, Poitiers, France
16. Endocrinologie, CHU Montpellier, Montpellier, France
17. Génétique Médicale, Institut Imagine - Hôpital Necker, Paris, France

Mots clefs : werner, progéroïde, oncogénétique, hélicase, WRN

Résumé :

Le syndrome de Werner appartient aux maladies progéroïdes, entraînant un vieillissement prématuré des tissus mésenchymateux et épithéliaux, et concerne une personne sur un million au niveau mondial. Ses signes cardinaux sont la petite taille, l'atteinte cutanée, la cataracte et la canitie précoces ; il se complique de nombreuses pathologies associées à l'âge telles que l'ostéoporose, les ulcères et le diabète, et le décès survient vers 50 ans de causes cardiovasculaires ou néoplasiques. Le syndrome de Werner est lié à des mutations perte de fonction bialléliques de *WRN*, codant pour une hélicase impliquée dans de multiples mécanismes régulant et réparant l'ADN. La prise en charge de ces patients n'est pas standardisée, du fait de l'expression variée, aux complications mineures peu décrites. Aucune donnée récente clinique ou moléculaire n'étaient disponibles concernant les patients français atteints de syndrome de Werner.

Cette étude a recensé 34 cas en France, confirmés moléculairement, pour lesquels les données cliniques et génétiques ont été obtenues.

Sur le plan moléculaire, 31 mutations dont 14 inédites ont été identifiées, certaines propres à des régions françaises. Sur le plan clinique, l'âge moyen de diagnostic était de 40,5 ($\pm$ 9,5) ans, les signes cardinaux étaient identifiés chez 100% des patients. Des atteintes jusqu'alors sous-estimées ou non-associées comme l'hypertension, la surdité, les atteintes hépatique, thyroïdienne, valvulaire ou capillaire étaient fréquentes ; les complications obstétricales paraissaient systématiques. Le décès survenait à 53,6 ($\pm$ 8,9) ans de cause principalement cancéreuse. Les néoplasies les plus fréquemment rapportées étaient les sarcomes des tissus mous, les hémopathies, les carcinomes mammaires et les mélanomes, en cohérence avec la littérature du syndrome de Werner, exceptés pour les carcinomes du sein plus nombreux chez nos patients. Malgré l'homogénéité des principaux signes, des formes à évolution moins sévère semblent exister, sans facteur prédictif identifié. Ces données cliniques permettent de proposer un protocole de prise en charge et de surveillance spécifique du syndrome de Werner.

EF43 : La sarcoïdose, un modèle de relation gène-environnement - De l'analyse génétique à l'adaptation thérapeutique dans les formes sévères

Auteurs :

Alain CALENDER (1), Dominique VALEYRE (2), Dominique ISRAEL BIET (3), Claire BARDEL (4), Pierre ROLLAT FARNIER (5), Vincent COTTIN (6), Valérie BESNARD (7), Yves PACHECO (6), GSF Groupe Sarcoïdose France (8)

1. Génétique Moléculaire et Médicale, Hospices Civils de LYON, LYON, France
2. Service de pneumologie, Hôpital Avicenne, PARIS, France
3. Service de Pneumologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
4. Service de biostatistiques, Hospices Civils de LYON, LYON, France
5. Service de Bio Informatique et Bio Statistiques, Hospices Civils de LYON, LYON, France
6. Service de pneumologie, Hospices Civils de LYON, LYON, France
7. EA 2363 - Equipe Hypoxie et Poumon, Université Paris XIII, PARIS, France
8. Service de Pneumologie, Hôpital Avicenne, PARIS, France

Mots clefs : granulomatoses, sarcoïdose, gène, environnement, autophagie, mTOR

Résumé :

La **sarcoïdose** (maladie de BESNIER-BOECK-SCHAUMANN – **OMIM 181000**) est une **maladie inflammatoire systémique** caractérisée par la formation de **granulomes épithélioïdes** et gigantocellulaires dans le poumon. D'autres organes sont plus ou moins fréquemment affectés, œil (uvéite sarcoïdosique) peau, articulations, système nerveux... La prévalence est estimée entre 1 sur 5000 et 1 sur 20000 et la maladie se déclare généralement entre 25 et 50 ans. L'augmentation du risque relatif (RR = 3,8) chez les apparentés au premier degré et l'existence de **5 à 10% de formes familiales** suggèrent une prédisposition génétique associée à des facteurs toxiques environnementaux. Les locus historiquement impliqués seraient certains génotypes HLA-I (B7/B8) et II (DRB1-03) et des SNP (variants) au sein des gènes associés à la régulation de l'activation des lymphocytes T (BTNL2), de l'apoptose (ANXA11) ou du cytosquelette intracellulaire (CCDC88B). Depuis 2010, nous avons collecté à travers le réseau national **GSF** près de **200 formes familiales de sarcoïdose** à 2, 3 (ou plus) de cas liés au premier degré et des **TRIOS pédiatriques** (enfant – parents sains) afin de disposer dans notre cohorte des situations de transmission héréditaire à forte pénétrance, de type autosomique dominant (projet SARCFAM). Trois années d'analyse génétique en WHOLE EXOME ont permis d'identifier une série de **88 gènes** présentant des mutations délétères et dont les fonctions physiologiques sont centrées autour de la **régulation de l'autophagie**. Trois voies de régulation sont mises en avant, au sein même du processus autophagique, de la **Rho GTPase Rac1** et du complexe multifonctionnel **mTOR**. Plus récemment, nous avons initié une **étude de corrélation génotype** qui suggère que les formes sévères, multi systémiques et potentiellement létales semblent préférentiellement associées à un petit nombre de gènes, ouvrant la voie à une **adaptation thérapeutique** pour les patients analysés en génotype. Nos résultats, inédits dans le contexte international, permettent d'envisager l'utilisation plus précoce d'immunosuppresseurs (azathioprine) qui cible Rac1 et les inhibiteurs de mTOR (everolimus et dérivés). Ces données sont été récemment publiées et soumises également à une revue d'opinion dans la revue TRENDS IN IMMUNOLOGY (pré acceptation - 29 juillet 2019).

Calender A, Lim CX, Weichhart T, et al. Exome sequencing and pathogenicity-network analysis of five French families implicate mTOR signalling and autophagy in familial sarcoidosis. Eur Respir J. 2019 Aug 1; 54(2) - PMID: 31023854

Besnard V, **Calender A**, Bouvry D, et al. G908R NOD2 variant in a family with sarcoidosis. Respir Res. 2018 Mar 20;19(1):44 - PMID: 29554915

Calender A, Rollat Farnier PA, Buisson A, et al. Whole exome sequencing in three families segregating a pediatric case of sarcoidosis. BMC Med Genomics. 2018 Mar 6;11(1): 23 - PMID: 30917882

Nathan N, Sileo C, **Calender A**, et al. Paediatric sarcoidosis. Paediatr Respir Rev. 2019 Feb;29: 53-59 - PMID: 30917882

EF44 : Technique innovante de PCR sans extraction préalable de l'ADN pour le diagnostic combiné de la mutation du facteur V Leiden et G20210A du gène de la prothrombine

Auteurs :

Desjonqueres Alexandre (1), Liselot Detemmerman (2), Catherine Ternisien (1), Marc Fouassier (1), Benjamin Gillet (1), Marie C Béné (3), Yannick Le Bris (3, 4)

1. Hématologie biologie, CHU Nantes, Nantes, France
2. LaCar, LaCar MDX, Liège, Belgique
3. Hématologie Biologique, CHU de Nantes, Nantes, France
4. CRCNA, UMR1232, INSERM, Nantes, France

Mots clefs : facteur V Leiden prothrombine Lamp PCR

Résumé :

Les mutations du facteur 5 Leiden (*F5*) et G20210A du gène de la prothrombine (*F2* G20210A) sont des facteurs génétiques prédisposant à la thrombose fréquemment retrouvés dans la population de patients thrombotiques, ayant conduit à recommander leur recherche dans le cadre des bilans de thrombophilie. La PCR par amplification en boucle (LAMP PCR) est une technique récente permettant une amplification isothermique. Le but de cette étude était de valider une méthode qualitative combinée permettant la détection simultanée des mutations du *F5* et du *F2* G20210A par une technique de LAMP PCR directement sur sang total sans extraction d'ADN.

La validation concernait la trousse LC-FII&FVL-LP-24® (LaCAR MDX Technologies) qui utilise 1µL de sang total ou de l'ADN. La technique comporte cinq phases, respectivement une lyse suivie d'amplification isotherme, de dénaturation, d'hybridation et de fusion avec détection en fluorescence. La PCR utilise 6 primers différents pour chaque cible, permettant l'amplification de *F2* et *F5* en même temps. La détection se fait par analyse des profils de fusion, dans deux canaux de fluorescence, à l'aide d'une sonde spécifique (mutation pour *F2* et site sauvage pour *F5*) et d'un quencher. L'intégralité des réactions a été effectuée directement sur LC96® (Roche). L'analyse des profils de fusion est réalisable visuellement avec le logiciel Roche ou avec un logiciel automatisé en ligne (Mobiolink).

Deux types d'échantillons ont été utilisés : de l'ADN de 23 patients (conservé à +4°C) et une série prospective de 17 prélèvements de sang total (conservé 15 jours à +4°C puis congelé à -20°C). Les techniques usuelles du laboratoire ont été utilisées comme standard. Une PCR spécifique d'allèle du *F2* sauvage, du *F2* G20210A et du *F9* comme témoin d'amplification a été utilisée avec une détection en SYBR®Green sur LC96®. Une technique de PCR avec sondes d'hybridation à transfert d'énergie par résonance fluorescente (FRET) sur RotorGene® selon Ameziane N et al. (2003) a été utilisée pour la détection des mutations du *F5*. Tous ces échantillons ont été sélectionnés après avoir été testés avec les deux techniques de PCR standard: statuts sauvage (19 *F2* et 21 *F5*) et mutés homozygote (10 *F2* et 7 *F5*) ou hétérozygote (11 *F2* et 12 *F5*). Dans tous les cas, le statut identifié par les techniques standard a été confirmé avec le nouveau test. Les tests de reproductibilité ont également été concordants à 100%.

Au total, cette technique novatrice d'amplification en boucle permet d'obtenir en 40 minutes les résultats des deux mutations en une étape avec une instrumentation classique de biologie moléculaire. En effet un aliquote de sang lysé est directement mélangé aux réactifs d'amplification et de détection. Les résultats sont ainsi obtenus plus rapidement qu'avec les techniques conventionnelles. La méthode est flexible et permet une détection individuelle ou par séries en fonction de l'organisation du laboratoire qui le réalise.

EF45 : Exploration génétique d'une cohorte de lupus pédiatrique et familial

Auteurs :

Maud TUSSEAU (1), Jessica MICHEL (1), Audrey LABALME (1), Marine VILLARD (2), Magali PERRET (2), Sebastien VIEL (2, 3), Jean Christophe LEGA (4), Jean François VIALARD (5), Brigitte BADER MEUNIER (6), Christophe MALCUS (7), Emilie CHOPIN (8), Thierry WALZER (3), Gaetan LESCA (1), Alexandre BELOT (9, 3)

1. Laboratoire de génétique, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
2. Service d'Immunologie Biologique, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
3. Inserm, U1111, Centre International de Recherche en Infectiologie, CIRI, LYON, France
4. Service de médecine interne et vasculaire, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
5. Clinique de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, Service d'Hématologie, Hôpital Haut-Lévêque, Pessac, France, PESSAC, France
6. Service d'Immuno-Hématologie et Rhumatologie pédiatriques, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, PARIS, France
7. Laboratoire d'immunologie, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
8. Centre de Biotechnologie Cellulaire, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
9. Service de néphrologie, rhumatologie et dermatologie pédiatriques, Hospices Civils de Lyon, LYON, France

Mots clefs : Exome,lupus,dysimmunité,ADAR

Résumé :

Les progrès récents en génétique appliqués au champ des maladies auto-immunes ont permis de mettre en évidence des susceptibilités génétiques de type mendélienne à certains cas de lupus érythémateux systémique, notamment dans les formes pédiatriques dont la sévérité clinique est particulièrement importante. L'étude de ces anomalies, touchant entre autres aux différentes voies de l'immunité innée, permet une meilleure compréhension de la physiopathologie de la maladie lupique et de son hétérogénéité.

Notre étude visait à mettre en évidence de nouvelles formes du lupus monogénique. 18 patients ont ainsi bénéficiés d'un séquençage de l'exome. Une analyse par CGH-array a également été réalisée pour l'analyse des CNV. Une étude du nombre de copies du gène *C4* par ddPCR a complété l'analyse génétique pour mettre en évidence une éventuelle délétion du gène, facteur de risque connu de la maladie.

Nous avons retrouvé des variants délétères dans *ADAR* et *ETV6*, deux gènes déjà décrits en pathologie humaine. Un nouveau gène impliqué dans des formes d'auto-immunité familiale a été identifié grâce à deux variants pathogéniques identifiés dans deux familles différentes. La ségrégation familiale est en faveur d'une transmission dominante avec expressivité variable. D'autres gènes candidats (*NLR5*, *CD22*, *BANK1*) font l'objet d'analyses génétiques et fonctionnelles complémentaires. Nous avons également mis en évidence un déficit complet en *C4A*.

Notre étude a permis la mise en évidence d'un nouveau gène impliqué dans des formes familiales d'auto-immunité et de lupus. D'autres gènes candidats font l'objet d'explorations génétiques et fonctionnelles. Nous avons démontré l'intérêt et la faisabilité de la recherche des CNV du gène *C4* pour la mise en évidence de ce facteur de risque. La description de ces formes monogéniques de la maladie permet une avancée dans la compréhension de la physiopathologie de la maladie, avec la possibilité de voir se développer des traitements personnalisés, plus adaptés au profil de chaque malade.

EF46 : Mitodiag, le réseau français des laboratoires de diagnostic des maladies mitochondriales

Auteurs :

Sylvie BANNWARTH (1), Patrizia AMATI-BONNEAU (2), Céline BRIS (3), Valérie DESQUIRET-BRIS (2), Guegen NAIG (3), David GOUDENEGE (2), Alice CHOURY (2), Cécile ROUZIER (1), Annabelle CHAUSSENOT (1), Konstantina FRAGAKI (1), Samira AIT-EL-MKADEM SAADI (1), Marie-Laure MARTIN-NEGRIER (4), Aurélien TRIMOUILLE (4), Stéphane ALLOUCHE (5), Gaëlle HARDY (6), Claire-Marie DHAENENS (7), Aurore DEVOS (7), Cécile ACQUAVIVA-BOURDAIN (8), Cécile PAGAN (8), Sophie VASSEUR (8), Pauline GAIGNARD (9), Abdelhamid SLAMA (9), Claude JARDEL (10), Benoit RUCHETON (11), Giulia BARCIA (12), Jean-Paul BONNEFONT (12), Julie STEFFAN (12), Anne-Sophie LEBRE (13), Pascal REYNIER (3), Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER (1), Vincent PROCACCIO (14)

1. Université Côte d'Azur, INSERM U1081, CNRS UMR7284, IRCAN, CHU de Nice, Nice, France
2. Département de Biochimie-Génétique, UMR CNRS6015 INSERM1083, CHU d'Angers, Angers, France
3. Département de Biochimie-Génétique, UMR CNRS 6015 INSERM 1083, CHU d'Angers, Angers, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
5. Laboratoire de Biochimie, CHU Caen, Caen, France
6. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Grenoble, Grenoble, France
7. Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Lille, Lille, France
8. Maladies héréditaires du métabolisme, HCL-GH Est, Centre de biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon, Bron, France
9. Service de Biochimie, AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre, CHU Bicêtre, Paris, France
10. UF Cardio et Myogénétique-Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
11. UF Cardio et Myogénétique-Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
12. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
13. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Maison Blanche, CHU de Reims, Reims, France
14. Département de Biochimie-Génétique, UMR CNRS 6015 INSERM 1083, CHU d'Angers, Angers, France

Mots clefs : Maladies mitochondriales, diagnostic, réseau national

Résumé :

Les maladies mitochondriales constituent un groupe de maladies rares extrêmement hétérogènes tant sur le plan clinique que génétique. Elles sont dues à un déficit énergétique causé par un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ces maladies résultent de variants pathogènes touchant l'ADN mitochondrial (ADNmt) ou les gènes nucléaires (ADNn). Leur diagnostic est complexe et repose sur un faisceau d'arguments (cliniques, biochimiques, histologiques...) mais seule l'identification du gène responsable permet d'apporter le diagnostic de certitude. Pour cela, différentes approches par NGS sont utilisées (séquençage complet de l'ADNmt, panels de gènes nucléaires, exome).

Créé en 2000, le réseau MitoDiag regroupe les 11 laboratoires français impliqués dans le diagnostic des maladies mitochondriales. Ce réseau est adossé aux 2 centres de références maladies rares pour les maladies mitochondriales : CALISSON (CHU de Nice) et CARAMMEL (hôpital Necker) qui font partie de la filière neuromusculaire Filnemus. MitoDiag est composé d'une soixantaine de membres (biologistes médicaux, généticiens moléculaires et cliniciens, chercheurs, biochimistes) qui collaborent activement. Ainsi, en 2013, une cohorte de 734 patients suspects de maladies mitochondriales a été constituée et analysée par l'ensemble des laboratoires de MitoDiag. Cette étude a démontré l'importance de rechercher les variants rares de l'ADNmt avec une identification de variants pathogènes dans 7,4% des cas (J. Med. Genet, 2013). La stratégie d'analyse de ces pathologies et les outils moléculaires et biochimiques sont revus régulièrement et des échanges d'échantillons interlaboratoires sont également organisés annuellement au sein du réseau. Les résultats obtenus par les différentes équipes sont colligés et analysés afin d'harmoniser les bonnes pratiques de laboratoires et établir des recommandations spécifiques pour le diagnostic des maladies mitochondriales.

Actuellement, le réseau MitoDiag constitue une base de données clinico-biologique nationale spécifique pour les maladies mitochondriales (MitoMatcher).

Les différentes actions de MitoDiag permettent donc d'améliorer le diagnostic et la prise en charge des patients suspects de maladie mitochondriale.

<https://www.mitodiag.fr/home.php>.

Pièce jointe : MitoDiag .docx

EF47 : Un nouveau variant délétère du gène CAPN3 impliqué dans une transmission autosomique dominante de calpainopathie

Auteurs :

Martin Krahn (1, 2), Mathieu Cerino (1, 3), Emmanuelle Campana-Salort (4), Pascal Cintas (5), Dimitri Renard (6), Alexandra Salvi (1), Raul Juntas Morales (7), Céline Tard (8, 9), France Leturcq (10), Tanya Stojkovic (8), Nathalie Bonello-Palot (1, 2), Svetlana Gorokhova (1, 2), Jérémie Mortreux (1, 2), Andre Maues de Paula (11, 1), Nicolas Lévy (1, 12), Jean Pouget (4), Mireille Cossée (13, 14), Marc Bartoli (1), Shahram Attarian (15, 1)

1. Marseille Medical Genetics Inserm-AMU U1251, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Département de Génétique Médicale, APHM, Marseille, France
3. Département de Génétique Médicale, APHM, Marseille, France
4. Centre de référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, APHM, Marseille, France
5. Centre de référence de pathologie neuromusculaires, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse, , Toulouse, France
6. Service de Neurologie, CHU de Nîmes, Nîmes, France
7. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, Université de Montpellier, Montpellier, France
8. Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, APHP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. U1171, Service de neurologie, CHU de Lille, Lille, France
10. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin / APHP, Paris, France
11. Service d'anatomie pathologique et de neuropathologie, CHU La Timone, APHM, Marseille, France
12. Département de Génétique Médicale, Aix Marseille Université, Marseille, France
13. Laboratoire de Génétique moléculaire, CHRU Montpellier, Montpellier, France
14. Laboratoire de Génétique de maladies rares, Université de Montpellier, Montpellier, France
15. Centre de référence de pathologie neuromusculaires, APHM, Marseille, France

Mots clefs : CAPN3, dominant, calpainopathie, NGS

Résumé :

Les myopathies des ceintures présentent une grande hétérogénéité génétique avec plus de 25 formes de transmission récessive ou dominante décrites. La myopathie des ceintures associée au gène *CAPN3* (Limb-Girdle Muscular Dystrophy Recessive type 1, LGMDR1), première caractérisée génétiquement, représente la plus fréquente des myopathies des ceintures autosomiques récessives.

Ce mode de transmission autosomique récessif exclusif admis pendant des années pour ce gène a récemment été reconsidéré avec la description en 2016 par Vissing *et al.* du variant récurrent, c.643_663del21 [p.(Ser215_Gly221del)], associé à un mode de transmission autosomique dominant. Cependant, aucun autre variant *CAPN3* bien documenté n'a été décrit depuis pour confirmer ce nouveau mode de transmission associé aux calpainopathies.

En reprenant notre base de données de patients suspectés de LGMDR1 constituée depuis ces 15 dernières années au sein du Département de Génétique Médicale à Marseille, nous avons pu mettre en évidence un second variant, c.1333G>A [p.(Gly445Arg)], du gène *CAPN3* associé à ce mode de transmission autosomique dominant. En effet, ce variant déjà décrit comme pathogène pour les LGMDR1 a été retrouvé dans notre base de données à l'état hétérozygote simple dans 3 familles distinctes pour lesquelles les explorations phénotypiques et génotypiques complémentaires orientent vers ce mode de transmission autosomique dominant. De plus, par le biais de la filière de santé des maladies rares neuromusculaires (FILNEMUS) une 4^e famille a pu être identifiée présentant le même variant du gène *CAPN3* associé à un phénotype similaire sur un mode de transmission autosomique dominant.

Ainsi, nous décrivons à ce jour 14 individus atteints au sein de 4 familles indépendantes présentant le même variant, c.1333G>A [p.(Gly445Arg)], du gène *CAPN3* associé à une calpainopathie de transmission autosomique dominante.

Sur le plan clinique, le phénotype atténué a priori associé à cette transmission autosomique dominante, décrit à la fois par Vissing *et al.* et retrouvé pour les 4 familles que nous rapportons ici, représente un élargissement du spectre phénotypique des calpainopathies à considérer à l'avenir dans la pratique clinique.

Nos résultats soulignent ainsi l'existence de formes autosomiques dominantes de calpainopathies, au-delà des cas spécifiques associés au variant décrit par Vissing *et al.*, même si à terme une validation par des tests fonctionnels reste nécessaire pour confirmer les mécanismes physiopathologiques sous-jacents.

Finalement, la description de ce nouveau mode de transmission pour les calpainopathies, outre l'impact évident sur le conseil génétique associé, ouvre également la voie à l'éventuelle réévaluation d'autres formes de myopathies pour lesquelles la transmission est aujourd'hui considérée comme strictement autosomique récessive.

EF48 : Hearing loss in inherited peripheral neuropathies: Molecular diagnosis by NGS in a French series.

Auteurs :

Justine LERAT (1, 2), Corinne MAGDELAINE (3, 1), Françoise ROUX (4), Léa DARNAUD (3), Hélène DZUGAN (1, 3), Steven NAUD (3), Laurence RICHARD (5, 1), Paco DEROUAULT (6), Karima GHORAB (7, 1), Laurent MAGY (7, 1), Jean-Michel VALLAT (7), Pascal CINTAS (8, 9), Eric BIETH (10), Marie-Christine ARNE-BES (8), Cyril GOIZET (11), Caroline ESPIL-TARIS (12), Hubert JOURNEL (13), Annick TOUTAIN (14), Andoni URTIZBEREA (15), Odile BOESPFLUG-TANGUY (16), Fanny LAFFARGUE (17), Philippe CORCIA (18), Laurent PASQUIER (19), Mélanie FRADIN (19), Sylvia NAPURI (20), J. CIRON (21), Jean-Marc BOULEISTEIX (22), Franck STURTZ (3, 1), Anne-Sophie LIA (1, 3)

1. EA6309, Université de Limoges, Limoges, France
2. Service Oto-Rhino-Laryngologie et Chirurgie Cervico-Faciale, CHU de Limoges, Limoges, France
3. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Limoges, Limoges, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier, Montpellier, France
5. Service de Neurologie, CHU de Limoges, Limoges, France
6. UF de Bioinformatique, CHU de Limoges, Limoges, France
7. CRM Neuropathies Périphériques Rares, CHU de Limoges, Limoges, France
8. Service de Neurologie et d'explorations fonctionnelles, CHU de Toulouse, Toulouse, France
9. Centre de Référence de pathologies neuromusculaires, CHU de Toulouse, Toulouse, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
11. Service de Neurogénétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
13. Service de Génétique Médicale, CH Bretagne Atlantique, Vannes, France
14. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
15. Centre de Référence Neuromusculaire, Hôpital Marin, Hendaye, France
16. Service de Neurogénétique, Hôpital Robert-Debré AP-HP, Paris, France
17. Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
18. Service de Neurologie, CHU de Tours, Tours, France
19. Service de Génétique Médicale, CHU de Rennes, Rennes, France
20. Service de Pédiatrie, CHU de Rennes, Rennes, France
21. Service de Neurologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France
22. Service de Neurologie, CHU de Cahors, Cahors, France

Mots clefs : Hearing Loss, Neuropathies, NGS

Résumé :

BACKGROUND: The most common inherited peripheral neuropathy is Charcot-Marie-Tooth disease (CMT), with a prevalence of 1/2500. Other symptoms can be associated to the condition, such as hearing loss. Currently, no global hearing impairment assessment has been determined, and the physiopathology is not well known.

METHODS: The aim of the study was to analyze among a French series of 3,412 patients with inherited peripheral neuropathy (IPN), the ones who also suffer from hearing loss, to establish phenotype-genotype correlations. An NGS strategy for IPN one side and nonsyndromic hearing loss (NSHL) on the other side, were performed.

RESULTS: Hearing loss (HL) was present in only 44 patients (1.30%). The clinical data of 27 patients were usable. Demyelinating neuropathy was diagnosed in 15 cases and axonal neuropathy in 12 cases. HL varied from mild to profound. Five cases of auditory neuropathy were noticed. Diagnosis was made for 60% of these patients. Seven novel pathogenic variants were discovered in five different genes: PRPS1; MPZ; SH3TC2; NEFL; and ABHD12. Two patients with PMP22 variant, had also an additional variant in COCH and MYH14 respectively. No pathogenic variant was found at the DFNB1 locus. Genotype-phenotype correlations do exist, especially with SH3TC2, PRPS1, ABHD12, NEFL, and TRPV4.

CONCLUSION: Involvement of PMP22 is not enough to explain hearing loss in patients suffering from IPN. HL can be due to cochlear impairment and/or auditory nerve dysfunction. HL is certainly underdiagnosed, and should be evaluated in every patient suffering from IPN.

EF49 : Recherche des gènes de modification dans la neurofibromatose de type 1 : résultats de la première étude d'association génome entier sur une cohorte de 1333 patients.

Auteurs :

Laurence PACOT (1, 2), Audrey SABBAGH (3), Béatrice PARFAIT (1, 2), Anne BOLAND-AUGE (4), Delphine BACQ-DAIAN (4), Ingrid LAURENDEAU (2), Salah FERKAL (5, 6), Audrey BRIAND (1, 2), Laurence ALLANORE (5), Jean-François DELEUZE (4), Michel VIDAUD (1, 2), Dominique VIDAUD (1, 2), Pierre WOLKENSTEIN (5, 7), Éric PASMANT (1, 2)

1. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, APHP.Centre Université de Paris, PARIS, France
2. Inserm UMR_S1016, Institut Cochin, Université de Paris, PARIS, France
3. UMR 261 MERIT, Institut de Recherche pour le Développement, Université de Paris, PARIS, France
4. CEA, Centre National de Recherche en Génomique Humaine, EVRY, France
5. Département de Dermatologie, Centre de référence des neurofibromatoses, Hôpital Henri-Mondor, AP-HP, CRÉTEIL, France
6. CIC1430, Hôpital Henri-Mondor, AP-HP, CRÉTEIL, France
7. EA7379, Université Paris Est Créteil, CRÉTEIL, France

Mots clefs : Étude d'association génome entier; Neurofibromatose de type 1, NF1; Neurofibromes

Résumé :

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est une maladie génétique caractérisée par le développement de tumeurs bénignes des gaines nerveuses appelées neurofibromes (NF), qui peuvent se transformer en cancers appelés MPNST (*malignant peripheral nerve sheath tumors*). Ces MPNST sont la première cause de mortalité chez les patients atteints de NF1. Transmise sur un mode autosomique dominant, la NF1 est causée par la perte de fonction du gène suppresseur de tumeur *NF1*. Ce gène code la neurofibromine, régulateur négatif de la voie RAS-MAPK. Malgré une pénétrance complète à l'âge de 8 ans, l'expressivité de la maladie est extrêmement variable, y compris au sein d'une même famille. De rares variants faux-sens du gène *NF1* ont pu être corrélés à des formes plus ou moins sévères de NF1, mais la plus grande part de la variabilité phénotypique de cette maladie reste inexpliquée. L'étude de modèles animaux et de corrélations phénotypiques intrafamiliales a suggéré l'existence de gènes modificateurs.

Nous présentons ici les résultats de la première étude d'association génome entier pour la NF1, réalisée en collaboration avec le réseau NF-France. Ce travail a reposé sur l'étude génotypique et phénotypique de plus de 1500 patients atteints de NF1 issus de 3 programmes hospitaliers de recherche clinique entre 2003 et 2013. L'ensemble des patients (pour lesquels des variants pathogènes du gène *NF1* ont été identifiés) ont été génotypés avec la puce Illumina OmniExpressExome. Après exclusion des patients porteurs de variants de *NF1* connus pour être corrélés à un phénotype particulier et après un contrôle de qualité des données, une cohorte de 1333 patients a été obtenue et subdivisée en 2 échantillons de 918 patients (échantillon de découverte, ED) et 415 (échantillon de réplique, ER). Notre étude s'est focalisée sur 3 phénotypes majeurs dans la NF1 : les neurofibromes cutanés, sous-cutanés et plexiformes.

L'analyse des données montre que le seuil de signification statistique à l'échelle du génome ($p < 5.10^{-8}$) est franchi dans l'ED pour le trait des neurofibromes plexiformes. Bien qu'inférieurs au seuil pangénomique, d'autres signaux significatifs sont observés dans les différents phénotypes étudiés. Ainsi, un total de 10 régions génomiques répliquées ($p < 10^{-5}$) et de 22 régions significatives non répliquées ($p < 10^{-6}$) sont révélées pour l'ensemble des 3 traits étudiés. Ces régions pointent l'implication potentielle respectivement de 83 et 270 gènes, dont 40 et 116 gènes codants. Parmi eux, plusieurs sont impliqués ou en lien avec la voie RAS-MAPK (*WDR48*, *MAP3K7*, *MMD2*, *TBK1*, *RAP2A*), le cycle cellulaire (*DAPK1*, *GAS1*, *FYN*, *MYCL*) ou le processus de myélinisation (*FRMD4A*, *FYN*).

Notre étude permet de confirmer l'implication de gènes précédemment identifiés. Des régions génomiques à risque distinctes entre les trois phénotypes étudiés sont mises en évidence, suggérant l'existence de mécanismes physiopathologiques spécifiques à l'origine de chaque type de neurofibromes.

Pièce jointe : Résumé Assises 2020_GWAS NF1.pdf

EF50 : Identification de SREBP1 comme premier gène responsable de la dysplasie muco-épithéliale héréditaire.

Auteurs :

Fanny Morice-Picard (1), Vincent Michaud (2), Eulalie Lasseaux (2), Claudio Plaisant (2), Didier Bessis (3), Christine Leauté-Labrèze (1), Benoit Arveiler (2, 4), Alain Taieb (1), Aurélien Trimouille (2, 4), Franck Boralevi (1)

1. Dermatologie Pédiatrique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. Dermatologie Pédiatrique, CHU Montpellier, Montpellier, France
4. INSERM U1211, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : SREBP1, Dysplasie Muco-Epithéliale Héréditaire, Dematogénétique

Résumé :

La dysplasie muco-épithéliale héréditaire (HMD) est une maladie dermatologique rare de transmission autosomique dominante, caractérisée par des lésions muco-épithéliales chroniques impliquant les cheveux, la peau et les muqueuses. Les patients présentent notamment une kératite, une alopecie non cicatricielle, une kératose pilaire et un intertrigo périnéal. Il existe également une atteinte ophtalmologique avec photophobie sévère et cataracte dans l'enfance, ainsi qu'une atteinte pulmonaire avec pneumopathies récurrentes et fibrose, aboutissant à un décès prématuré.

Du fait des caractéristiques histologiques des lésions, il avait été supposé que ces atteintes étaient dues à un défaut de l'adhésion épithéliale ou muqueuse.

Grâce à la réalisation de séquençages d'exomes, nous avons mis en évidence chez 4 familles la présence de variants faux-sens à l'état hétérozygote *de novo*, ou hérités ségrégeant avec la pathologie dans le gène *SREBP1*. Deux variants faux-sens différents ont été retrouvés, impliquant tous deux l'Arginine 557 : p.Arg557Cys et p.Arg557His. Ces variants sont absents de la base de données GnomAD, et prédits délétères par de multiples logiciels de prédiction.

SREBP1 est un facteur de transcription impliqué dans le contrôle de l'homéostasie des lipides en activant la transcription de gènes régulés par le stérol. Il a été récemment montré que SREBP1 est notamment impliqué dans la régulation de l'inflammation en contrôlant la production d'acide gras insaturé anti-inflammatoire par les macrophages. Le domaine N-terminal de SREBP1 est libéré après clivages séquentiels au niveau de deux sites spécifiques. Le résidu Arginine 577 muté correspond au premier site de clivage de la boucle de SREBP1 située dans la lumière du réticulum endoplasmique. Il a été montré par mutagenèse que ce résidu est essentiel pour ce processus, et que sa disparition entraîne l'absence de clivage de SREBP1. MBTPS2, est une protéase clivant spécifiquement SREBP1, au niveau du deuxième site et permet son activation. Des variants perte de fonction du gène *MBTPS2* sont responsables de l'association ichtyose folliculaire, atrichie et photophobie (syndrome IFAP), qui partage des similarités avec l'HMD sur le plan clinique.

Ces résultats montrent donc qu'un hot-spot mutationnel au résidu Arg557 de *SREBP1* est responsable de l'HMD, via une absence de clivage et d'activation de la protéine, et que ce mécanisme physiopathologique permet de relier l'HMD avec le syndrome IFAP avec lequel il partage des caractéristiques cliniques communes.

Pièce jointe : SREBP1 Abstract AssisesREVAT_FMP.docx

EF51 : Mosaïcisme segmentaire de type 2 : Disomie uniparentale en mosaïque et mutation ponctuelle dans la Porokératose de Mibelli.

Auteurs :

Arthur SORLIN (1, 2), Virginie Carmignac (2, 3), Émilie Tisserant (2), Paul KUENTZ (2), Martin CHEVARIN (2), Charlotte POE (2), Jehanne MARTEL (3), Smail Hadj Rabia (4), Nicole KNÖPFEL (5), Martin THEILER (5), Lisa WEIBEL (5), Pierre VABRES (3, 2)

1. Centre de Génétique, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
2. Laboratoire GAD, INSERM UMR 1231, FHU Translad, Université Bourgogne - Franche-Comté, Dijon, France
3. Centre de référence MAGEC, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Service de dermatologie, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Pädiatrische Dermatologie, Universitäts-Kinderspital Zürich, Zürich, Suisse

Mots clefs : Mosaïque, Exome, Bioinformatique

Résumé :

Les porokératoses sont un groupe de dermatoses caractérisées par des nappes atrophiques à bordure kératosique figurée, parfois héréditaires, de transmission autosomique dominante, dues à des mutations de divers gènes de la voie des isoprénoides. Dans la porokératose de Mibelli, ces nappes peuvent prendre une disposition linéaire ayant fait évoquer un mosaïcisme cutané de type 2.

Nous avons étudié trois patients non apparentés, présentant une forme linéaire ou segmentaire, qui contrastait avec une atteinte plus discrète en petits éléments chez d'autres membres de leur famille. Nous avons effectué un séquençage d'exome en paires (comparaison de l'ADN de la peau atteinte à l'ADN leucocytaire), à la recherche d'un tel mosaïcisme. L'étude des fractions alléliques des SNP couverts par l'exome a révélé une perte d'hétérozygotie par disomie uniparentale (DUP) en mosaïque, pour le bras long du chromosome 1, du chromosome 12 ou du chromosome 16, entraînant une augmentation de la fraction allélique d'une variation ponctuelle pathogène héritée d'un parent, atteint d'une forme mineure non-segmentaire, au sein du gène *PMVK* (OMIM #607622), *MVK* (OMIM#175900) ou *MVD* (OMIM #614714).

Une disomie uniparentale en mosaïque en plus d'une mutation constitutionnelle a été rapportée récemment chez d'autres patients atteints de porokératose segmentaire, et précédemment dans des cas de glomangiomatose segmentaire. Il pourrait donc s'agir d'un type de deuxième événement fréquent dans le mosaïcisme cutané de type 2. Nos résultats soulignent également la pertinence du séquençage d'exome pour la détection en un seul examen des variations nucléotidiques et chromosomiques.

EF52 : Identification et caractérisation moléculaire d'une délétion non codante identifiée dans une famille avec calcifications cérébrales primaires et dévoilant un élément régulateur majeur de l'expression du gène SLC20A2

Auteurs :

Kévin CASSINARI (1), Anne ROVELET-LECRUX (2), Sandrine TURRY (3), Olivier QUENEZ (2), Anne-Claire RICHARD (2), Camille CHARBONNIER (2), Anne BOLAND (4), Jean-François DELEUZE (4), Jean-François BESANCENOT (5), Dorothee POULIQUEN (6), François LECOQUIERRE (1), Pascal CHAMBON (1), Christel THAUVIN-ROBINET (7, 8), Dominique CAMPION (2, 9), Didier HANNEQUIN (6), Thierry FREBOURG (1), Jean-Luc BATTINI (3, 10), Gaël NICOLAS (2)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. 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
3. Institut de Recherche en Infectiologie de Montpellier (IRIM), Université de Montpellier, CNRS, Montpellier, France
4. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, F-91057, Evry, France
5. Département de Neurologie, CHU de Dijon, Dijon, France
6. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Neurologie, 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
7. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental disorders, Université de Bourgogne-Franche Comté, FHU TRANSLAD, Dijon, France
8. Unité Fonctionnelle «Innovation diagnostique dans les maladies rares », laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
9. Département de Recherche, Hopital du Rouvray, Sotteville-les-Rouen, France
10. Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier (IGMM), Université de Montpellier, CNRS, Montpellier, France

Mots clefs : Calcifications cérébrales primaires, enhancer, régulation, PCR digitale, CRISPR/Cas9

Résumé :

Les calcifications cérébrales primaires (CCP) sont une maladie microvasculaire cérébrale rare d'expression neuropsychiatrique. Parmi les 5 gènes connus, les variations pathogènes du gène majeur, *SLC20A2*, codant pour un importeur de phosphate, causent des CCP de transmission autosomique dominante par haploinsuffisance.

Nous avons recherché, avec l'outil CANOES, des variations du nombre de copies sur les exomes de 71 cas index non apparentés avec CCP sans cause connue et avons identifié une nouvelle délétion localisée en 8p11.21, 150 kb en amont du gène *SLC20A2*, touchant deux gènes voisins non candidats pour les CCP. Bien que la délétion n'implique ni séquence codante ni promoteur de *SLC20A2*, sa proximité relative avec le gène et l'implication d'un *enhancer* présumé d'après la base GeneHancer nous a conduit à la caractériser.

Le séquençage de l'exome du demi-frère atteint et l'étude ciblée de la délétion par digital droplet PCR (ddPCR) chez le cas index, son demi-frère et le fils de ce dernier, également porteur de calcifications, ont montré que tous 3 sont porteurs de ce remaniement dont nous avons pu établir les coordonnées précises, chr8:42,431,767-42,621,181;hg19. L'analyse de l'ARN des 3 patients par RT-ddPCR avec des sondes d'hydrolyse universelles a montré une diminution d'expression de 45,0% par rapport à des contrôles sains ($p < 0,001$), soit du même ordre que celle observée chez 4 individus porteurs de variations nucléotidiques entraînant des codons stop prématurés de *SLC20A2* (-39,0%). L'analyse de l'import de phosphate inorganique dans les cellules sanguines du cas index a montré un défaut d'import de -39,3% par rapport aux contrôles ($p=0,015$). Enfin, nous avons introduit, par CRISPR/Cas9, une délétion de la région de cet *enhancer* supposé de *SLC20A2* dans des cellules HEK293. Après avoir confirmé la bonne introduction de la délétion par ddPCR (nombre de copie moyen dans les culots cellulaires : 1,3), nous avons objectivé une diminution d'expression de l'ARNm de *SLC20A2* de l'ordre de 35,6% dans les cellules transfectées par les ARN guides ciblant cette région, par rapport aux contrôles.

En conclusion, nous rapportons la première délétion responsable d'une haploinsuffisance de *SLC20A2* sans impacter sa séquence codante ni son promoteur. Cette délétion est associée à une perte d'expression du même ordre que des variations perte de fonction associées à un phénomène de *nonsense mediated decay*, ainsi qu'à une perte de l'activité protéique, montrant son rôle majeur. L'utilisation de CRISPR/Cas9 a permis de reproduire cette condition sur des cellules HEK293 en ciblant spécifiquement l'élément régulateur concerné. Ces résultats ouvrent la voie à de potentielles cibles thérapeutiques chez les patients avec CPP par haploinsuffisance de *SLC20A2*. Nous proposons une stratégie simple permettant l'annotation, la mesure de l'effet sur l'ARNm, et la confirmation de l'effet *in vitro*, permettant de conclure sur l'impact de tels événements non codants.

Pièce jointe : SLC20A2 regulation - KC-GN.docx

EF53 : La protéine MeCP2 est impliquée dans l'expression aléatoire mono-allélique d'un groupe de gènes autosomiques chez l'homme

Auteurs :

Marine Brousseau (1), Juliette Nectoux (2), Benjamin Saintpierre (3), Nicolas Lebrun (4), Nicolas Cagnard (5), Brigitte Izac (3), Emmanuelle Olivier (5), Franck Letourneur (3), Thierry Bienvenu (4)

1. INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France, Paris, France
2. Inserm, U1016, Institut Cochin, et Cnrs, UMR8104, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. Plateforme Génomique, Institut Cochin, Paris, France, Paris, France
4. INSERM U1266, Institut de Psychiatrie et de Neurosciences de Paris (IPNP), Paris, France
5. Plateforme Bioinformatique, Université Paris Descartes, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : MeCP2, syndrome de Rett, expression autosomique mono-allélique

Résumé :

L'expression génique monoallélique aléatoire (dénommée RMAE) affecte près de 10% des gènes autosomiques humains. Cependant, les mécanismes par lesquels cette expression monoallélique des gènes autosomiques est établie et ceux par lesquels elle est maintenue restent des questions en suspens. Le choix de l'expression allélique étant effectué de manière aléatoire dans chaque cellule, ce mécanisme de RMAE n'est pas observable dans les populations cellulaires non clonales ni dans les tissus entiers. Plusieurs gènes cibles de MeCP2, la protéine impliquée dans le syndrome de Rett (RTT), ont été décrits comme sujets à ce phénomène de RMAE, suggérant que MeCP2 pourrait être impliqué dans l'établissement et / ou le maintien de ce mécanisme. Pour améliorer nos connaissances sur ce mécanisme et étudier le rôle de MeCP2 dans le RMAE, nous avons étudié et comparé les profils d'expression monoallélique des gènes autosomiques dans des cultures de cellules clonales exprimant l'allèle *MECP2* de type sauvage versus des cellules exprimant exclusivement l'allèle *MECP2* muté chez une patiente RTT porteuse d'un variant pathogène de *MECP2* à l'état hétérozygote. Nos données ont été obtenues par l'analyse simultanée de l'exome et du transcriptome (RNA sequencing). Après avoir vérifié que le déficit en MeCP2 n'affectait pas de manière significative l'expression monoallélique des gènes situés sur le chromosome X, des gènes soumis à l'empreinte parentale et de la majorité des gènes autosomiques, notre travail a permis 1- d'identifier de nouveaux gènes soumis au mécanisme de RMAE et 2- de montrer que le déficit fonctionnel en MeCP2 perturberait l'expression monoallélique ou biallélique d'un sous-groupe de gènes autosomiques (~49 gènes), permettant de définir une signature spécifique des clones cellulaires mutés *MECP2*.

EF54 : Apport des modèles murins dans l'identification de nouveaux gènes de la déficience intellectuelle et/ou d'anomalies du développement cérébral : potentiel d'un nouveau concept pour la validation du diagnostic génétique dans les cas ultra-rares

Auteurs :

Antonio Vitobello (1), Stephan C Collins (1), Valerie E Vancollie (1), Ange-Line Bruel (1), Charlotte Montillot (1), Sylvie Nguyen (1), Christophe Philippe (1), Laurence Faivre (1), Christel Thauvin-Robinet (1), Binnaz Yalcin (1)

1. Inserm UMR1231 GAD, Université Bourgogne Franche-Comté, 21000 Dijon, France, Dijon, France

Mots clefs : modèles murins, anatomie cérébrale, déficience intellectuelle

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) est un trouble du développement cérébral extrêmement hétérogène sur le plan génétique, à l'origine d'une grande errance diagnostique. En effet, bien que plus de 1.200 gènes soient à ce jour décrits comme impliqués dans des formes syndromiques ou non de la déficience intellectuelle (source SysID <https://sysid.cmbi.umcn.nl/>), un grand nombre de patients atteints de DI reste actuellement sans diagnostic étiologique, même après un séquençage haut débit d'exome, sans doute en lien avec des causes génétiques ultra-rares. Environ 45% de ces gènes de DI sont également impliqués dans des anomalies du développement du cerveau comme par exemple la microcéphalie, la macrocéphalie ou l'agénésie du corps calleux. Ces phénotypes neuro-anatomiques peuvent ainsi être utilisés comme des endophénotypes fiables et facilement mesurables de la DI, qui peuvent être à leur tour évalués dans des modèles animaux.

En collaboration avec le Consortium International de Phénotypage de le Souris (IMPC), nous avons mesuré 161 paramètres neuro-anatomiques dans 1.566 lignées de souris mutantes (principalement knock-out). Ce travail nous a permis d'identifier 164 gènes nouvellement impliqués dans la morphologie du cerveau mammalien dont : *ABHD17A, ADAMTS3, ADGRB1, AKT2, ALDH3B1, AP2A2, ARID4A, ARL4D, ARPC2, ARVCF, BACH2, CAMSAP3, CAND2, CATIP, CBX5, CBX6, CCDC127, CFAP36, CFAP61, CRLF3, CSNK1G3, DAAM2, DBN1, DUSP26, DUSP3, DYNLL1, EIF3H, ENC1, FAM92A, FRRS1, GPR107, GRM8, HMX3, HOMEZ, HPF1, HSP90AA1, KAZN, KIAA1143, KIF18B, KLK6, LDLRAD4, LRMP, LRRC23, LTBP1, METTL24, MIGA2, MKRN2, MTA1, MTA3, MYSM1, NACAD, NSMF, OS9, PABPC4, PFN1, PIAS2, PIK3CB, PTH, RAB15, RAPH1, RHOT1, RNF10, RNF157, ROPN1L, SEC23A, SELENOK, SH3BGRL3, SIK3, SLC44A5, SLITRK4, SPARC, SPNS2, STARD6, SYTL1, TMEM126A, TMEM127, TMEM241, TMOD1, UNK, USP13, VAMP3* et *WDR47*.

En partageant ces 164 gènes sur la plateforme GeneMatcher (<https://genematcher.org/>) et en collaboration avec plusieurs équipes françaises et internationales, nous avons identifié une similitude des phénotypes cérébraux entre les deux espèces pour 16 gènes, impliquant la plupart du temps, un ou deux patients. Le recrutement de nouveaux patients avec une atteinte similaire permettrait de conclure avec certitude sur l'implication de ces 16 gènes d'intérêt dans les pathologies du neuro-développement.

Ces résultats préliminaires démontrent l'intérêt de nos analyses neuro-anatomiques à haut-débit et la pertinence du modèle murin pour apporter une solution à l'errance diagnostique, en particulier dans les cas complexes et ultra-rares.

EF55 : Analyse des variations faux-sens de PANK2 dans un modèle levure cab1 par édition CRISPR-Cas9

Auteurs :

Isabelle Coupry (1), Mickaël Chupin (1), Déborah Tribouillard-Tanvier (2), Christelle Durand (1, 3), Jean-Paul di Rago (2), Cyril Goizet (4), Patricia Fergelot (1, 5)

1. MRGM INSERM U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. UMR5095 CNRS - IBGC - Laboratoire de Génétique Moléculaire des Systèmes Mitochondriaux, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Centre de Référence de Neurogénétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. génétique médicale, laboratoire MRGM, CHU de Bordeaux, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
5. Génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Neurodégénérescence, NBIA, PANK2, levure, CRISPR-Cas9, test fonctionnel

Résumé :

Les NBIA (neurodegeneration with brain iron accumulation), regroupent des maladies neurodégénératives héréditaires rares, dont la forme la plus fréquente, la neurodégénérescence associée à la pantothénate kinase, est due à la perte de fonction du gène *PANK2*. Des variations bi-alléliques, en majorité faux-sens, sont responsables d'une forme classique débutant dans l'enfance, et de formes atypiques à révélation plus tardive. Aucun traitement curatif n'est disponible à ce jour. Le laboratoire du CHU de Bordeaux assure le diagnostic moléculaire de cette NBIA depuis 2012. Afin de reclasser les variants faux-sens de signification inconnue du gène *PANK2* et tester des molécules à visée thérapeutique, nous avons développé un modèle d'analyse de la fonction pantothénate kinase chez la levure *S. cerevisiae*. *PANK2* (NP_705602), d'expression mitochondriale, réalise la première étape, limitante, de la synthèse du CoA qui est une voie métabolique conservée jusqu'à la levure. La première étape est catalysée chez la levure par la pantothénate kinase Cab1p (NP_010820), codée par le gène *CAB1* dont la délétion est létale. Nous avons testé 2 stratégies d'analyse de mutants : d'une part le remplacement d'un résidu conservé de l'homme à la levure, en utilisant la stratégie CRISPR-Cas9 d'édition du génome et d'autre part pour tester les variants touchant des résidus non conservés, la transformation d'un exceptionnel variant thermosensible cab1s par un cDNA humain, sauvage ou muté et adapté à la levure. Nous présentons ici la stratégie d'édition du gène *CAB1*. Pour sa mise au point, nous avons introduit indépendamment et en condition haploïde, la variation faux-sens G311R correspondant à la mutation récurrente p.Gly521Arg entraînant une disparition de l'activité enzymatique, la variation N170I dont l'homologue p.Asn404Ile conduit à une diminution modérée de l'activité enzymatique et Y149H, p.(Tyr383His) pour *PANK2*, dont l'effet sur l'activité enzymatique n'est pas connu. Par des tests en gouttes, un retard de croissance a été mis en évidence sur milieux respiratoires pour les variations N170I et Y149H et une létalité pour G311R. Nos résultats, confortés par des expériences de sauvetage phénotypique, valident notre modèle comme test fonctionnel biochimique pour l'analyse des variants de *PANK2* et montrent une efficacité supérieure de la stratégie CRISPR-Cas9 par rapport à la mutagenèse classique pour le remplacement de gènes chez la levure. Un phénotype respiratoire plus ou moins marqué a été mis en évidence. Nous testons d'autres variants pour établir une comparaison avec les prédictions *in silico* de pathogénicité. Ces modèles seront utilisés pour le criblage rapide de molécules dans la perspective d'un repositionnement thérapeutique.

Pièce jointe : Abstract PANK2 Assises Génétique 2020.docx

EF56 : Identification par NGS de causes syndromiques non suspectées : exemple du diagnostic des diabètes monogéniques

Auteurs :

Cécile Saint-Martin (1), Delphine Bouvet (1), Florence Bellanger (1), Séverine Clauin (1), Céline Lemaître (1), Gwendoline Leroy (1), Philippe Pellet (1), Christine Bellanné-Chantelot (1)

1. Département de Génétique, AP-HP Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Sorbonne Université, Paris, France

Mots clefs : Séquençage NGS, Diabètes monogéniques, MIDD, HNF1B, WFS1

Résumé :

Contexte : Les diabètes monogéniques (DMg) représentent 2-3% des diabètes. Leur reconnaissance et l'identification du gène impliqué ont des conséquences pratiques pour les patients. C'est un exemple de médecine de précision du fait de nombreuses spécificités en termes de pronostic et de prise en charge thérapeutique selon le gène mis en cause. Une trentaine de gènes ont été associés à ces diabètes dont 3 gènes majeurs (*GCK*, *HNF1A* et *HNF4A*) qui rendent compte de la majorité des cas.

Le séquençage NGS offre la possibilité d'inclure dans le panel des gènes considérés comme des causes très rares ou des gènes de causes syndromiques incluant un diabète.

Objectif : Evaluer l'imputabilité de gènes responsables de causes syndromiques rares dans une large population de patients ayant une histoire clinique suggérant un DMg et en l'absence de toute atteinte extra-pancréatique.

Méthodes : 784 cas index ont été inclus. Un DMg était évoqué sur l'absence d'autoanticorps associés au diabète, un âge ≤ 40 ans et l'absence d'obésité ($IMC < 30 \text{ kg/m}^2$) au diagnostic, et des antécédents de diabète dans ≥ 2 générations. Ont été exclus de l'analyse tous les cas index dont l'histoire clinique évoquait d'emblée une cause syndromique. Les régions codantes de 19 gènes nucléaires et la mutation m.3243A>G de l'ADN mitochondrial ont été enrichies par capture (Agilent QXT) et séquencées sur MiSeq (Illumina). L'interprétation des variants a été établie selon les recommandations ACMG et du groupe MDEP (monogenic diabetes expert panel, ClinGen). Seuls les variants pathogènes (classes 4 et 5) ont été retenus dans l'analyse des données.

Résultats : Des variants pathogènes de 14 gènes ont été identifiés chez 168 patients (21,4%). Des variants de gènes considérés comme rarement impliqués dans le DMg représentent 35,7% des diagnostics et parmi ceux-ci, 21,4% concernent des gènes responsables de causes syndromiques. Ainsi, la mutation mitochondriale m.3243A>G (10% des cas), des variants du gène *HNF1B* (6.5%) et du gène *WFS1* (3.6%) associés respectivement au diabète mitochondrial avec surdité/syndrome MELAS, au syndrome HNF1B et au syndrome de Wolfram représentent les 4^{ème}, 5^{ème} et 7^{ème} causes les plus fréquentes de DMg dans la population étudiée. Les caractéristiques phénotypiques du diabète (âge de survenue et niveau d'hyperglycémie) ne différencient pas les causes syndromiques des causes les plus fréquentes. La découverte fortuite dans des DMg sans atteintes extra-pancréatiques de gènes considérés comme responsables de formes syndromiques suggèrent une expressivité phénotypique beaucoup plus large qu'actuellement considérée avec l'identification par l'approche NGS de formes modérées de présentation atypique.

Conclusions : Le diagnostic des DMg par NGS montre que 36% des diagnostics sont dues à des causes génétiques rares. Parmi celles-ci, trois gènes considérés comme responsables de formes syndromiques représentent 20% des diagnostics.

EF57 : Test présymptomatique dans la sclérose latérale amyotrophique/démence frontotemporale (SLA/DFT). Différences et similitudes avec la maladie de Huntington (MH).

Auteurs :

Maria del Mar Amador (1, 2), Marcela Gargiulo (2, 3), Christilla Boucher (2), Ariane Herson (2), Stéphanie Staraci (2), François Salachas (4), Fabienne Clot (5), Cécile Cazeneuve (5), Isabelle Le Ber (6, 7), Alexandra Durr (2, 8)

1. Département de Neurologie, Centre SLA d'Ile de France, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Département de Neurogénétique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Laboratory of Clinical Psychology, Psychopathology and Psychoanalysis PCPP, EA 4056, University Paris Descartes, Sorbonne Paris City, Psychology Institute, Boulogne-Billancourt, France
4. Département de Neurologie, Centre SLA d'Ile de France, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Département de Génétique, UF de Neurogénétique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Centre de référence des démences rares ou précoces, IM2A, Département de Neurologie, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, Inserm U1127, CNRS UMR 7225, Institut du Cerveau et la Moelle épinière (ICM), Paris, France
8. (5) Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, Inserm U1127, CNRS UMR 7225, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, Grèce

Mots clefs : test présymptomatique, sclérose latérale amyotrophique, démence fronto-temporale, maladie de Huntington

Résumé :

Le test présymptomatique (TP) existe depuis 25 ans pour la MH et d'autres maladies neurogénétiques à révélation tardive. Depuis 2008 il est proposé dans les formes familiales de SLA/DFT. Le but de cette étude est d'analyser les 100 premières demandes de TP SLA/DFT (phénotype sévère et rapide) et les comparer à celles de TP dans la MH (phénotype sévère mais lent).

Un gène fréquemment impliqué dans les formes familiales de SLA/DFT est l'expansion GGGGCC dans le gène *C9orf72*, qui est responsable des deux phénotypes, SLA et DFT, dans une même famille. L'équipe du conseil génétique est confrontée à l'incertitude quant au(x) phénotype(s) à venir chez les personnes à risque. Il est donc important d'évaluer les motivations et la demande d'un test présymptomatique dans ces maladies génétiquement hétérogènes, en fonction du phénotype familial.

De 2008 à 2019, 108 personnes demandent un TP pour SLA/DFT : 11 étaient à risque de SLA (*SOD1* n=8, *FUS* n=3), 20 étaient à risque de DFT (*PGRN* n=11, *MAPT* n=9) et 77 étaient à risque pour les deux maladies (*C9ORF72* n=67, *UBQLN2* n=5, *VCP* n=3, *TBK1* n=2). Pendant la même période, nous avons reçu 840 demandes de test pour la MH. Presque la moitié des demandes de TP SLA/DFT ont eu lieu entre 2018 et 2019.

Les demandeurs pour la MH sont significativement plus jeunes en moyenne 35,9+/-12,6 ans (18-90) pour la MH vs 42+/-15 ans (18- 78) pour la SLA/DFT, $p < 0,01$. Le risque à priori des sujets faisant la demande (25% ou 50%), le sexe du parent transmetteur et la proportion de femmes, ainsi que la nature des motivations pour faire le test sont similaires. Par contre, la conscience du à risque d'être porteur est plus récente (< 1 an) pour la SLA/DFT (44%) comparée à la MH (19,5%), $p < 0,01$.

Au sein de la population des personnes à risque SLA/DFT, l'âge au moment de la demande d'un TP est significativement plus élevé dans le groupe mixte (phénotype du cas index SLA+DFT : 50,71+/-17,02, $p=0,032$). L'âge des demandeurs d'un TP est inversement corrélée à la charge familiale globale (définie par le nombre d'apparentés atteints dans la famille), $p=0,001$. D'une façon étonnante, il n'y a pas de différence significative du taux d'abandon entre les sujets appartenant aux familles SLA et ceux appartenant aux familles 'DFT+ SLA/DFT', $p=0,826$.

En conclusion, les demandes de test présymptomatique pour SLA/DFT sont en hausse depuis 2008, mais restent rares, comme pour la MH. La charge familiale et la conscience du risque ont une influence sur l'âge au moment de la demande de TP. On observe des demandeurs plus âgés pour SLA/DFT que pour la MH. La notion d'hérédité dans la SLA/DFT est encore méconnue.

Un des faits marquants est la sous-intégration de la perception du risque du « deuxième phénotype » (DFT versus SLA) pour des gènes tels que *C9orf72*. Malgré la complexité du conseil génétique dans ces maladies, le conseil génétique répond à une demande croissante des sujets à risque.

Pièce jointe : AmadorAbstractAssisesGenetique2019.docx

EF58 : Circuit de dépistage et de prise en charge des femmes avec un cancer du sein et un syndrome de Li-Fraumeni à Rennes

Auteurs :

Louise Crivelli (1), Vanessa Colombert (1), Philippe Denizeau (2), Véronique Dieras (3), Brivael Gery (2), Isabelle Lecouillard (4), Samuel Le Sourd (3)

1. Oncogénétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
2. Oncogénétique, CHU Rennes, Rennes, France
3. Oncologie médicale, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
4. Radiothérapie, Centre Eugène Marquis, Rennes, France

Mots clefs : syndrome de Li-Fraumeni, cancer du sein, intérêt théranostique

Résumé :

L'incidence du syndrome de Li-Fraumeni (LFS) ou "*TP53*- related inherited cancers" chez les femmes présentant un cancer du sein précoce apparait comme non négligeable aujourd'hui, et ce même en l'absence d'antécédents familiaux évocateurs. Le dépistage rapide d'une mutation constitutionnelle du gène *TP53* chez celles-ci semble d'autant plus important qu'il peut permettre non seulement un suivi personnalisé, mais surtout une adaptation de la prise en charge oncologique afin de diminuer le risque de tumeurs secondaires.

Une réflexion multidisciplinaire locale à Rennes a abouti à un circuit de dépistage et de prise en charge adaptée des patientes concernées, tenant compte de l'histologie/du pronostic du cancer du sein présenté, des recommandations actuelles de traitement, et des indications de recherche de prédisposition héréditaire au cancer du sein. Il s'attache à tenir compte des contraintes temporelles, humaines, techniques et économiques locales.

Ce circuit doit permettre une prise en charge améliorée mais aussi plus homogène des patientes dans cette situation qui reste rare. Il sera évidemment amené à évoluer en fonction des possibilités futures de traitements alternatifs moins génotoxiques.

EF59 : Etude de COségrégation familiale des VARiants nucléotidiques (COVAR) dans les gènes BRCA1/2 et PALB2 pour valider leur utilisation en conseil génétique.

Auteurs :

Sandrine CAPUTO (1, 2), Mélanie Leone (3), Laurent Castera (4), Audrey Remenieras (5), Françoise Revillion (6), Marine GUILLAUD-BATAILLE (7), Etienne Rouleau (1), Caroline LECERF (8), Lisa Golmard (1), Violaine Bourdon (5), Nadia Boutry-Kryza (3), Christine Lasset (9), Olivier Caron (10), Dominique Stoppa-Lyonnet (1), Genetic Group UNICANCER (11)

1. Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. , Université Paris Sciences-Lettres, Paris, France
3. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Laboratoire de biologie et de génétique du cancer et INSERM 1079 Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CLCC François Baclesse, Caen, France
5. , Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
6. , Centre Oscar Lambret, Lille, France
7. , Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
8. Génétique, Institut Curie, Paris, France
9. Département de santé publique , Centre Léon Bérard, Lyon, France
10. Consultations d'oncogénétique et du comité de Génétique , Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
11. , Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : BRCA1, BRCA2, PALB2, Variant de signification inconnue, etude de co-segregation

Résumé :

Les altérations monoalléliques des gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont associées à un risque élevé de cancers du sein et de l'ovaire. Plus récemment, les altérations du gène *PALB2* ont également été retenues comme facteurs de risque de cancer du sein ; le risque ovarien bien que probable n'est pas avéré. La mise en évidence d'un variant pathogène à partir d'un cas index (personne la plus susceptible d'être porteuse d'un facteur génétique de risque et par là ayant souvent été atteinte d'un cancer du sein ou de l'ovaire 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 qu'ils sont porteurs ou non du variant pathogène. 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 aussi mis en évidence chez plus de 10% des patients testés. Pour ces familles, des tests génétiques ne peuvent pas être proposés et la prise en charge est orientée par la seule histoire familiale.

La base de données nationale des variants *BRCA1*, *BRCA2* et *PALB2*, labellisée par l'INCa, permet le recueil anonyme de l'ensemble des variants détectés lors des tests cas index des 17 laboratoires français réalisant ces tests. En juillet 2019, notre base regroupait ~12000 familles pour *BRCA1* et ~17000 familles pour *BRCA2* avec 1513 VSI différents pour *BRCA1* dans 2786 familles et 2461 VSI différents pour *BRCA2* dans 5208 familles. Les éléments de classification sont l'histoire familiale, les caractéristiques tumorales et la co-occurrence rapportée ou non du VSI avec un variant pathogène du même gène. Néanmoins, un élément 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 ou non du VSI et apparentés indemnes de cancer porteurs ou non du VSI). Les estimations de probabilité que le VSI soit pathogène sont calculées à partir des données obtenues en utilisant un modèle statistique selon D. Goldgar.

L'étude COVAR (COsegregation VARIant) a pour objectif la prise en compte des données de co-ségrégation. Elle repose sur le réseau de consultation du groupe génétique et cancer et sur la nouvelle base nationale FrOG (voir communication). Les VSI *BRCA1*, *BRCA2* et *PALB2* sont sélectionnés selon plusieurs critères (nombre de familles, impact sur l'ARN, impact prédit au niveau protéique, test fonctionnel, ...) pour mener les études de co-ségrégation. En octobre 2019, , nous avons inclus plus de 1700 individus appartenant à près de 600 familles à travers la France. A l'aide des informations de co-ségrégation, nous avons pu classer 59 variants. Ainsi, 1100 familles présentant ces VSI ont pu être prises en charge à la suite de ce classement.

EF60 : L'apport d'une consultation d'oncogénétique lors de la proposition d'une analyse pangénomique à visée théranostique

Auteurs :

Geoffrey BERTOLONE (1, 2), Elodie COSSET (2), Amandine BAURAND (1, 2), Caroline SAWKA (1, 2), Marion ROBERT (1, 2), Allan LANCON (2), Manon REDA (3), Corentin RICHARD (4), Christine BINQUET (5), Romain BOLDOT (6), Valentin DERANGERE (7), Vincent GOUSSOT (8), Juliette ALBUISSON (7), Laure FAVIER (3), François GHIRINGHELLI (3), Sophie NAMBOT (1, 2), Laurence FAIVRE (1, 2)

1. Centre de génétique, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
2. Oncogénétique, CLCC Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
3. Oncologie médicale, CLCC Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
4. Plateforme de transfert biologie cancérologique, CLCC Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
5. Centre d'investigation clinique- Epidémiologie clinique INSERM 1432, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Unité de biologie moléculaire, CLCC Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
7. Biologie et pathologie des tumeurs, CLCC Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
8. Unité de biologie clinique, CLCC Centre Georges François Leclerc, Dijon, France

Mots clefs : consultations, oncogénétique, exome, somatique, constitutionnel, incidentale, théranostique, prédispositions

Résumé :

Introduction :

La prise en charge médicale des patients avec une tumeur maligne solide a évolué. D'une prise en charge globale, nous avons vu émerger des thérapies ciblées nécessitant de connaître les caractéristiques génétiques des tumeurs. Dans ce contexte, l'étude EXOMA a proposé, entre 2016 et 2019, une analyse de l'exome somatique et constitutionnel chez des patients atteints d'une tumeur maligne solide en échec thérapeutique, dans le but d'évaluer la faisabilité et l'utilité clinique. Compte tenu la possibilité d'identifier des prédispositions génétiques au cancer avec des implications de prise en charge et de conseil génétique, une consultation par un oncogénéticien ou un conseiller en génétique a été mise en place. L'intérêt de cette consultation doit être évalué.

Matériel et méthodes :

Une consultation d'oncogénétique a été réalisée dans les 15 jours suivant l'inclusion dans l'étude EXOMA. Les consultations duraient environ 20 minutes, avec un recueil préalable des antécédents familiaux. Les analyses tumorales et constitutionnelles étaient limitées à une analyse de 317 gènes impliqués dans l'oncogénèse. Rétrospectivement, une analyse a été réalisée afin d'identifier le nombre de patients avec une prédisposition génétique identifiée, et leur corrélation avec les données cliniques et généalogiques.

Résultats :

716 patients ont été vus en consultation de génétique avant l'exome constitutionnel et somatique à visée théranostique. Chez 35/716 patients, un variant pathogène constitutionnel a été identifié dans 13 gènes actionnables (5 *BRCA1*, 13 *BRCA2*, 2 *PALB2*, 1 *SDHB*, 3 *CDKN2A*, 1 *NF1*, 4 *TP53*, 1 *MSH2*, 1 *RAD51C*, 1 *MSH6*, 1 *MLH1*, 1 *APC*, 1 *ATM* hétérozygote composite). 17/35 étaient déjà identifiées dans le circuit de soin. Parmi 17 cas identifiés par le séquençage de l'exome, 10/17 ne répondaient pas aux critères de recherche de prédisposition génétique, et dans 2/10 cas, la variation peut être considérée comme incidentale car sans lien avec le cancer présenté par le patient. Dans 2/17 cas, une consultation de génétique avait été réalisée antérieurement, mais les analyses limitées aux gènes *BRCA*. Dans 5/17 cas, les critères de recherche de prédisposition génétique étaient présents mais n'avaient pas été identifiés par l'oncologue. Dans un cas, un variant pathogène *BRCA2* non identifié en exome mais dépisté par panel devant des critères d'analyse retenus en consultations. Chez 18 patients, un variant a été identifié dans un gène non actionnable.

Discussion :

Cette étude confirme que les analyses théranostiques peuvent dépister des prédispositions génétiques constitutionnelles en lien ou non avec la présentation clinique, rendant importante l'information du patient au préalable. Cependant, le pourcentage faible (2.5%) doit faire balancer avec la mise en place de circuits urgents. Le développement d'outils d'information papier ou numérique, ou de formation des oncologues est à explorer. L'étude des préférences des patients serait également à envisager.

Pièce jointe : Abstract L'apport d'une consultation d'oncogénétique lors de la proposition d'une analyse pangénomique à visée théranostique.docx

EF61 : Mise en évidence d'un variant délétère du gène BRCA1 en mosaïque

Auteurs :

Capucine DELNATTE (1, 2), Marion BELLEGUIC (3), Virginie GUIBERT (1), Delphine LEROUX (1), Nadège MARTI (1), Fabrice AIRAUD (1), Stephane BEZIEAU (1), Céline GARREC (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Oncogénétique, ICO site René Gauducheau, Saint Herblain, France
3. Oncogénétique, ICO site René Gauducheau, Saint-Herblain, France

Mots clefs : BRCA1 Mosaïque

Résumé :

Une étude des gènes *BRCA1*, *BRCA2* et *PALB2* a été réalisée chez une jeune femme prise en charge pour un cancer du sein gauche correspondant à un carcinome infiltrant de type non spécifique, SBRIII, triple négatif, diagnostiqué à l'âge de 35 ans. Cette jeune femme ne rapportait pas d'histoire familiale évocatrice d'une prédisposition héréditaire au cancer du sein. L'étude a donc été initiée du fait de l'âge au diagnostic et du type histologique de cancer du sein. L'étude réalisée à partir de l'ADN extrait d'un prélèvement sanguin a identifié un variant délétère du gène *BRCA1* nomenclaturé c.4846dupG (p.(Ala1616Glyfs*6)) avec une fraction allélique de 15% (kit HCS_v1_1 ; Sophia Genetics®). Le résultat de la recherche ciblée (Séquençage Sanger) de ce variant sur l'ADN extrait d'un prélèvement salivaire recueilli sur papier FTA était compatible avec le résultat précédent. Nous avons recherché ce même variant sur l'ADN extrait de tissu mammaire sain et l'avons retrouvé à une fraction allélique de 16% ainsi que sur l'ADN extrait de tissu mammaire tumoral, présentant un pourcentage de cellules tumorales estimé à 80%, à une fraction allélique de 41 % (BRCA Master DX Multiplicom®). L'ensemble de ces résultats nous permet de conclure à la présence, chez cette jeune femme, d'un variant délétère du gène *BRCA1* à l'état de mosaïque. A notre connaissance, très peu de cas de mosaïcisme ont été rapportés pour ce gène.

EF62 : L'interprétation des variants de TP53 identifiés dans des panels de gènes : un challenge pour le biologiste et un véritable enjeu pour le patient

Auteurs :

Edwige Kasper (1), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Gwendoline Lienard (1), Jacqueline Bou (1), Stéphanie Vasseur (1), Emilie Bouvignies (1), Sandrine Manase (1), Laurent Castéra (2), Nadia Boutry-Kryza (3), Lisa Golmard (4), Marine Guillaud-Bataille (5), Claude Houdayer (1), Thierry Frebourg (1), 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, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, CLRCC François Baclesse, Caen, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, France, Inserm U1245, Université de Rouen, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, France, Caen, France
3. Laboratoire de génétique constitutionnelle des cancers fréquents Hospices civils de Lyon / Centre Léon Bérard, CHU Lyon, Lyon, France
4. Service de Génétique - Unité de Génétique constitutionnelle, CLCC Institut Curie, PSL Research University, Paris, Paris, France
5. Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Département de Biopathologie, 94805 Villejuif, France, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France, Villejuif, France

Mots clefs : TP53, panel de gènes, interprétation

Résumé :

Une des évolutions les plus significatives dans la pratique de l'oncogénétique moléculaire a été le développement de panels élargis de gènes impliqués dans le déterminisme génétique du cancer. Ainsi depuis 2017, le panel des gènes analysés dans le contexte d'une suspicion de prédisposition héréditaire aux cancers du sein et de l'ovaire inclut à titre systématique le gène *TP53*, de même que d'autres panels constitutionnels ou somatiques. Lorsqu'un variant de *TP53* est identifié par un laboratoire français, un prélèvement nous est en règle générale adressé pour confirmation et interprétation. Ainsi, nous avons reçu des prélèvements pour plus de 150 patients pour expertise de variants de *TP53*. Trois grands messages se dégagent de l'analyse de cette série : (i) La plupart des variants de *TP53* détectés à faible fraction allélique dans le sang ne correspondent pas à des mosaïques. Parmi les 24 variants détectés en NGS dans une minorité de lectures à partir d'un prélèvement sanguin, nous n'avons pas retrouvé le variant dans la tumeur ou le tissu sain adjacent dans les cas pour lesquels nous avons pu récupérer un échantillon tumoral, excluant ainsi l'hypothèse d'une mosaïque à l'origine de la tumeur. Ces variants pourraient correspondre à de l'ADN tumoral circulant ou à une hématopoïèse clonale, d'où la nécessité de toujours considérer la présentation clinique du patient et de vérifier la présence du variant dans le tissu d'origine de la tumeur. (ii) Un tiers seulement des patients pour lesquels un variant a été expertisé répond aux critères de Chompret. Les variants détectés sont classés en combinant fréquence allélique (gnomAD), prédictions bioinformatiques de l'impact sur la protéine et l'épissage et analyses fonctionnelles dans la levure et les cellules humaines. Chez ces patients, la majorité des variants détectés (62 %) correspond à des classe 5 (pathogène) ou 4 (probablement pathogène) et les variants de classe 3 font actuellement l'objet d'analyses complémentaires (ARN et activité transcriptionnelle de p53) dans notre laboratoire. (iii) Enfin, chez les patients ne répondant pas aux critères de Chompret, de façon surprenante, plus de 40 % des variants identifiés sont de classe 4 ou 5. L'identification de tels variants chez des patients atteints souvent tardivement (39 à 79 ans) pose la question de leur pénétrance et donc de la présence de facteurs modificateurs, mais aussi de leur implication dans le développement tumoral. Compte-tenu de l'impact majeur de l'identification d'un variant de classe 4 ou 5 de *TP53* pour la prise en charge thérapeutique immédiate d'un patient atteint d'un cancer (chirurgie élargie plutôt que radio/chimiothérapie complémentaire), son suivi ultérieur et celui de sa famille, basé en particulier sur l'IRM annuelle dès la première année de vie, l'interprétation des variants de *TP53*, associée à l'analyse de la présentation clinique, est essentielle pour assurer une prise en charge appropriée et justifiée.

EF63 : LynchRisk: Un modèle mendélien intégrant histoire familiale de cancer et données moléculaires pour le calcul du risque de syndrome de Lynch.

Auteurs :

Alexandra Lefebvre (1), Patrick Benusiglio (2, 3), Florence Coulet (4, 3), Alex Duval (3), Grégory Nuel (5)

1. Laboratoire de Probabilités, Statistique et Modélisation (LPSM, CNRS 8001), Sorbonne Université, Paris, France
2. UF d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, Département de Génétique. , Hôpital Universitaire Pitié-Salpêtrière, APHP Sorbonne Université. , Paris, France
3. Centre de Recherche hôpital Saint-Antoine (CRSA, INSERM UMR 938), Equipe "Instabilité des Microsatellites et Cancer"., Hôpital Saint-Antoine, APHP., Paris, France
4. UF d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, Département de Génétique. , Hôpital Universitaire Pitié-Salpêtrière, APHP Sorbonne Université, Paris, France
5. Laboratoire de Probabilités, Statistique et Modélisation (LPSM, CNRS 8001), Sorbonne Université, Paris, France., Paris, France

Mots clefs : modèle mathématique mendélien, calcul de risques, prédisposition génétique, Lynch syndrome, cancer, histoire familiale

Résumé :

Un phénotype d'instabilité des microsatellites (MSI) est observé dans 15% des tumeurs colorectales (CRC), endométriales (EC) et moins souvent dans d'autres localisations. Il est dû à des variants pathogènes dans les gènes du système de réparation des mésappariements de l'ADN (genes MMR) qui peuvent être héritées (Syndrome de Lynch - LS). La détection de ce syndrome est importante pour la prise en charge des patients. Afin d'éviter l'engorgement des services, il est indispensable d'évaluer le risque de LS de façon séquentielle et intégrée en se basant, dans un premier temps, sur l'histoire familiale du patient puis en intégrant, au fur et à mesure de leurs disponibilités, les résultats des différents tests biologiques/génétiques (e.g. instabilité MSI, IHC MMR, mutation BRAF, etc.). Un outil mathématique de calcul du risque de LS objectif et requérable pour accompagner cliniciens et/ou gestionnaires de bases de données de laboratoire, locales, nationales et internationale s'avère indispensable.

Les modèles de calcul de risque de LS sont divisés en deux catégories. Les modèles basé sur des régressions logistiques tels que MMRpredict (Barnetson et al., 2006) ou PREMM5 (Kastrinos et al., 2017) et les modèles mendéliens tels que MMRPro (Chen et al., 2006). Seuls les modèles mendéliens sont capables de prendre en compte la totalité de l'histoire familiale de cancer, première source d'information en conseil génétique, à savoir, l'ensemble des individus et liens familiaux et l'ensemble des phénotypes (individus atteints + âge au diagnostic et individus sains + âge à la date de consultation ou aux dernières nouvelles). A notre connaissance, le seul modèle mendélien existant dans le calcul du risque du syndrome de Lynch est MMRPro et comporte des limitations telles que la date de dernière mise à jour de ses paramètres (2006) et plusieurs limitations techniques au regard de l'analyse de survie (étude du temps qui s'écoule avant le diagnostic) et de l'analyse de liaison génétique.

Nous proposons un nouveau modèle mendélien nommé LynchRisk capable de prendre en compte la totalité de l'histoire familiale des individus grâce à la théorie des modèles graphiques probabilistes d'une part et à des modèles de survie multi-état rigoureux et offrant la possibilité d'y intégrer les données de biologie moléculaires comme covariables. En ce sens, LynchRisk se veut un outil mathématique pour accompagner le clinicien dans son évaluation du risque à chaque étape du parcours du patient. Les paramètres du modèle sont tirés de la littérature récente : Moller et al. (2017), Assisi et al. (2016) référencés par le groupe InSiGHT (www.insight-group.org), Defossez et al. (2019) référencé par l'INCa (www.e-cancer.fr), Sanne et al. (2015). Nous proposons une évaluation des résultats de notre modèle et une comparaison avec les résultats obtenus par MMRPro, MMRPredict et PREMM5 sur des cas cliniques choisis ainsi que des données du groupe hospitalier APHP.Sorbonne Université.

Pièce jointe : Abstract_LEFEBVRE.pdf

EF64 : L'identification d'une nouvelle famille de cancer gastrique héréditaire diffus lié au gène CTNNA1 questionne l'intérêt d'ajouter ce gène aux panels diagnostiques

Auteurs :

Hélène DELHOMELLE (1), Adèle DHUYSER (2), Maud BLANLUET (3, 4), Jessica LE GALL (3, 4), Mathias SCHWARTZ (3, 4), Khadija ABIDALLAH (2), Magali SVRCEK (5, 6), Dominique STOPPA LYONNET (2, 7), Lisa GOLMARD (2, 4), Chrystelle COLAS (2, 8)

1. Département de génétique, Institut Curie, St Cloud, France
2. Département de génétique, Institut Curie, PARIS, France
3. Département de génétique, Institut Curie, Paris, France
4. PSL Reserch University, PSL Reserch University, Paris, France
5. Service d'Anatomie et Cytologie pathologiques, Hôpital Saint Antoine AP-HP, Paris, France
6. Sorbonne Université, Faculté de Médecine, PARIS, France
7. Sorbonne, Université Paris Descartes, Paris, France
8. PSL Reserch University, PSL Reserch University, PARIS, France

Mots clefs : cancer gastrique héréditaire diffus, CTNNA1

Résumé :

La prédisposition héréditaire au cancer gastrique héréditaire de type diffus est principalement due aux variants pathogènes constitutionnels du gène *CDH1* codant pour l'E-Cadhérine, qui n'expliquent cependant que 14 à 20 % des cas. Depuis 2013, des variants pathogènes constitutionnels du gène *CTNNA1*, codant pour l' α -caténine, ont été rapportés dans 7 familles atteintes de Cancer Gastrique Diffus (CGD) sans variant pathogène *CDH1* identifié. Avec le complexe β -caténine, l' α -caténine participe à l'adhésion du domaine cytoplasmique de l'E-cadhérine au cytosquelette. Une perte d'expression de l' α -caténine a été observée par immunohistochimie (IHC) sur les tumeurs gastriques de plusieurs patients porteurs d'un variant pathogène de *CTNNA1* par différentes équipes. Ce type de perte n'a jamais été observé sur des CGD de patients témoins sans variant pathogène *CTNNA1* identifié. A ce jour l'absence de données suffisantes concernant le niveau de risque de cancer dans ces familles a conduit à ne pas retenir ce gène dans le panel digestif national recommandé récemment par le Groupe Génétique et Cancer. Nous rapportons ici une nouvelle famille de cancer gastrique diffus lié à un variant pathogène du gène *CTNNA1*.

Le cas index est atteint d'un CGD à 49 ans. Son père est décédé d'un CGD découvert à 55 ans. Son grand-père paternel est décédé vers 70 ans d'un cancer digestif. Sa grand-mère paternelle a présenté un cancer du sein à 77 ans. Une analyse constitutionnelle des gènes *CDH1* et *CTNNA1* a été effectuée dans notre laboratoire : aucune altération n'a été mise en évidence sur *CDH1*, mais un variant tronquant a été identifié sur *CTNNA1* : c.543del, p.(Lys181Asnfs*7). Cette altération est située dans l'exon 5 de *CTNNA1* qui correspond au domaine vinculine/ α -caténine, très conservé chez les différentes espèces. Les IHC réalisées sur la tumeur du patient et celle de son père, montrent une perte d'expression de l' α -caténine sur les deux tumeurs alors que le marquage est conservé sur le tissu sain adjacent. Par ailleurs la tumeur du cas index présente un phénotype proficient-MMR et aucun variant pathogène n'a été mis en évidence sur l'ensemble des gènes du panel digestif. Une recherche ciblée du variant pathogène *CTNNA1* est en cours sur la tumeur gastrique du père et sur la tumeur mammaire de la grand-mère paternelle. La recherche d'un second évènement tumoral de type LOH est également prévue. La prise en charge à proposer aux apparentés de cette famille sera discutée en RCP.

L'identification de cette nouvelle famille avec variant pathogène *CTNNA1* questionne de nouveau l'intérêt d'intégrer le gène *CTNNA1* dans les panels diagnostiques du moins dans les contextes de formes familiales de cancer de l'estomac de type diffus, au même titre que *CDH1*. Il s'agit d'une prédisposition rare mais la description de nouvelles familles pourrait permettre une meilleure estimation des risques et l'établissement de recommandations de prise en charge pour les apparentés.

EF65 : Traitement par Trametinib chez des patients avec syndrome de Noonan par mutation du gène RIT1: mise à jour des données de 2 patients traités depuis 2 ans et présentation d'un 3ème cas.

Auteurs :

Gregor Andelfinger (1, 2), Marie-Ange Delrue (3, 2), Laurence Vaujois (4, 5), Christopher Marquis (6, 2), Marie-Josée Raboisson (1, 2), Yves Théoret (6, 2), Stephan Waldmüller (7, 8), Gesa Wiegand (9, 8), Michael Hofbeck (10, 8)

1. Cardiologie pédiatrique, CHU Ste-Justine, Montréal, Canada
2. , Université de Montréal, Montréal, Canada
3. Génétique médicale, CHU Ste-Justine, Montréal, Canada
4. Cardiologie pédiatrique, CHU de Québec, Québec, Canada
5. , Université de Laval, Québec, Canada
6. Pharmacie, CHU Ste-Justine, Montréal, Canada
7. Institut de génétique médicale et de génomique appliquée, CHU de Tübingen, Tübingen, Allemagne
8. , Université de Tübingen, Tübingen, Allemagne
9. cardiologie pédiatrique, pneumologie, et soins intensifs pédiatrique, CHU de Tübingen, Tübingen, Allemagne
10. cardiologie pédiatrique, pneumologie, et soins intensifs pédiatriques, CHU de Tübingen, Tübingen, Allemagne

Mots clefs : Noonan, cardiomyopathie hypertrophique, MEK-inhibiteur

Résumé :

Les RASopathies forment un groupe de pathologies liées à des mutations germinales de gènes de la voie de signalisation RAS/MAPK. Parmi ces mutations, celles du gène *RIT1* sont associées au syndrome de Noonan, et comportent un risque particulièrement élevé (56%) de cardiomyopathie hypertrophique (CMH) pouvant être fatale dans les premiers mois de vie.

Nous rapportons les données évolutives de 2 patients avec mutation de *RIT1* (S35T, F82L) traités favorablement par inhibiteur de MEK (Trametinib) depuis février 2017 (actualisation des données publiées dans : Andelfinger G *et al*, Hypertrophic cardiomyopathy in Noonan Syndrome treated by MEK-Inhibition. J Am Coll Cardiol.2019;73(17):2237-2239), ainsi que celles d'un 3^{ème} patient (mutation A94T) traité depuis 5 mois.

Chez les 2 premiers patients, le traitement a permis une nette amélioration de la fonction cardiaque (l'un des patients avaient déjà présenté un arrêt cardio-respiratoire, le 2^{ème} était en échec thérapeutique avec une CMH rapidement progressive sous traitement médical optimal) avec un retour à une fonction cardiaque normale et une masse cardiaque dans la limite supérieure de la normale. Les patients n'ont pas présenté d'autre problématique médicale spécifique depuis. Le suivi de la masse ventriculaire gauche par IRM a montré un effet bénéfique persistant : les mesures étaient évaluées, respectivement à l'initiation du traitement puis à 4 et 24 mois, à 75 g/m², 59 g/m², 52 g/m² pour l'un et 119 g/m², 78 g/m², 68.6 g/m² pour l'autre. Une tentative de sevrage a échoué pour les deux patients avec ré-ascension des masses et des gradients au-delà de paramètres prédéfinis.

Le 3^{ème} patient (encore non rapporté), s'est présenté avec une hypertrophie myocardique légère à la naissance, mais d'évolution rapidement sévère (masse ventriculaire indexée passant de 91 mg/m^{2.7} à 137 mg/m^{2.7} à l'âge de 3½ mois) et une obstruction bilatérale des voies de chasse. Malgré un traitement optimal par propranolol, l'hypertrophie a continué de progresser (pic à 177g/m^{2.7} à 5 mois); le nourrisson a également présenté des chylothorax bilatéraux nécessitant un traitement par octréotide et 2 drainages. Un traitement par trametinib a été initié à 4 ½ mois (dose initiale de 0.025 mg/kg/j). Les épanchements pleuraux ont disparu après 11 jours de traitement, et la masse ventriculaire gauche est passée à 116g/ m^{2.7} après 6 semaines.

Le traitement par inhibiteur de MEK chez ce 3^{ème} patient a donc également eu un effet bénéfique sur la CMH précoce sévère. Les premiers cas traités ont montré que l'effet positif était maintenu pendant un temps prolongé (> 2 ans). Ces patients n'ont par ailleurs pas présenté d'effet secondaire significatif. Les questions encore en suspens restent principalement : la durée pendant laquelle le traitement doit être maintenu, les effets secondaires possibles à long terme si un usage prolongé est nécessaire, et les effets potentiels du traitement sur d'autres traits phénotypiques (croissance notamment).

EF66 : Administration à faible dose, quotidienne ou intermittente d'infgratinib (BGJ398), inhibiteur sélectif du FGFR dans un modèle de souris : un traitement pour l'achondroplasie

Auteurs :

Benoit Demuyck (1), Nabil Kaci (2), Gary Li (3), Carl Dambkowski (3), Laurence Legeai-Mallet (4)

1. Institut Imagine, INSERM U1163, Université de Paris, paris, France
2. Institut Imagine, INSERM U1163, paris, France
3. QED therapeutics, BridgeBio, San Francisco, Etats-Unis
4. Institut Imagine, INSERM U1163, Paris, France

Mots clefs : achondroplasie, préclinique, traitement

Résumé :

Le FGFR3 (Fibroblast Growth Factor Receptor 3) joue un rôle crucial dans le contrôle de la croissance osseuse, les mutations gain de fonction FGFR3 sont responsables d'ostéochondroplasies parmi lesquelles on peut citer le nanisme le plus fréquent l'achondroplasie (ACH) et l'hypochondroplasie. Diverses stratégies thérapeutiques ont été envisagées pour cette famille de nanisme, le FGFR3 soluble, les anticorps anti FGFR3 et enfin le vosoritide, aujourd'hui en phase clinique, un analogue du peptide natriurétique de type C (CNP) qui inhibe la voie des MAP kinase.

Dans cette étude, considérant que FGFR3 active de nombreuses voies de signalisation en aval, nous avons évalué une nouvelle stratégie thérapeutique visant à cibler directement l'activation de FGFR3 et toutes les voies de signalisation en aval et non pas uniquement la voie des MAP kinase. L'infgratinib (BGJ398), un inhibiteur oral de tyrosine kinase (TKI), est un puissant inhibiteur sélectif de FGFR1-3 doté d'une activité bien caractérisée envers FGFR3. Nous avons émis l'hypothèse qu'une très faible dose d'infgratinib pourrait améliorer le défaut de croissance observé dans l'ACH. Pour répondre à cette question, nous avons traité un modèle de souris atteinte de nanisme (*Fgfr3*^{Y367C/+}) mimant l'ACH, avec des injections sous-cutanées d'infgratinib soit quotidienne (0,2 mg / kg / jour ou 0,5 mg / kg / jour), soit tous les trois jours (1 mg / kg / jour) pour une durée totale de traitement de 15 jours. Les résultats ont été comparés à des souris mutantes traitées avec du véhicule. Nous avons observé une amélioration significative de la taille des membres supérieurs (humérus + 7%, ulna + 11%) et inférieurs (fémur + 11%, tibia + 16%) pour une dose de 0,5 mg / kg, ainsi qu'une amélioration de la taille du foramen magnum. Le gain de croissance a été réduit avec une dose plus faible (0,2 mg / kg), confirmant ainsi une relation dose-réponse. Pour vérifier si un traitement quotidien était nécessaire, nous avons effectué des injections tous les trois jours d'infgratinib (1 mg / kg). Le gain de croissance par rapport aux souris traitées avec le véhicule était significatif pour tous les os longs (+ 7%) ainsi que la taille du foramen magnum. En plus du gain de croissance, nous avons observé une modification de la structure de la plaque de croissance, avec entre autres une meilleure différenciation cellulaire.

En conclusion, ces résultats démontrent qu'une faible dose ainsi qu'une dose intermittente d'infgratinib favorise la croissance dans ce modèle murin d'ACH. Aucune toxicité apparente d'infgratinib n'a été observée, suggérant ainsi que le traitement par un TKI, comme l'infgratinib, pourrait être une option intéressante et pertinente pour les enfants atteints d'achondroplasie.

EF67 : Mise au point d'un test de dépistage des tumeurs séreuses de haut grade chez des femmes à risques (mutées sur un gène de prédisposition : BRCA1, BRCA2, RAD51C ou RAD51D) : Analyse d'aneuploïdies dans l'ADN circulant plasmatique par capture NGS.

Auteurs :

Louis Lebreton (1), Natalie Jones (1), Delfine Lafon (1), Françoise Durrieu (1), Sabrina Croce (1), Pauline Allard (1), Didier Goidin (2), Adrien Jeanniard (2), Marteen Pirson (2), Flora Rebier (1), Laetitia Mayeur (1), Michel Longy (1), Nicolas Sevenet (1)

1. Oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France

2. Diagnostic Genomic Group Agilent Technologies France, Diagnostic Genomic Group Agilent Technologies France, Les Ulis, France

Mots clefs : Carcinome séreux de haut grade, dépistage, prédisposition héréditaire, ADN tumoral circulant, aneuploïdies

Résumé :

1. Introduction

Malgré leur faible incidence (7,5/ 100 000 en 2018 en France¹), les cancers de l'ovaire présentent un taux de mortalité élevé (3,8/100 000 en 2018 en France) et une survie à cinq ans inférieure à 50% ². Le diagnostic des cancers de l'ovaire étant effectué à un stade disséminé dans 60 % des cas, l'amélioration du dépistage précoce est un des enjeux pour améliorer la prise en charge.

Dans le cadre de la prédisposition héréditaire liée aux mutations des gènes *BRCA1*, *BRCA2*, *RAD51C*, *RAD51D*, les femmes peuvent développer des tumeurs séreuses de haut grade (HGSC) (pénétrances à 80 ans de 44% et 17% pour *BRCA1* et *BRCA2*³). Une annexectomie bilatérale prophylactique est proposée aux femmes porteuses d'une mutation délétère, afin de faire diminuer le risque cancéreux qui reste résiduel (4-5%)⁴.

Il a été montré récemment chez des patientes atteintes de HGSC que l'ADN tumoral plasmatique circulant est détectable non seulement en phase avancée mais également en phase non disséminée ⁵. Le profil génomique des HGSC se caractérise par de nombreuses aneuploïdies (gains, amplifications, pertes de matériel génétique) et peu de mutations ponctuelles délétères hormis sur le gène *TP53*, muté dans 98% des cas ⁶.

Matériel et méthodes

Le projet consiste à mettre au point une technique de dépistage mettant en évidence les aneuploïdies d'origine tumorales dans l'ADN plasmatique circulant (cpADN) des patientes suivies.

La méthode choisie est une technique de séquençage de nouvelle génération (NGS) utilisant une banque de capture « Oneseq » (société Agilent) qui permet de capturer d'une part des régions géniques ciblées dans les HGSC et d'autre part l'entièreté du génome à faible couverture afin de détecter les aneuploïdies.

Nous effectuons actuellement une étude préliminaire de faisabilité en analysant par NGS oneseq l'cpADN d'une série de 16 patientes atteintes d'un HGSC en phase active (diagnostic récent ou rechute) et une série de 16 témoins non malades.

Objectifs

Détecter des profils d'aneuploïdies dans le cpADN des patientes porteuses d'une HGSC, et des profils normaux pour les témoins sains. L'objectif est de valider la faisabilité de l'analyse des aneuploïdies dans l'ADN circulant plasmatique par NGS oneseq pour détecter les HGSC. Ceci permettra d'envisager l'essai de cette technique en condition de dépistage à travers une étude prospective.

Confirmer l'origine tumorale des aneuploïdies observées dans l'cpADN en analysant par NGS oneseq les échantillons d'ADN issus des tumeurs fixées et incluses en paraffine des 16 patientes atteintes.

Comparer les aneuploïdies observées par NGS oneseq avec une technique de SNP array (Oncoscan-CNV, effectué sur les 16 ADN tumoraux fixés et sur 4 échantillons d'cpADN).

1. Defossez, G. *et al.* 2019
2. Cowppli-Bony, A. *et al.* 2016.
3. Kuchenbaecker, K. B. *et al JAMA* 2017
4. Finch, A. *et al. JAMA* 2006
5. Bettegowda, C. *et al. Sci. Transl. Med* 2014
6. Bell, D. *et al. Nature* 2011

Pièce jointe : Abstract Conférence Assises génétique 2020.docx

EF68 : Constitutional mismatch repair deficiency (CMMRD)-associated brain tumors: report from the European C4CMMRD consortium

Auteurs :

Léa Guerrini-Rousseau (1), Pascale Varlet (2), Christelle Colas (3), Felipe Andreiuolo (2), Franck Bourdeaut (4), Karin DAHAN (5), Christine DEVALCK (6), cécile FAURE-CONTER (7), Maurizio GENUARDI (8), Yael GOLDBERG (9), Michaela KUHLEN (10), Salma MOALLA (11), Enrico OPOCHER (12), Vanessa Perez-Alonso (13), Astrid SEHESTED (14), Irene SLAVE (15), Sheila UNGER (16), Katharina WIMMER (17), 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. Genetic Department, Institut Curie, Paris, France
4. Oncologie pédiatrique Adolescents Jeunes Adultes, Institut Curie, Paris, France
5. Genetic Department, HUDERF, Brussels, Belgique
6. Hemato-Oncology Department, HUDERF, Brussels, Belgique
7. Pediatric Oncology & Hematology, IHOP, Lyon, France
8. UOC Genetica medica, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli, Roma, Italie
9. Genetic Department, Beilinson Hospital, Petach Tikva, Israël
10. Department of Pediatric Oncology, Hematology and Clinical Immunology, University Children's Hospital, Dusseldorf, Allemagne
11. Department of Radiology, Gustave Roussy, Villejuif, France
12. Pediatric Oncology & Hematology, Azienda Ospedaliera di Padova, Padova, Italie
13. Unidad de Oncología Pediátrica, Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid, Espagne
14. Department of pediatrics and adolescent medicin, Copenhagen University Hospital, Copenhagen, Danemark
15. Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Medical University of Vienna, Vienna, Autriche
16. Division of Genetic Medicine, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse
17. Medical University Innsbruck, Institute of Human Genetics, Innsbruck, Autriche

Mots clefs : Constitutional mismatch repair deficiency CMMRD, mutation germinale biallélique des genes MMR, tumeur cérébrale, gliome de haut-grade, tâche café-au-lait, syndrome de predisposition, cancer pédiatrique.

Résumé :

Contexte: Le syndrome CMMRD (constitutional mismatch repair deficiency) est un syndrome de prédisposition aux cancers pédiatriques dû à une mutation germinale biallélique homozygote ou hétérozygote composite des gènes de réparation de l'ADN ou gènes MMR. Les enfants, adolescent ou adultes jeunes développent des cancers à un âge précoce (hémopathies, tumeurs digestives et cérébrales). Les tumeurs cérébrales (TC) faisant partie des cancers les plus fréquemment associés au CMMRD, cette étude a analysé les informations recueillies dans la base de données européenne «Care for CMMRD» (C4CMMRD) afin de décrire les caractéristiques cliniques des patients atteints d'une TC, les traitements reçus et leurs résultats, pour améliorer le diagnostic et le traitement des TC survenant dans un contexte de CMMRD.

Méthodes: Analyse rétrospective des données des patients atteints de CMMRD ayant présenté au moins une TC, et inclus dans la base de données C4CMMRD jusqu'en juillet 2017.

Résultats: Parmi les 87 patients enregistrés dans ce registre, 49 ont développé 56 TC, toutes malignes: 50 gliomes de haut grade (avec des cellules multinucléées géantes dans 16 tumeurs examinées histologiquement sur 21) et 6 tumeurs embryonnaires (dont 5 médulloblastomes). L'âge médian au diagnostic de la première TC était de 9,2 ans [1,1 à 40,6 ans], avec neuf patients âgés de plus de 18 ans. Vingt-sept patients ont développé des tumeurs malignes multiples (dont 16 avant la TC). La plupart des patients ont reçu un traitement standard combinant chirurgie, radiothérapie +/- chimiothérapie. Huit patients ont reçu une immunothérapie avec un anticorps anti-PD1 pour un gliome de haut grade en rechute. Les taux de survie globale à 3 et 5 ans étaient de 30% (95%CI 19-45) et de 22% (95%CI 12-37) après la première TC, avec un pronostic plus sombre pour les gliomes de haut grade (OS à 3 ans = 20,5%). Aux dernières nouvelles, 6 patients étaient vivants (suivi médian 2,5 ans) et 43 décédés (38 décès (88%) étaient liés à la première ou seconde TC). Les autres caractéristiques spécifiques du CMMRD mises en évidence dans cette étude étaient: les tâches café-au-lait (40/41), la consanguinité (20/38 familles), des cellules géantes sur l'histologie (16/21), et sur l'imagerie des anomalies veineuses cérébrales de développement (11/15) et la présence de TC synchrones multiples (5/15).

Conclusion: Plusieurs caractéristiques peuvent aider à suspecter un CMMRD chez les patients atteints de TC malignes: consanguinité parentale, tâches café-au-lait, TC synchrones multiples ou antécédent tumoral du spectre (hémopathies, tumeurs digestives ou cérébrales), cellules géantes sur l'histologie et anomalies veineuses cérébrales de développement. Le pronostic des TC associées au CMMRD et traitées avec des thérapies standard est médiocre. Identifier les patients porteurs d'un CMMRD est indispensable pour leur proposer de nouvelles approches thérapeutiques, dont l'immunothérapie, dans le but d'améliorer leur pronostic.

Pièce jointe : CMMRD assises LGI docx .docx

EF69 : Une plateforme nationale pour décroisonner l'interprétation des variants somatiques de signification inconnue

Auteurs :

Florence Koeppel (1), Céline Guien (2), Victor Gondran-Teillier (3), Christophe Beroud (4), Etienne Rouleau (3, 5)

1. B2M, Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
2. INSERM UMR_S910, Université de Marseille, Marseille, France
3. Génétique des tumeurs , Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
4. Département de Génétique Médicale et INSERM UMR_S910 Marseille, France , Université de Marseille, Marseille, France
5. Plateforme AMMICa, Gustave Roussy, VILLEJUIF, France

Mots clefs : base de données, VSI, variants somatiques

Résumé :

En cancérologie, l'expansion des analyses génomiques des tumeurs permet de produire régulièrement des données issues du séquençage ciblé. Le biologiste moléculaire est confronté régulièrement à des variants identifiés dans la tumeur, dont la pathogénicité n'est pas établie et dont l'effet thérapeutique est inconnu. Le classement de ces variants est hétérogène d'un centre à l'autre et l'utilisation clinique variable. Le cloisonnement et l'absence de lien entre les hôpitaux ne permettent pas de partager les retours d'expérience sur ces variants rares. Le décroisonnement des données et leur partage entre les différents centres devrait permettre d'améliorer la prise en charge des patients.

Nous présentons ici la preuve de concept d'une plateforme de variants somatiques rares et de signification inconnue, créée à l'initiative des associations GBMHM et GFCO et bénéficiant d'un soutien de l'INCa. Cette plateforme est adaptée aussi bien aux tumeurs solides qu'aux hémopathies malignes. Elle comporte une base de données, assortie d'un outil d'annotation et accessible via un portail internet. Les variants sont téléchargés par chaque centre participant sous un format standardisé via des fichiers pivots. Des données cliniques non nominatives sont demandées, comme le type de cancer. Ces variants sont ensuite annotés automatiquement par le portail afin d'apporter les éléments et niveaux de preuve disponibles pour participer à son interprétation, tels que la fréquence dans la population générale, la fréquence dans les bases spécifiques du cancer, les résultats des outils de prédiction et des informations structurales. Un processus de curation des variants sera mis en place par la suite, permettant de classer les variants inconnus au vu des occurrences rapportées dans la base et des éléments à disposition. Dans un premier temps, la plateforme est dédiée aux mutations ponctuelles et aux petites insertions et délétions, et se focalise sur un set de 85 gènes couramment séquencés. Une liste de hotspots a été constituée afin de filtrer les variants à l'import, de sorte que seuls les variants inconnus soient importés.

De cette manière, lorsqu'un biologiste moléculaire s'interroge sur la signification d'un variant inconnu, il pourra requêter la base pour savoir en temps réel si ce variant a déjà été rapporté par une autre plateforme, et le cas échéant contacter cette plateforme pour échanger sur l'interprétation du variant. L'accès à la ressource est soumis à la création d'un compte par l'administrateur du site, qui peut être contacté en ligne sur <https://somaticdb.geneticsandbioinformatics.eu/>.

EF70 : Plan France Médecine Génomique 2025 (PFMG 2025) : De la mise en place des plateformes AURAGEN et SeqOIA aux premiers résultats

Auteurs :

Damien SANLAVILLE (1), AURAGEN AURAGEN (2), Michel VIDAUD (3), SeqOIA SeqOIA (4)

1. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Lyon,, HCL, Lyon, France
2. AURAGEN, AURAGEN, AURA, France
3. Service de génétique et biologie moléculaire, APHP, Hôpital Cochin, Paris, France
4. GCS SeqOIA, SeqOIA, Paris, France

Mots clefs : Génomique, organisation des soins, Plan France médecine Génomique 2025, maladies rares, oncogénétique, cancer

Résumé :

Suite à une demande du Premier ministre, l'alliance Aviesan a remis au 1^{er} ministre le 22 juin 2016 le Plan France Médecine génomique 2025 (PFMG 2025) visant à l'utilisation du séquençage à très haut débit dans la pratique clinique.

À la suite d'un appel à projet national publié le 28 décembre 2016 par le ministère des affaires sociales et de la santé, les deux premiers projets pilotes de plateforme de séquençage à très haut débit à visée sanitaire pour un grand nombre de patients ont été sélectionnés en juillet 2017 : AURAGEN (Région AURA) et SeqOIA (Région IdF). Ces deux plateformes ont vocation à prendre en charge l'ensemble des patients du territoire national de façon équitable et une couverture territoriale a été proposée par la DGOS en octobre 2018. Fin décembre 2018, un groupe de travail coordonné par la HAS a identifié 12 pré-indications qui ont été validées par le COMOP du PFMG 2025 le 16 janvier 2019 : 9 pour les maladies rares et 3 pour le cancer. Deux pré-indications supplémentaires concernant le cancer ont été validées le 15 mai 2019 par le COMOP du PFMG 2025 portant à 14 le nombre des pré-indications.

L'appel à projet indiquait que les deux plateformes devaient, dans le respect de la législation en vigueur, être des laboratoires de biologie médicale (LBM) qui respectent, pour la réalisation des examens, toutes les exigences prévues pour chacune des trois phases : pré-analytique, analytique et post-analytique. Les GCS AURAGEN et SeqOIA ont par conséquent créé des LBM qui ont été autorisés en mai 2019 par leurs ARS respectives pour exercer leur activité. Ces structures s'inscrivent également dans la démarche d'accréditation Cofrac selon la norme NF EN ISO 15189. En attendant la création du Collecteur Analyseur de Données, les plateformes assurent le traitement analytique, le stockage et la sauvegarde des données selon les dispositions légales en vigueur. Elles respectent ainsi d'une part le RGPD et disposent d'infrastructure dédiées agréées à l'hébergement de données de santé (HDS).

Au deuxième semestre 2019, les plateformes AURAGEN et SeqOIA sont entrées dans une phase opérationnelle qui induit des changements importants dans nos pratiques tant au niveau clinique que biologique, bousculant les organisations antérieures et modifiant certains circuits déjà mis en place. En lien avec les FSMRs concernées par les premières pré-indications, le Groupe Génétique et Cancer et les plateformes INCa, les deux plateformes ont contribué à mettre en place le parcours génomique adossé à des RCP d'amont et d'aval. Les plateformes ont développé et mis à disposition des logiciels de e-prescription.

Nous présenterons un premier bilan concernant l'organisation et les prescriptions, le nombre d'échantillons reçus, la gestion des données et les résultats obtenus. Nous soulignerons les difficultés d'un tel projet et de son appropriation par tous les acteurs concernés tout en insistant sur l'intérêt en pratique clinique au service des patients.

EF71 : Des difficultés initiales aux premiers tests réels : Elaboration d'un programme d'ETP pour les patients atteints d'arthrogrypose multiple congénitale.

Auteurs :

Gipsy BILLY (1), Marjolaine GAUTHIER (1), Emmanuelle CLARAC (2), Sandrine SCHTROCK (2), Nicolas LEROUX (2), Elsa LAIDET (2), Adeline AYRAUD (2), Véronique THELLIER (3), Claire HUZAR (3), Véronique BOURG (4), Emmanuelle DUPRAZ (5), Véronique VION (6), Klaus DIETERICH (5)

1. Génétique Médicale, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
2. Médecine Physique et Rééducation Adulte, CHU Grenoble Alpes, grenoble, France
3. Médecine Physique et Réadaptation pédiatrique, CHU Grenoble Alpes, grenoble, France
4. Médecine Physique et Réadaptation pédiatrique, Médecine Physique et Réadaptation pédiatrique, grenoble, France
5. Génétique Médicale, CHU Grenoble Alpes, grenoble, France
6. UTEP38, CHU Grenoble Alpes, grenoble, France

Mots clefs : Arthrogryposes multiples congénitales, éducation thérapeutique du patient, douleur, fatigue, mobilisation, appareillage,

Résumé :

Introduction :

Les patients atteints d'arthrogrypose bénéficient d'une prise en charge rééducative et orthopédique dès la naissance, et ce de façon intensive. Les familles sont donc confrontées très tôt et très régulièrement à la prise en charge de leur maladie avec des échanges récurrents avec les professionnels de santé. L'objectif des programmes d'éducation thérapeutique du patient (ETP) est d'aider le patient ainsi que sa famille et ses aidants à comprendre leur maladie, leur prise en charge, collaborer ensemble et assumer leurs responsabilités dans leur propre prise en charge dans le but de les aider à maintenir et améliorer leur qualité de vie. Identifier des besoins particuliers en éducation thérapeutique n'était donc pas évident de prime abord dans ce groupe de pathologies.

Méthode :

Nous avons réalisé en octobre 2018 une enquête lors d'une rencontre annuelle de l'association Alliance Arthrogrypose afin de mieux identifier les besoins exprimés des patients adultes, adolescents, des familles et aidants.

Résultats :

L'enquête a pu mettre en évidence les points qui constitueront les futurs modules de l'ETP : Savoir et apprendre à parler de son arthrogrypose ; mieux identifier et gérer sa douleur ; gérer sa fatigue ; anticiper le vieillissement avec l'arthrogrypose ; comprendre la mobilisation et l'entretien articulaire ; gérer ses aides techniques et l'appareillage.

Conclusion :

Les premiers modules de l'ETP « arthrogryposes multiples congénitales » au CHU Grenoble Alpes ont été élaborés avec l'aide de l'UTEP38. Ils sont actuellement testés chez des patients déjà connus des consultations multidisciplinaires arthrogrypose du centre de référence anomalies du développement de Grenoble.

EF72 : Rôle de ADAR1 et du A-to-I RNA editing au cours du développement de la crête neurale chez la souris

Auteurs :

Nadjet Gacem (1), Lisa Zerad (1), Anthula Kavo (2), Laurence Richard (3), Melanie Parisot (4), Jeanne Amiel (1), Sylvie Dufour (2), Pierre de la Grange (5), Veronique Pingault (1), Jean-Michel Vallat (3), Nadege Bondurand (1)

1. INSERM U1163, Institut Imagine, Paris, France
2. IMRB, INSERM, creteil, France
3. Department of Neurology, Centre de Reference "Neuropathies Périphériques Rares, CHU Limoges, Limoges, France
4. Genomics Core Facility, Institut Imagine, Paris, France
5. , GenoSplice, Paris, France

Mots clefs : crete neurale, RNA editing, myeline, melanocytes, ADAR1

Résumé :

Catalysée par les enzymes de la famille ADAR, la désamination *A to I* est la modification d'ARN la plus fréquente chez les mammifères. Les inosines étant reconnues comme des guanosines, cela contribue à la diversité transcriptomique et protéique. La plupart des modifications surviennent dans des éléments répétés localisés dans les régions non-codantes du pré-ARNm, entraînant une dérégulation de l'expression, de l'épissage, ou des altérations de la synthèse des miARN.

Les altérations de l'édition, ou des mutations des enzymes ADAR, ont été associées à des cancers et des troubles neuro-développementaux. Les mutations d'*ADAR1* sont responsables de deux pathologies parfois combinées chez l'homme : le syndrome d'Aicardi-Goutières (AGS) et la dyschromatose symétrique héréditaire (DSH). Toutes deux sont liées à une activation de la voie de l'interféron due à une reconnaissance des ARNs non édités par des senseurs cytosoliques. Les défauts de pigmentation suggèrent un rôle d'*ADAR1* dans le développement des mélanocytes dérivés de la crête neurale (CN), mais son rôle dans les autres dérivés de la CN (dont les cellules de Schwann responsables de la formation de la gaine de myéline périphérique) était inconnu.

Pour avancer dans ce domaine, nous avons généré un modèle murin dans lequel *Adar1* a été spécifiquement invalidé dans les cellules de la CN grâce à l'utilisation du système Cre/loxP. Les mutants issus de ces croisements présentent une quasi-absence de pigmentation ainsi qu'une mortalité post-natale précoce accompagnée d'anomalies de myélinisation majeures du système nerveux périphérique (SNP). L'analyse de ces mutants a montré que ces phénotypes sont dus à une apoptose massive des mélanocytes juste avant la naissance et à une altération du processus de différenciation des cellules de Schwann (blocage au stade pro-myélinisant). Les deux altérations sont précédées par une augmentation de l'expression des gènes stimulés par l'interféron, et corrigées au moins partiellement par invalidation simultanée de *Mda5* (le senseur des ARNdb non édités) *in vitro*, suggérant que la survie des mélanocytes et la différenciation de la glie périphérique sont *ADAR1* et ARN éditant-dépendantes. Une analyse RNA-seq a été réalisée dont les données sont en cours d'analyse, afin d'identifier les ARN soumis à cette régulation et les facteurs responsables du phénotype au cours du processus de myélinisation du SNP.

A terme, l'observation des conséquences d'une dérégulation de ce mécanisme aidera à comprendre son rôle au cours du développement des cellules de CN en condition normale et pathologique. Un transfert des résultats à la clinique est aussi attendu.

Pièce jointe : Abstract assises.docx

EF73 : Description clinique et moléculaire d'une nouvelle forme non spécifique de Déficience Intellectuelle causée par des variations dans le gène AGO1

Auteurs :

Audrey Schalk (1), Sarah Baer (2, 3), Jérémie Courraud (4), Yves Alembik (5), Benjamin Durand (1), Florent Colin (4), Alice Goldenberg (6), François Lecoquierre (6), Valérie Skory (4), Frédéric Tran Mau-Them (7), Gabriella Vera (6), Aurélien Trimouille (8), Eulalie Lasseaux (8), Didier Lacombe (9), Chloé Angelini (10), Hubert Journal (11), Boris Keren (12), Cyril Mignot (13), Sandrine Passemard (14), Jean-Louis Mandel (2), Jamel Chelly (1, 4), Bénédicte Gérard (15), Amélie Piton (15, 4)

1. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Institut Génétique Médical d'Alsace, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Génétique et physiopathologie de maladies neurodéveloppementales et épileptogènes, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France, ILLKIRCH, France
3. Service de Pédiatrie 1, Hopital de Haute-pierre, Strasbourg, France
4. Génétique et physiopathologie de maladies neurodéveloppementales et épileptogènes, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France, Illkirch, France
5. Service de Génétique Médicale, Institut Génétique Médical d'Alsace, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
7. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
9. Département de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
10. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rouen, Bordeaux, France
11. Service de Génétique Médicale, CHBA Centre hospitalier Bretagne Atlantique - CH Chubert, Vannes, France
12. Unité fonctionnelle de génomique du développement, centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, CHU Paris - GH La Pitié Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France
13. Département de Génétique et de Cytogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
14. Département de génétique, Hopital Robert Debré, Paris, France
15. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Institut Génétique Médical d'Alsace, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) fait partie des troubles du neurodéveloppement et touche environ 2% des enfants. Actuellement plus de 1000 gènes sont impliqués de façon certaine dans la DI et de nombreux autres sont considérés comme candidats (plus de 1000 selon SysID). Ainsi, des variations faux-sens *de novo* dans le gène *AGO1* (ou *EIF2C1*) ont récemment été identifiées dans plusieurs études de séquençage d'exome réalisées dans de larges cohortes de patients avec troubles du neurodéveloppement. Ce gène code pour la protéine Argonaute 1, impliquée dans la régulation globale des ARNm via de petits ARN (miARN, siARN et piARN) mais dont la fonction précise reste à ce jour mal connue. Nous rapportons ici pour la première fois les données cliniques, moléculaires et fonctionnelles d'une cohorte de 24 patients présentant des variations *de novo* dans le gène *AGO1*, confirmant ainsi l'implication de ce gène dans une forme de DI non spécifique assez fréquente.

Au total, 14 variations *de novo* ont été identifiées chez ces patients (12 faux-sens et 2 délétions en phase), dont certaines de façon récurrente. Ces variations touchent des acides aminés très conservés et sont localisées dans des domaines fonctionnels différents (L1, PAZ, L2 et Piwi). L'ensemble des patients de la cohorte présente une DI variable de légère à sévère ainsi qu'un retard de langage et un retard moteur pour 80% d'entre eux (16/20). Des troubles du spectre autistique sont décrits chez 77% des patients (17/22) et des troubles du comportement (hyperactivité, anxiété et/ou agressivité) chez 71% des patients (10/14). Nous rapportons également de l'épilepsie chez la moitié des patients sans anomalie spécifique à l'imagerie cérébrale. Aucun patient ne présente une dysmorphie faciale évocatrice. Nous n'avons pas mis en évidence de corrélation significative entre la localisation des variations et les phénotypes observés chez les patients.

Nous avons analysé les conséquences moléculaires des cinq variations faux-sens les plus récurrentes. Nous avons montré que ces variations n'affectaient ni l'expression ni la localisation de la protéine AGO1 lors de tests de surexpression dans différents modèles cellulaires. Par immunoprécipitation couplée à de la spectrométrie de masse, nous avons identifié des interacteurs de la protéine AGO1 sauvage. Nous avons entrepris de tester l'effet des variations faux-sens sur ces interactions protéiques. AGO1 étant probablement impliqué, entre-autre, dans la régulation de la dégradation des ARNm, nous avons entrepris d'analyser le transcriptome de fibroblastes de patients porteurs de variations faux-sens dans le gène *AGO1*. En parallèle, pour mieux comprendre comment une altération d'AGO1 peut conduire à un dysfonctionnement du cerveau, une inactivation d'*AGO1* dans des précurseurs neuronaux humains a été réalisée de manière à étudier les conséquences sur l'expression des gènes mais également sur la prolifération cellulaire.

Pièce jointe : AGO1_Abstract_Assises_2020_final.docx

EF74 : Le séquençage haut-débit sur une cohorte de 56 patients atteints d'anomalies du tube neural renforce l'implication des gènes de la polarité planaire cellulaire et de la voie Sonic Hedgehog

Auteurs :

Véronique DAVID (1, 2), Marie BEAUMONT (1), Wilfrid CARRE (1), Marie FAOUCHER (3), Linda AKLOUL (4), Chloé QUELIN (4), Andrea MANUNTA (5), Marie De TAYRAC (6), Sylvie ODENT (4), Christèle DUBOURG (1)

1. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
2. IGDR UMR6290 CNRS, , Université Rennes1, Rennes, France
3. Service de Génétique Moléculaire et génomique, CHU Pontchaillou, RENNES, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
5. Centre de Référence Spina Bifida, CHU Pontchaillou, RENNES, France
6. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, RENNES, France

Mots clefs : Anomalies du tube neural, Spina bifida, séquençage haut-débit, polarité planaire cellulaire, Sonic Hedgehog

Résumé :

Les anomalies du tube neural (ATN) sont des troubles du développement courants qui affectent environ une naissance vivante sur 3000. Elles proviennent d'un défaut de neurulation pendant l'embryogenèse, entraînant une fermeture incomplète du tube neural. Malgré leur prévalence élevée, l'étiologie des ATN n'est pas encore établie. L'implication de facteurs environnementaux comme le taux d'acide folique maternel et/ou de facteurs génétiques a été proposée, avec un taux d'hérédité d'environ 60%. Aussi bien les modèles de souris que les études chez des patients suggèrent que le mode de transmission de ces ATN serait plutôt oligogénique. Nous présentons les résultats obtenus à partir de l'analyse de séquençage haut débit (exome médical) d'une cohorte composée de 56 patients ayant ou non une histoire familiale, en se focalisant sur un panel de 250 gènes candidats.

Au total, des variants dans des gènes candidats ont été détectés dans 40% des cas. Il s'agit majoritairement de gènes de la voie de polarité planaire cellulaire (PCP) déjà connus pour leur implication dans les ATN, et notamment *CELSR1* (11 cas sur 56), mais avec une prévalence plus élevée que celle rapportée précédemment. Notre étude décrit également des variants dans de nouveaux gènes tels que *FREM2* connu jusqu'à présent pour son implication dans les modèles animaux et des gènes de la voie Sonic Hedgehog, comme *DISP1*. Nous rapportons également plusieurs cas de digénisme, associant principalement des gènes de la polarité planaire à d'autres gènes candidats. Ces résultats confirment l'implication des gènes de la voie PCP et révèlent l'importance de la la voie de signalisation *SHH* dans l'apparition des ATN. Ils montrent aussi que les variants sont majoritairement identifiés chez des patients ayant une histoire familiale d'ATN, renforçant l'influence des facteurs génétiques dans cette pathologie multifactorielle.

EF75 : Identification de variants perte de fonction de novo du gène KCNN2 chez des patients atteints de troubles neuro-développementaux et mouvements anormaux

Auteurs :

Agnès Rastetter (1), Carine Dalle (2), Fanny Mochel (2), Christel Depienne (3, 2), KCNN2 working group KCNN2 working group (4)

1. INSERM U 1127, CNRS UMR 7225, UMR S 1127, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Paris, France
2. INSERM, U1127, CNRS UMR 7225, UMR S1127, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, Paris, France, Paris, France
3. Institute of Human Genetics, University Hospital Essen, University of Duisburg-Essen, Essen, Allemagne
4. INSERM, U1127, CNRS UMR 7225, UMR S1127, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, Paris, France, International, France

Mots clefs : canaux potassiques calcium-dépendants - troubles du mouvement - retard de développement - hyperpolarisation - canalopathie

Résumé :

Le gène *KCNN2* code pour un canal potassique appelé « *small conductance calcium-activated K⁺ channel 2* » (ou SK2). Le canal SK2 est activé par l'augmentation de concentration du calcium intracellulaire et régule l'excitabilité neuronale lors de la phase de post-hyperpolarisation des potentiels d'action.

Des modèles de rongeurs avec des mutations spontanées de *Kcnn2* présentent une activité locomotrice anormale, des tremblements et des déficits de mémoire, mais jusqu'à présent aucun trouble clinique lié aux variants de *KCNN2* n'a été rapporté chez l'homme. En réalisant le séquençage de l'exome chez un patient ayant des troubles des apprentissages, une ataxie cérébelleuse et une leucodystrophie, nous avons identifié une délétion *de novo* dans *KCNN2* entraînant un décalage du cadre de lecture et un codon stop prématuré.

Cette découverte nous a incité à collecter les données de patients porteurs de variants *de novo* dans *KCNN2* via Genematcher. Les données de dix patients ont pu être regroupées dont six porteurs de mutations faux-sens, un porteur d'une délétion d'acide aminé, et trois porteurs de mutations entraînant un codon stop prématuré. Tous les variants, sauf un hérité d'un parent affecté, sont survenus *de novo*.

Les patients présentaient tous un retard de développement, des troubles des apprentissages ou une déficience intellectuelle légère, associés à des mouvements anormaux – syndrome cérébelleux, tremblement ou dyskinésies – et des troubles psychotiques.

Nous avons étudié l'impact de six de ces variants sur la fonction du canal SK2 grâce à la technique de patch-clamp, en sur-exprimant la protéine sauvage ou mutée dans des cellules CHO. Ces études fonctionnelles ont montré que tous les variants testés, sauf un reclassé de signification inconnue, entraînaient une perte de fonction des canaux homomériques SK2 avec absence d'ouverture du canal.

En conclusion, ces résultats démontrent que les variants hétérozygotes perte de fonction du gène *KCNN2* entraînent un tableau clinique spécifique associant mouvements anormaux, troubles du développement et/ou psychiatriques comparable aux phénotypes décrit précédemment chez les rongeurs avec mutations du gène *Kcnn2* orthologue.

EF76 : La Sclérose Tubéreuse de Bourneville 140 ans après

Auteurs :

Renaud Touraine (1), Francis Ramond (1), Inès Harzallah (1), Emilie Kalbacher (2), Martine Fohlen-Haas (3), Olivier Rouvière (4), Vincent Cottin (5), Alice Phan (6), Guillaume Beure d'Augères (7), Paolo Curatolo (8), Petrus De Vries (9), Christoph Hertzberg (10), Anna Jansen (11), Sergiusz Jozwiak (12), Chris Kingswood (13), Rima Nabbout (14), Laurine Perrin (15), Laure Mazzola (16)

1. Génétique, CHU-Hôpital Nord, SAINT ETIENNE cdx2, France
2. Néphrologie, CHU-Hôpital E Herriot, Lyon, France
3. Neurochirurgie, Fondation Rotschild, Paris, France
4. Radiologie Interventionnelle, CHU-Hôpital E Herriot, Lyon, France
5. Pneumologie, CHU-Hôpital Louis Pradel, LYON, France
6. Dermatologie, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Bron, France
7. ,, ASTB, Gradignan, France
8. Neuropédiatrie, Tor Vergata University Hospital, Rome, Italie
9. Division of Child and Adolescent Psychiatry, University of Cape Town, Cape Town, Afrique du Sud
10. Neurologie, Vivantes-Klinikum Neukölln, Berlin, Allemagne
11. Neuropédiatrie, UZ Brussel VUB, Bruxelles, Belgique
12. Neuropédiatrie, Warsaw Medical University, Warsaw, Pologne
13. Sussex Kidney Unit, Royal Sussex County Hospital, Brighton, Royaume Uni
14. Neuropédiatrie, CHU-Hôpital Necker, Paris, France
15. Neuropédiatrie, CHU-Hôpital Nord, SAINT ETIENNE, France
16. Neurologie, CHU-Hôpital Nord, Saint Etienne, France

Mots clefs : Sclérose Tubéreuse de Bourneville, TSC1, TSC2, épilepsie, dysplasie corticale

Résumé :

La Sclérose Tubéreuse (STB) est reliée au nom de DM Bourneville qui a publié un des premiers cas en 1880.

Nous proposons une mise au point sur cette pathologie touchant plusieurs organes, autosomique dominante, à l'aune de notre expérience et des données du registre international TOSCA qui a permis d'analyser plus de 2000 patients. L'histoire naturelle de ces patients est maintenant bien précisée. L'atteinte est très variable y compris en intra-familial, compliquant le conseil génétique, depuis des formes légères, sans trouble du neurodéveloppement jusqu'à des atteintes sévères avec déficience intellectuelle sévère, autisme et épilepsie pharmaco-résistante. En outre, l'atteinte cutanée peut être un problème esthétique important, et les atteintes rénales et pulmonaires peuvent être cause de morbidité et mortalité à l'âge adulte. Les atteintes d'autres organes (par exemple cardiaque, oculaire, osseux, hépatique) sont moins souvent problématiques. La prise en charge des patients bénéficie d'une surveillance durant toute la vie par l'instauration d'un traitement précoce (éventuellement présymptomatique) des complications, chirurgicales, interventionnelles ou médicamenteuses. Ceci justifiant la proposition d'un diagnostic présymptomatique dès le plus jeune âge. L'utilisation des inhibiteurs de mTOR a fondamentalement amélioré la situation de ces personnes vis-à-vis de certaines complications même si la STB reste une affection sévère dans la moitié des cas.

Dans environ 85 à 90 % des cas une mutation est identifiée dans le gène *TSC1* ou le gène *TSC2*, mutations ponctuelles tronquantes, délétions et moins fréquemment mutations faux-sens. Les mosaïques ne sont pas rares et peuvent nécessiter pour leur identification, d'analyser un tissu atteint. Ces mosaïques peuvent être purement somatiques à l'origine par exemple d'une Lymphangioléiomyomatose pulmonaire sporadique, de dysplasie corticale ou d'astrocytome à cellules géantes isolés. L'analyse moléculaire est importante pour discriminer ces formes sans atteinte germinale des formes pauci-symptomatiques de STB qui sont transmissibles.

EF77 : Les variations gain de fonction du gène *TCF4* sont responsables d'un nouveau syndrome polymalformatif sans déficience intellectuelle

Auteurs :

Julian DELANNE (1, 2), Frédéric TRAN-MAU-THEM (3, 4), Sophie NAMBOT (1, 5), Arthur SORLIN (1, 3), Sébastien MOUTTON (1, 3), Anne Sophie DENOMME-PICHON (3, 4), Angeline BRUEL (5), Julien THEVENON (1, 4), Jean-Baptiste RIVIERE (3, 4), Martin CHEVARIN (4, 3), Thibaud JOUAN (3, 4), Yanis DUFFOURD (4, 3), Emilie TISSERANT (4, 3), Christophe PHILIPPE (3, 4), David GENEVIEVE (6), Kimberly LE BLANC (7), Daniel WEGNER (8), Marwan SHINAWI (8), Christel THAUVIN-ROBINET (3, 4), Laurence FAIVRE (1, 3), Antonio VITO BELLO (4, 3)

1. Centre de génétique - Centre de référence des maladies rares, anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
2. Laboratoire de Génétique chromosomique et moléculaire, UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
3. UMR-Inserm 1231 GAD team, Génétique des Anomalies du développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
4. Laboratoire de Génétique chromosomique et moléculaire, UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
5. Gentique des anomalies du développement, INSERM, UMR1231 Equipe GAD, Génétique des anomalies du développement, Dijon, France
6. Département de génétique médicale, Maladies rares et médecine personnalisée, CHU de Montpellier, Montpellier, France
7. Undiagnosed Diseases Network, Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
8. Department of Pediatrics, Division of Genetics and Genomic Medicine, Washington University School of Medicine, Saint Louis, Etats-Unis

Mots clefs : *TCF4*, nouveau syndrome, Genotype first, Reverse phenotyping

Résumé :

Introduction : L'haploinsuffisance du facteur de transcription *TCF4* entraîne un syndrome de Pitt-Hopkins, associant déficience intellectuelle (DI), dysmorphie faciale caractéristique et hyperventilation intermittente suivie d'apnée. Les variations faux sens pathogènes sont principalement regroupés dans la partie C-terminale de la protéine, qui contient le domaine hélice-boucle-hélice (HBH) nécessaire à la dimérisation de la protéine et à sa liaison à l'ADN. Même si des variations localisées hors de ce domaine ont parfois été associées à des DI légères non syndromiques, à ce jour aucune variation n'a été rapportée associée à un syndrome malformatif reconnaissable sans DI.

Patients et Méthodes : Nous rapportons le cas de trois patients présentant des malformations faciales sans DI associées à un variant faux sens hétérozygotes *de novo* du gène *TCF4*. Ces variations ont été identifiées par un séquençage de l'exome en trio, et rapprochés par le biais d'une collaboration au sein du réseau AnDDI-Rares et du réseau américain UDN.

Résultats : Le patient 1 (P1) a été adressé durant la période néonatale pour malformation faciale sévère et retard de croissance intra-utérin, les patients 2 (P2) et 3 (P3) pour syndrome malformatif en errance diagnostique. Leurs particularités faciales comprenaient un front large, un ptosis, une racine du nez déprimés avec des narines hypoplasiques, une microstomie, un microrétrognathisme et des oreilles hypoplasiques. Une hypoplasie unguéale de l'auriculaire étaient notées chez P1 ; des syndactylies IV-V associées à des camptodactylies des doigts et à une dysplasie unguéale chez P2. P3 présentait plusieurs anomalies osseuses : une scoliose, une luxation de la tête radiale et un pouce bifide et triphalangé. P1 et P3 présentaient une obstruction du canal lacrymal, une alacrymie était rapportée chez P2. P1 et P2 avaient un retard de croissance staturopondéral avec une taille <-2DS malgré un traitement par hormone de croissance, P3 présentait une macrocéphalie. Aucun ne présentait de DI même si des difficultés scolaires étaient rapportées chez P1 et P2. Les variations (p.Met594Lys) chez P1, (p.Cys636Phe) chez P2 et (p.Cys636Tyr) chez P3, n'ont jamais été rapportées dans GnomAD, et affectent des acides aminés ultra conservés. La première impacte le domaine HBH, les 2 autres impactent un pont bisulfure en aval. Un appel à collaboration international a été lancé. Des études fonctionnels, impliquant l'intégration de données transcriptomiques (RNA-seq) et d'immunoprecipitation de chromatine (ChIP-seq), sont en cours pour démontrer les effets gain de fonction probables de ces variations.

Discussion : Nous rapportons ici un nouveau phénotype associé aux variations avec un probable effet gain de fonction du gène *TCF4*. Les analyses fonctionnelles en cours et la description d'autres patients permettront de confirmer l'hypothèse d'un nouveau syndrome lié à *TCF4* et d'en affiner la description phénotypique.

EF78 : Aide à l'interprétation diagnostique des variants du gène non codant RNU4ATAC

Auteurs :

Clara Benoit-Pilven (1, 2), Alicia Besson (1), Audrey Putoux (3, 4), Claire Benetollo (1), Clément Saccaro (1), Justine Guguin (1), Gabriel Sala (1), Anne-Louise Leutenegger (5), Audric Cologne (1, 2), Marion Delous (1), Vincent Lacroix (2), Richard A. Padgett (6), Patrick Edery (1, 4), Sylvie Mazoyer (3)

1. Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Inserm U1028 CNRS UMR5292 Université Lyon 1, Bron, France
2. Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, CNRS UMR5558 Université Lyon 1, Villeurbanne, France
3. Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Inserm U1028, Bron, France
4. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. NeuroDiderot, Inserm UMR1141, Université Paris Diderot, Paris, France
6. Lerner Research Institute, Cleveland Clinic, Cleveland, Etats-Unis

Mots clefs : RNU4ATAC, épissage, gène non codant, prédictions bioinformatiques, diagnostic

Résumé :

Les variants bialléliques du gène non codant *RNU4ATAC*, transcrit en ARNs U4atac impliqué dans l'épissage mineur, sont responsables de trois maladies rares autosomiques récessives, à savoir les syndromes Taybi-Linder/MOPDI, Roifman et Lowry-Wood. Ces anomalies du développement associent une microcéphalie et un retard de croissance plus ou moins sévères selon les syndromes, une dysmorphie faciale, et des dysplasies osseuses. Des anomalies cérébrales, sévères, sont retrouvées chez les patients Taybi-Linder uniquement ; ceux-ci décèdent dans la majorité des cas avant l'âge de 3 ans. Actuellement, seuls les patients Roifman ont des déficits immunitaires clairement documentés.

Malgré la rareté de ces syndromes, le séquençage haut débit de panels de gènes, d'exomes ou de génomes entiers de séries d'enfants présentant soit une microcéphalie congénitale, soit moins spécifiquement une suspicion de syndrome génétique, a récemment conduit à l'identification de mutations dans ce gène chez de nouveaux patients. Ceci indique que leur mise en évidence n'est pas limitée à quelques laboratoires de diagnostic spécialisés et qu'on pourrait les retrouver plus fréquemment dans le futur avec la généralisation du séquençage à haut-débit.

Etant donné que *RNU4ATAC* est un gène non codant ne comportant qu'un seul exon, les algorithmes classiques de prédictions bioinformatiques évaluant l'effet des variants de séquence sur la fonction de la protéine ou sur l'épissage ne sont pas utilisables. La démarche à suivre pour l'interprétation des variants est donc différente de celle suivie classiquement et peut dérouter les laboratoires de diagnostic n'ayant aucune expérience de ce gène. Afin de faciliter et d'améliorer le diagnostic et le conseil génétique, nous avons i) fait le bilan et analysé toutes les mutations *RNU4ATAC* précédemment rapportées dans la littérature comme étant pathogènes (n=30) ; ii) étendu cette étude à toutes les variations génétiques *RNU4ATAC* répertoriées dans la base de données Genome Aggregation Database (gnomAD) (n=282) ; iii) utilisé un outil de prédiction de structures secondaires de l'ARN, RNAstructure, pour évaluer les conséquences de tous les variants *RNU4ATAC* identifiés sur la conformation bi-dimensionnelle de la bimolécule U4atac/U6atac ; iv) mis au point une méthode, basée sur un essai cellulaire, qui permet d'évaluer l'efficacité d'épissage d'un intron mineur test en présence d'ARNsn U4atac porteur de variants. Ces outils et ces informations seront utiles pour prédire la pathogénicité des variants de *RNU4ATAC*, afin de permettre aux laboratoires d'assurer un diagnostic clinique précis et un conseil génétique adapté..

Pièce jointe : Abstract Clara_final.docx

EF79 : Du syndrome de Pai aux diagnostics différentiels: étude clinique de 26 patients et résultats moléculaires d'une stratégie de séquençage nouvelle génération

Auteurs :

Daphné Lehalle (1, 2), Ange-Line Bruel (3), Mirna Assoum (3), Yannis Duffourd (3), Jeanne Amiel (4), Geneviève Baujat (5), Bettina Bessieres (6), Stefania Bigoni (7), Lydie Burglen (8), Guillaume Captier (9), Rodolphe Dard (10), Patrick Edery (11), Fernanda Fortunato (7), David Geneviève (12), Alice Goldenberg (13), Sarah Grotto (14), Laurent Guibaud (15), Delphine Héron (16), Muriel Holder Espinasse (17), Damien Lederer (18), Fermina Lopez Grondona (19), Sandrine Marlin (20), Arnaud Picard (21), Massimiliano Rossi (22), Joëlle Roume (10), Pascale Saugier-Weber (23), Stéphane Triau (24), Irene Valenzuela (19), Lionel Van Malderghem (25), Clémence Vanlerberghe (17), Myriam Vezain (23), Catherine Vincent-Delorme (26), Einat Zivi (27), Julien Thevenon (1), Christel Thauvin (1), Pierre Vabres (3), Patrick Callier (1), Laurence Faivre (1)

1. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, 21079 Dijon, France, Dijon, France
2. Service de Génétique, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. Equipe GAD, INSERM LNC UMR 1231, Faculté de Médecine, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
4. Service de Génétique, Institut IMAGINE, Hôpital Necker, Paris, France
5. Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine UMR_S1163 Hôpital Necker-Enfants Malades, Service de Génétique Médicale, Paris, France
6. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
7. Service de Génétique, Ferrara Hospital University, Ferrara, Italie
8. Service de Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
9. Service de chirurgie orthopédique et plastique pédiatrique, Hôpital Lapeyronie, CHU Montpellier, Montpellier, France
10. Service de Génétique, Centre Hospitalier Intercommunal de Poissy Saint-Germain-en-Laye, Poissy, France
11. Service de Génétique Médicale, CHU de Lyon HCL - GH Est - Hôpital Femme Mère Enfant, 69677 Bron Cedex, Lyon, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
13. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen - Hôpital Charles Nicolle 76031 Rouen, Rouen, France
14. Service de Génétique, Rouen University Hospital, Normandy Centre for Genomic and Personalized Medicine, Rouen, France
15. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfant, CHU Lyon, Lyon, France
16. Département de Génétique, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Centre de Référence, Paris, France
17. Service de Génétique, CHU de Lille, Lille, France
18. Center for Human Genetics, Institut de Pathologie et Génétique (I.P.G.), Gosselies, Belgique
19. Àrea de Genètica Clínica i Malalties Minoritàries, Hospital Vall d'Hebron, Barcelone, Espagne
20. Service de Génétique Médicale, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE UMR_S1163, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, Paris, France
21. Service de Chirurgie Maxillo Faciale, Hôpital Necker, Paris, France
22. Service de Génétique, CHU Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 CNRS UMR 5292, UCB Lyon 1, Lyon, France
23. Department of Pediatric Genetics, Rouen University Hospital, Normandy Centre for Genomic and Personalized Medicine, Rouen, France
24. Service de Foetopathologie, CHU Angers, Angers, France
25. Service de Génétique, CHU de Besançon, Besançon, France
26. Department of Clinical Genetics, CHRU Lille, Lille, France
27. Medical Genetics Institute, Shaare Zedek Medical Center, Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem, Israël

Mots clefs : Syndrome de Pai, syndrome oculoauriculofrontonasal, lipomatose encéphalocraniocutanée, syndrome de Sakoda, enchondrome facial, séquençage d'exome, séquençage de génome

Résumé :

Les enchondromes congénitaux médians de la face sont rares et le plus souvent syndromiques. L'entité la plus fréquente est le syndrome de Pai ; les syndromes oculoauriculofrontonasal (OAFN), la lipomatose encéphalocraniocutanée (ECCL), et le syndrome de Sakoda sont plus rares et moins connus.

Dans le cadre d'un projet de recherche visant à identifier les bases moléculaires du syndrome de Pai, nous avons étudié les données cliniques de 26 individus présentant un polyype facial syndromique et adressés pour syndrome de Pai. Cette reclassification a permis de confirmer cliniquement un syndrome de Pai typique ou atypique chez respectivement 9 (34%) et 2 individus (8%), un syndrome OAFN chez 10 individus (38%), et un autre syndrome apparenté chez 5 patients (19%). Au vu des chevauchements phénotypiques, nous suggérons que les syndromes OAFN, ECCL et Sakoda soient considérés, ou bien comme des diagnostics différentiels du syndrome de Pai, ou comme faisant partie du même spectre.

Des analyses moléculaires pangénomiques de type séquençage de nouvelle génération ont été réalisées chez 14 patients : séquençage d'exome (n=13) ou de génome (n=4) sur ADN extrait de leucocytes, dans l'hypothèse d'une étiologie monogénique ; séquençage d'exome sur ADN extrait de tissu atteint (n=1) dans l'hypothèse d'un mosaïcisme.

Nous avons identifié quatre variants -trois *de novo* et un hérité- dans deux gènes de la voie du TGFβ (*TGFBRAP1*, *PCSK7*), chez des patients avec syndrome de Pai (29%), et deux variants dans le gène *GLI2* (14%). Ces résultats, insuffisants pour établir des corrélations génotype- phénotype, ont conduit à une stratégie multi-omic dans le projet collaboratif européen Solve-RD.

EF80 : Le syndrome de Noonan due à des mutations activatrices de *RRAS2*

Auteurs :

Yline CAPRI (1), Elisabetta FLEX (2), Oliver HF KRUMBACH (3), Juliette PIARD (4), Mélanie FRADIN (5), Elaine SUK-YING GOH (6), Karen CHONG (7), Elliot STIEGLITZ (8), Alma KUECHLER (9), Goran CUTURILO (10), Marion STRULLU (1), Valérie CHUNE (1), Marco TARTAGLIA (11), Martin ZENKER (12), Alain VERLOES (1), Hélène CAVE (1)

1. Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Oncology and Molecular Medicine, Istituto Superiore di Santa, Rome, Italie
3. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Medical Faculty of Heinrich Heine, Dusseldorf, Allemagne
4. Génétique, CHU Saint Jacques, Besançon, France
5. Génétique, Hôpital Sud, Rennes, France
6. Génétique, Trillium Health Partners, Mississauga, Canada
7. Obstetric and Prenatal Diagnosis, Mount Sinai Hospital, Toronto, Canada
8. Pediatrics, Benioff Children's Hospital, San Francisco, Etats-Unis
9. Génétique, Institut für Humangenetik, ESSEN, Allemagne
10. Pediatrics, University Children's Hospital, Belgrade, Serbie
11. Génétique, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Rome, Italie
12. Génétique, Institut of Human Genetics, Magdeburg, Allemagne

Mots clefs : Noonan, RASopathies, RAS-MAPKinase, *RRAS2*

Résumé :

La voie de signalisation cellulaire RAS-MAPKinase régule un grand nombre de réponses aux cytokines, hormones et facteurs de croissance et la dérégulation constitutionnelle de cette voie est impliquée dans un certain nombre de pathologies connues sous le terme de RASopathies. La plus fréquente d'entre elles est le syndrome de Noonan qui se caractérise par l'association d'une dysmorphie caractéristique, de malformations congénitales dont les malformations cardiaques sont les plus fréquentes, d'un retard staturale, de troubles du neuro-développement et d'une prédisposition à certains cancers. Le syndrome de Noonan est très hétérogène sur le plan génétique car des mutations activatrices dans plus de 10 gènes peuvent en être à l'origine, tous ces gènes codent des protéines intervenant dans la voie RAS-MAPK. Il reste cependant près de 20% de patients ayant un phénotype compatible avec un syndrome de Noonan qui restent sans confirmation moléculaire ce qui laisse supposer que d'autres gènes encore inconnus sont à découvrir.

Par le biais de différentes approches, l'implication de mutations du gène *RRAS2* a récemment été rapportée chez un petit nombre de patients atteints de syndrome de Noonan. Le rôle de TC21, codé par le gène *RRAS2*, dans la voie de signalisation RAS-MAPKinase ainsi que son niveau d'homologie avec les autres protéines et gènes *RAS* laissent peu de doute sur son implication possible dans les RASopathies en cas de mutation activatrice mais de solides études biochimiques, cellulaires et un modèle animal ont pu le confirmer.

Huit patients et une famille ont été rapportés à ce jour et nous venons d'identifier un dixième cas. Les 6 mutations identifiées, dont 2 sont récurrentes chez des patients non apparentés, sont réparties sur 2 régions du gène. Les phénotypes observés sont variables allant d'une forme peu sévère (le cas familiale et une majorité de cas sporadiques), à une forme létale avec 2 cas de décès périnataux, 1 cas présente un phénotype intermédiaire entre syndrome de Noonan et Cardio-Facio-Cutané et 1 cas est qualifié de non classable.

La découverte de l'implication du gène *RRAS2* dans les RASopathies permet d'élargir le panel de gènes connus mais il ne représente qu'une petite proportion des patients atteints de syndrome de Noonan.

#19953 : Diagnostic incident de syndromes de Klinefelter et de Turner lors de l'analyse d'un panel de gènes de prédisposition aux cancers

Auteurs :

Lisa Golmard (1), Mathias Schwartz (1), Maud Blanluet (1), Jessica Le Gall (1), Virginie Moncoutier (1), Christelle Carrière (1), Jennifer Carrière (1), Nathalie Auger (2), Dominique Stoppa-Lyonnet (1, 3), Chrystelle Colas (1, 4), Michel Bahau (5), Emmanuelle Mouret-Fourme (4)

1. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
3. INSERM U830 et Université Paris Descartes, Institut Curie et Université Sorbonne Paris Cité, Paris, France
4. Service de Génétique, Institut Curie, Saint Cloud, France
5. Service de Génétique médicale, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

Mots clefs : données incidentes, séquençage haut débit, Klinefelter, Turner, dysgnosomie

Résumé :

La prévalence du syndrome de Klinefelter (SK) et du syndrome de Turner (ST) est estimée à 1/600 et 1/2500, respectivement. Ces syndromes sont caractérisés par des anomalies du nombre de chromosome X, avec un chromosome X supplémentaire chez les hommes atteints de SK (47, XXY) et un chromosome X en moins chez les femmes atteintes de ST (45, X). L'atteinte clinique principale commune à ces deux syndromes est l'infertilité. Il existe quelques signes cliniques évocateurs dès l'enfance, incluant une grande taille et des troubles cognitifs dans le SK, un retard statural dans le ST. Cependant, le diagnostic de ces syndromes reste souvent méconnu. Nous présentons ici deux cas de diagnostic incident, un SK et un ST, lors de l'analyse d'un panel de gènes de prédisposition aux cancers par séquençage haut débit.

Le premier cas est un homme de 68 ans, vu en consultation d'oncogénétique car il a été atteint d'un cancer du sein à 67 ans. Une indication d'analyse d'un panel de gènes de prédisposition au cancer du sein a donc été retenue. Aucun variant pathogène n'a été identifié, mais des sondes contrôles localisées sur le chromosome X dans le panel de gènes utilisé ont suggéré la présence d'un allèle X surnuméraire. Une MLPA a ensuite été réalisée, montrant un profil évocateur de deux chromosomes X et un chromosome Y. Ce résultat a été communiqué à l'oncogénéticien, qui avait noté chez ce patient une grande taille (1m82) et une gynécomastie, renforçant l'hypothèse de diagnostic incident de SK. Un caryotype de confirmation va être réalisé. Le SK est associé à un surrisque de cancer du sein ; cela pourrait donc être le facteur génétique causal de l'atteinte observée chez ce patient.

Le second cas est une femme de 69 ans, vue en consultation d'oncogénétique en raison d'antécédents personnel (cancer du sein à 54 ans) et familiaux de cancer du sein. L'analyse d'un panel de gènes de prédisposition au cancer du sein n'a pas identifié de variant pathogène, mais les sondes contrôles ont détecté une seule copie du chromosome X. Une MLPA a également détecté une copie du chromosome X, et une absence de chromosome Y. Un caryotype a permis de confirmer le diagnostic de ST, avec une formule chromosomique 45, X dans 80% des cellules analysées.

L'existence de sondes contrôles sur le chromosome X permet aujourd'hui l'identification de dysgnosomies par analyses de séquençage haut débit réalisées pour d'autres pathologies. Le diagnostic des syndromes de Klinefelter et de Turner est important car ils sont associés à des maladies auto-immunes ou métaboliques pour le SK, ainsi que des affections ORL, cardiaques, rénales et hépatiques pour le ST, nécessitant une prise en charge spécifique. Il est important que cette possibilité de diagnostic incident soit connue des généticiens biologistes et cliniciens afin de réaliser des analyses complémentaires lors de résultats inattendus sur le chromosome X et de mieux appréhender le suivi spécifique qui pourrait être proposé.

Pièce jointe : Abstract_Assises_Klinefelter_Turner_final_motscles.docx

#20476 : Résultats du séquençage d'exome chez 67 patients présentant une agénésie du corps calleux sans déficience intellectuelle**Auteurs :**

Charlotte Mansat (1), Solveig Heide (1), Stéphanie Valence (2), Myrtille Spentchian (1), Marie-Laure Moutard (2), Thierry Billette de Villemur (3), corinne mach (4), elodie Lejeune (4), valérie olin (4), claudie estrade (5), aurelie WAERNESSYCKLE (4), sabrina karagic (4), catherine garel (6), cyril Mignot (7), alexandra Afenjar (8), julien buratti (5), soizic Novo (9), anne-marie daras (9), marie Le meur (9), valerie layet (10), vassilis Tsatsaris (11), Elise Boucher (12), khoulou Zaafrane (13), Agnes Guet (14), Marie-Amélie ROCCHISANI (15), Sébastien Moutton (16), Mathieu Milh (17), magali Gorce (18), Marta SPODENKIEWICZ (19), Perrine VENOT (20), Geneviève QUENUM MIRAILLET (21), Sandra CHANTOT BASTARAUD (21), mathilde Nizon (22), Marie VINCENT (22), Claire Beneteau (22), Sandra Mercier (22), Isabelle Sabatier (23), Vincent Des Portes (23), Audrey Putoux (24), Laurent Guibaud (25), Laurent Mandelbrot (26), Alexandre Benachi (27), Jean-marie Jouannic (9), boris Keron (4), delphine Heron (1)

1. Service de génétique clinique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Service de neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service de neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, paris, France
4. UF de génomique du développement, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. UF de génomique du développement, Hôpital Pitié Salpêtrière, paris, France
6. Service de radiologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, paris, France
7. Service de génétique clinique, Hôpital Pitié Salpêtrière, paris, France
8. Service de génétique clinique, Hôpital Trousseau, paris, France
9. Service de médecine fœtale, Hôpital Trousseau, paris, France
10. Service de génétique clinique, Le Havre, Le Havre, France
11. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Cochin, Paris, France
12. Service de génétique clinique, Hôpital Besançon, Besançon, France
13. Service de génétique clinique, Hôpital Nice, Nice, France
14. Service de pédiatrie générale, Hôpital Louis Mourier, Paris, France
15. Médecine et réanimation néonatale, Hôpital Cochin, Paris, France
16. Service de génétique clinique, Hôpital Dijon, Dijon, France
17. Service de neuropédiatrie, Hôpital La Timone, Marseille, France
18. Service de génétique clinique, Hôpital Angers, Angers, France
19. Service de génétique clinique, Hôpital Reims, Reims, France
20. Service de neuropédiatrie, CHU Reims, Reims, France
21. Service de cytogénétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
22. Service de génétique clinique, CHU Nantes, Nantes, France
23. Service de neuropédiatrie, CH Bron, Bron, France
24. Service de génétique clinique, CH Bron, Bro., France
25. Service de radiologie, CH Bron, Bron, France
26. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Louis Mourier, Paris, France
27. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Antoine Bécclère, Paris, France

Mots clefs : Agénésie du corps calleux, déficience intellectuelle, exome

Résumé :

Les anomalies du corps calleux (ACC) sont des malformations cérébrales fréquentes, dont l'incidence est estimée à 1.8/10.000 dans la population générale et entre 230 et 600/10.000 chez des personnes présentant un trouble du neuro-développement.

400 gènes responsables d'ACC sont connus, correspondant dans la grande majorité des cas à des formes syndromiques associées à une déficience intellectuelle (DI). Très peu de gènes sont connus dans les ACC sans DI, alors que leur identification est un enjeu majeur pour le conseil génétique dans le cadre d'un diagnostic anténatal de cette malformation.

175 patients présentant une ACC sans DI ont été inclus dans une étude clinique et génétique visant à identifier de nouveaux gènes d'ACC isolée. Pour près de 70% des patients, le diagnostic d'ACC a été fait en période prénatale, confirmé après la naissance par une IRM cérébrale. La déficience intellectuelle a été exclue selon différents critères en fonction de l'âge : 35 patients ont moins de 5 ans et ne présentent pas de retard de développement psychomoteur, 56 patients de 5 ans ou plus ont bénéficié d'un bilan neuropsychologique révélant une efficacité intellectuelle dans les normes et 91 patients de plus de 5 ans n'ont pas eu de bilan neuropsychologique du fait d'un développement et d'une scolarité parfaitement normaux. L'âge moyen des patients est de 16,9 ans et le sexe ratio garçons/filles est de 1,87. Un séquençage d'exome a été réalisé chez 67 de ces patients.

Pour 18/67 patients (27%), un variant classe 4 ou 5 (probablement pathogène ou pathogène) a été mis en évidence. Des variants de signification inconnue (VOUS) dans des gènes connus, ou des gènes candidats ont pu être mis en évidence chez 18 autres patients (27%). 31 séquençages sont encore en cours.

Cette étude ouvre de nouvelles perspectives sur la génétique des ACC, et permettra d'améliorer le conseil prénatal de cette malformation

#19829 : Le polymorphisme I/D du gène de l'ACE dans la population générale de Constantine

Auteurs :

Karima Sifi (1), Sabah Hanachi (2), Salima Zekri (2), Yasmina Chafika Amrane (3), Karima Benmebarek (2), Noredine Abadi (4)

1. Laboratoire de recherche et de biologie moléculaire faculté de médecine université Salah Bounider Constantine, laboratoire de biochimie CHU Ben badis de Constantine Algérie, Faculté de médecine université Salah Bounider Constantine, Constantine, Algérie
2. Laboratoire de recherche et de biologie moléculaire faculté de médecine université Salah Bounider Constantine, laboratoire de biochimie CHU Ben badis de Constantine Algérie, Faculté de médecine université Salah Bounider Constantine, Constantine, Algérie
3. Laboratoire d'anatomie, Faculté de médecine université Salah Bounider Constantine 3, laboratoire d'anatomie et d'explorations fonctionnelles CHU de Constantine, Constantine, Algérie
4. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université Salah Bounider Constantine 3, CHU de Constantine, Constantine, Algérie

Mots clefs : Polymorphisme I/D , ACE, population générale de Constantine

Résumé :

Introduction

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) joue un rôle important dans la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II et la dégradation de la bradykinine, qui interviennent dans un large éventail de fonctions cellulaires dans différents tissus.

Il a été démontré que le niveau de production de l'ACE est sous le contrôle de certains polymorphismes génétiques de son gène et spécialement le polymorphisme I/D.

C'est ainsi que les génotypes I/D et I/I entraînent respectivement des concentrations plasmatiques intermédiaires et faibles d'ACE.

Ce polymorphisme est commun dans les populations générales de différentes régions du monde, notamment en Amérique, en Europe et en Asie. Cependant, les études menées dans les populations Africaines sont rares. Quand est-il de ce polymorphisme dans la population Algérienne et précisément celle de Constantine?

Les objectifs de notre étude étaient de :

- déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme I/D de l'ACE chez des sujets appartenant à la population générale de Constantine.
- comparer nos résultats à ceux établis dans d'autres populations du monde.

Patients et méthodes

Notre étude a porté sur 271 personnes de la population générale de Constantine dont 47.5% sont de sexe masculin et 52.5% de sexe féminin.

La recherche du polymorphisme I/D du gène de l'ACE a été réalisée par une simple PCR suivie d'une séparation des produits de PCR par une électrophorèse sur gel d'agarose

Résultats et discussion

Les fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène de l'ACE dans notre population d'étude étaient comme suit :

Cinquante huit pour cent (58.30 %) de la population sont hétérozygotes ID, 19.93% sont homozygotes DD et 21.77 % sont des homozygotes II. De plus nous avons remarqué que le génotype ID représente le double du génotype DD. Les fréquences des allèles I et D sont respectivement de 50.92% et 49.08 %.

Nos résultats , en général , sont en accord avec ceux des études françaises ,Iranienne , Serbes et Polonaises dans lesquelles les fréquences du génotype ID représente 1.5 à 2 fois plus le génotype DD. Et que la prévalence allélique D dans notre échantillon semble être similaire à celle des Caucasiens que des asiatiques.

Conclusion

Nos résultats sont en accord avec les données de la littérature.

Pièce jointe : Résumé.doc

#20253 : Le syndrome de Frank-ter Haar : aspect de « surcharge » et glaucome évolutif en lien avec une anomalie de la matrice extracellulaire ?**Auteurs :**

Benjamin Durand (1), Corinne Stoetzel (2), Elise Schaefer (1), Nadège Calmels (3), Sophie Scheidecker (4, 2), Nadine Kempf (3), Charlie De Melo (5), Anne-Sophie Guilbert (5), Dana Timbolschi (6), Leonardo Donato (6), Dominique Astruc (6, 5), Arnaud Sauer (7), Maria Cristina Antal (8), Hélène Dollfus (1, 2), Salima El Chehadeh (1)

1. Service de génétique médicale, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs » de l'Est, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Université de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
4. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
5. Service de réanimation pédiatrique spécialisée, Pôle médico-chirurgical de pédiatrie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
6. Service de pédiatrie II, Médecine et réanimation du nouveau-né, Pôle médico-chirurgical de pédiatrie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
7. Service d'ophtalmologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
8. Service de Pathologie, UF6349 Fœtopathologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France

Mots clefs : syndrome de Frank-ter Haar, SH3PXD2B, glaucome congénital, mégaloconée

Résumé :

Le syndrome de Frank-ter Haar (SFTH) est un syndrome rare de transmission autosomique récessive lié à des mutations du gène *SH3PXD2B*, impliqué dans la formation des podosomes et des invadopodes qui ont un rôle dans le remodelage de la matrice extracellulaire et dans la migration cellulaire. Ce syndrome se caractérise par une dysmorphie faciale comportant de manière variable une mégaloconée, un glaucome, un retard de développement, des anomalies squelettiques et cardiaques. Dans la littérature, 40 patients ont été décrits avec un diagnostic clinique de SFTH, des mutations dans le gène *SH3PXD2B* ayant été identifiées chez 20 d'entre eux. Nous présentons les données cliniques et moléculaires de ces 20 patients et décrivons une nouvelle patiente atteinte du SFTH. Cette dernière est née de parents consanguins et présentait un retard de croissance intra-utérin, une hypotonie, un glaucome congénital, un appendice caudal, une camptodactylie, une scoliose dorso-lombaire, une communication interventriculaire, et une dysmorphie faciale évocatrice. L'évolution clinique a été marquée par l'aggravation rapide du glaucome (réfractaire malgré 3 trabéculotomies), un épaississement des traits du visage avec majoration de la buphtalmie et une insuffisance respiratoire avec dépendance ventilatoire ayant entraîné son décès à l'âge de 4 mois et demi. Le diagnostic de SFTH a été confirmé par la mise en évidence chez la patiente d'un variant pathogène à l'état homozygote, c.969delG, p.(Arg324Glyfs*19), dans le gène *SH3PXD2B* (NM_001017995.2). Ce variant est présente à l'état hétérozygote chez chacun des parents. Il s'agit de la première description d'une forme sévère avec atteinte respiratoire létale non infectieuse, ce qui suggère une hétérogénéité clinique concernant cette maladie rare. Du fait du faible nombre de patients décrits dans la littérature et du fait que 2 des 3 patients porteurs du même variant pathogène que celui de notre patiente ont eu une évolution clinique favorable, nous n'avons pas été en mesure de mettre en évidence une corrélation génotype-phénotype. Par ailleurs, nous émettons l'hypothèse selon laquelle l'altération de la fonction des podosomes résultant des mutations du gène *SH3PXD2B* pourrait entraîner une réduction de la dégradation de la matrice extracellulaire et son accumulation dans l'espace extracellulaire, ce qui pourrait expliquer l'épaississement des traits du visage et le glaucome sévère et évolutif. L'étude d'autres cas est cependant nécessaire pour mieux caractériser le phénotype de ces patients et l'histoire naturelle de cette maladie rare.

Pièce jointe : Abstract Syndrome FTH Assises 2020-VF.docx

#20102 : Syndrome microdélétionnel 12q21 : 3 nouveaux cas et revue de la littérature

Auteurs :

Tanguy Niclass (1), Gwenaél Le Guyader (1), Claire Beneteau (2), Madeleine Joubert (3), Antonio Pizzuti (4), Maria Grazia Giuffrida (5), Laura Bernardini (5), Brigitte Gilbert-Dussardier (1), Frédéric Bilan (1), Matthieu Egloff (1)

1. Service de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Service d'anatomie pathologique et foetopathologie, CHU de Nantes, Nantes, France
4. Service de Génétique Médicale, Policlinico di Roma, Rome, Italie
5. Unité de cytogénétique, Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo, Italie

Résumé :

Les microdélétions de la région 12q21 sont des remaniements rares et non récurrents. A ce jour, seuls 9 patients porteurs de pertes de cette région ont été rapportés dans la littérature. Ces patients présentaient le plus souvent un retard global de développement psychomoteur, une déficience intellectuelle, un retard de croissance post-natal ainsi que des malformations cérébrales, rénales et cardiaques (Klein *et al.* 2005 ; Oliveira *et al.* 2015). Il a récemment été proposé que ces délétions correspondent à un « syndrome de délétion 12q21 » qui peut être suspecté cliniquement (McKenna *et al.* 2019).

Nous rapportons 3 nouveaux patients porteurs de délétions chevauchantes de la région 12q21, issus d'une collaboration franco-italienne. Une description clinique détaillée de ces patients permet de préciser les atteintes d'organes, les caractéristiques neurodéveloppementales et la dysmorphie faciale associés à ce syndrome. Par ailleurs, la caractérisation moléculaire par CGH array 180K des délétions portées par ces patients ainsi qu'une revue de la littérature permettent de réduire la région minimale critique précédemment proposée à un intervalle de 2,8 Mb en 12q21.2. Enfin, une analyse des gènes inclus dans cette région critique permet de proposer le gène *SYT1* comme gène majeur associé à ce syndrome.

#20428 : Retour d'expérience de demande d'exome en diagnostic prénatal et revue de la littérature.

Auteurs :

Camille Lemattre (1), Constance Wells (2), Emmanuelle Haquet (2), Detlef Trost (3), Aicha Boughalem (3), Jean-Marc Costa (3), Florent Fuchs (4), David Genevieve (1), Patricia Blanchet (1)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Service de Génétique Médicale, CHRU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CERBA, Montpellier, France
4. Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHRU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

Mots clefs : séquençage d'exome, diagnostic prénatal, syndrome polymalformatif

Résumé :

Exome et prénatal : A l'heure où le plan « France Médecine Génomique » est sur le point de nous permettre un accès facilité au génome, l'exome dans un contexte de grossesse reste rare et controversé. La littérature sur le sujet comporte de nombreux articles discutant des avantages et des inconvénients. La cohorte anglaise PAGE, publiée en début d'année, rapporte un taux diagnostique de 8,5% et souligne l'importance de la caractérisation phénotypique pré-test. Les collègues américains de Génétique Médicale et d'Obstétrique et Gynécologie ont publié fin 2018 des recommandations prônant l'exome dans l'arsenal diagnostique des malformations fœtales. En effet, sachant que les symptômes d'un syndrome apparaissent souvent en post-natal, l'exome semble plus pertinent que des panels de gènes. Nous proposons, à Montpellier, cette technologie aux couples dans un contexte de grossesse, après un caryotype et une CGH-array normaux.

Matériel et Méthode : Les exomes ont été réalisés en trio par l'entreprise privée CERBA. Les variants rapportés ne concernent que des variants classés « Pathogène » ou « Probablement pathogène » selon la classification ACMG et confirmés par une méthode alternative.

Résultats : Depuis le début de l'année 2019, nous avons envoyé 15 demandes pour des fœtus présentant soit un syndrome malformatif encore in utero (10 d'entre eux), soit après une interruption médicale de grossesse ou mort fœtale in utero dans un contexte de nouvelle grossesse. Nous avons obtenu 7 diagnostics permettant une information et un conseil génétiques appropriés (7/10 soit 70%, 5 sont encore en attente). Parmi ces résultats, 4 sont des variants de novo et 3 des anomalies de gènes impliqués dans des pathologies autosomiques récessives (dont 2/3 sont des variants homozygotes). Parmi les 10 demandes en cours de grossesse, nous avons eu 5 diagnostics (83%, 4 sont encore en attente). Pour 2 familles, un panel de gènes ciblés a permis l'identification de variants, non rendus par CERBA car considérés comme de signification inconnue. Le délai de réponse a été en moyenne de 2 mois. En cas de grossesse, il était raccourci à 1 mois. Concernant les données incidentales aucune n'a été trouvée chez les patientes ayant souhaité en être informées (40% des parents ont souhaité l'information).

Discussion : Le diagnostic prénatal génétique sur signes d'appel échographique reste à l'heure actuelle un challenge et l'étude chromosomique seule s'avère souvent insuffisante pour l'évaluation diagnostique et le conseil génétique. L'utilisation de l'exome reste marginale du fait des contraintes techniques et des longs délais et surtout controversée du fait de questions éthiques majeures que pose l'accès à l'ensemble du patrimoine génétique d'un individu en prénatal et des risques d'eugénisme. Cependant l'exome prénatal s'avère augmenter considérablement le taux de diagnostic génétique et donc constitue un apport indéniable pour l'amélioration de la prise en charge des familles.

Pièce jointe : Assises.docx

#20516 : Place de l'ACPA dans la caractérisation d'une délétion 7q interstitielle : à propos d'un cas

Auteurs :

Yasmine AYEB (1), Sarra DIMASSI (2), Hayet Ben HMIDA (3), Aida BANNOUR (2), Soumaya Mougou-Zerelli (2), Dorra H'MIDA (2), Kamel MONASTIRI (4), ALI SAAD (2)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie., sousse, Tunisie
3. Service de Néonatalogie, centre de Maternité et de néonatalogie de Monastir, Faculté de Médecine de Monastir, Tunisie., sousse, Tunisie
4. Service de Néonatalogie, centre de Maternité et de néonatalogie de Monastir, Faculté de Médecine de Monastir, Tunisie., monastir, Tunisie

Mots clefs : ACPA

Résumé :

Les délétions interstitielles du bras long du chromosome 7 sont des entités rares responsables de manifestations variables mais caractéristiques.

Nous rapportons dans ce travail, le cas d'un nourrisson de 6 mois ayant été adressé pour dysmorphie faciale et retard des acquisitions psychomotrices au laboratoire de Cytogénétique, de Génétique moléculaire et de biologie de la reproduction à l'Hôpital Farhat-Hached de Sousse, Tunisie.

A l'examen, il présentait une dysmorphie faciale manifeste incluant une microcéphalie, un hypertélorisme et des traits grossiers. Des malformations de l'appareil génito-urinaire à type d'hypospadias et de micropénis ont été également observées. Sur le plan neurologique, notre patient présentait une hypotonie centrale associée à une hypertonie périphérique.

Un caryotype en bande R de première intention a révélé un dérivé du chromosome 7 évoquant une délétion d'une partie du bras long du chromosome 7. L'hybridation *in-situ* fluorescente (FISH) par le biais de sondes télomériques 7q (*D7S427*) a montré la présence de deux exemplaires du télomère 7q confirmant par conséquent le caractère interstitiel de la délétion. Les limites de la délétion ont été par la suite caractérisées par ACPA (*AgilentHumanGenome CGH array kit 44K*) allant de la bande 7q35 à la bande 7q36.3.

Cette délétion de 10,7 Mb emporte plusieurs gènes impliqués dans le développement tel que le gène *CNTNAP2* crucial pour l'embryogenèse cérébrale, le gène *KCNH2* dont l'haplo-insuffisance serait responsable d'épilepsie et de troubles du rythme cardiaque mais également le gène *SHH* associé à l'holoprosencéphalie.

Dans l'état actuel de nos connaissances, l'haploinsuffisance de *SHH* a été communément rapportée lors des délétions 7q de type terminal, mais n'a jamais été décrite lors des délétions 7q de type interstitiel.

Un complément d'explorations radiologiques et biologiques est en cours pour étudier les conséquences physiopathologiques de la délétion de ces différents gènes.

#20009 : Hyperplasie congénitale des surrénales et syndrome d'Ehlers-Danlos : confirmation d'un syndrome des gènes contigus par MLPA et PCR.

Auteurs :

Jordan Teoli (1), Rita Menassa (1), Baptiste Fraissier (1), Véronique Tardy-Guidollet (1, 2)

1. UM Pathologies Endocriniennes Rénales Musculaires et Mucoviscidose, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Département de Biochimie et Biologie Moléculaire, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

Mots clefs : Hyperplasie Congénitale des Surrénales, CYP21A2, Syndrome d'Ehlers-Danlos, TNXB

Résumé :

Introduction :

L'Hyperplasie Congénitale des Surrénales (HCS) par déficit en 21-hydroxylase est due à des anomalies du gène *CYP21A2* situé dans le module RCCX (locus CMH-III, chromosome 6). Ce module *C4B*, *CYP21A2*, *TNXB* est dupliqué en tandem avec en amont *C4A* et les pseudogènes *CYP21A1P*, *TNXA*. *TNXA* et *TNXB* sont sur le brin d'ADN opposé. La forte homologie de séquence entre *CYP21A2*/*CYP21A1P* et *TNXB*/*TNXA* conduit à des recombinaisons et des larges lésions pathogènes (délétions ou conversions géniques). Le gène *TNXB* code pour la Tenascine X (TNX), protéine exprimée dans le tissu conjonctif et responsable en pathologie du syndrome d'Ehlers-Danlos (SED).

Les larges lésions du gène *CYP21A2* sont présentes sur 20% des allèles des patients atteints de forme classique (FC) ou non classique. Parmi les délétions, certaines englobent la totalité de *CYP21A2* et les derniers exons 35 à 44 de *TNXB*. Trois types de chimères *TNXA-TNXB* sont décrites (CAH-X-CH-1 à 3), CAH-X-CH-1 étant responsable d'haploinsuffisance avec diminution de TNX.

L'objectif a été de confirmer génétiquement le diagnostic de SED et d'évaluer la fréquence de CAH-X-CH1 dans notre cohorte de patients HCS avec une délétion de *CYP21A2*.

Matériel & Méthodes :

Une patiente atteinte de FC et hétérozygote composite pour 2 larges lésions de *CYP21A2* détectées par technique MLPA (Salsa P050C1-MRC Holland®) présente un SED (diminution de la force musculaire, hyperlaxité, subluxations, aorte dilatée, fuites mitrales). Une délétion de l'exon 35 de *TNXB* est découverte à la MLPA. Afin de confirmer la chimère CAH-X CH-1 avec délétion de 120 pb à la limite exon 35-intron 35 de *TNXB*, une amplification par PCR de cette chimère a été développée.

Un bilan des patients porteurs de larges lésions de *CYP21A2* a été réalisé afin de rechercher la chimère CAH-X-CH-1 responsable d'un possible SED.

Résultats :

L'amplification par PCR de la chimère CAH-X-CH-1 chez la patiente atteinte de SED a confirmé sa présence à l'état homozygote.

Nous avons repris les 121 patients HCS de notre cohorte porteurs de larges lésions de *CYP21A2* d'après l'analyse MLPA (kit P050C1). Nous avons identifié 27 allèles sur 140 (19.3%) avec une délétion de l'exon 35 de *TNXB* et la chimère CAH-X CH-1 a été confirmée par PCR.

Nous avons repris les 136 patients présentant une délétion de *CYP21A2* jusqu'à l'exon 8 étudiés avec l'ancien kit MLPA P050B ne ciblant pas l'exon 35 de *TNXB*. Nous avons confirmé par PCR que la chimère CAH-X-CH-1 était présente sur 51 des 142 allèles (35.9%).

Discussion / Conclusion :

Nous avons développé la recherche de la chimère CAH-X-CH-1 par MLPA et PCR chez des patients HCS porteurs de grandes délétions de *CYP21A2*. Nous l'avons détectée à ce jour sur seulement 76 allèles, résultat sous-estimé dans notre cohorte car la MLPA est utilisée depuis 2006. Les anciens patients doivent être testés pour établir sa fréquence parmi les HCS (entre 7 et 10% dans la littérature) et à la recherche de SED avec le problème du rendu des résultats.

#20477 : Un train peut en cacher un autre : du caryotype à l'exome

Auteurs :

Inès Harzallah (1), Caroline Schluth-Bolard (2), Véronique Adouard (1), Francis Ramond (1), Fabienne Prieur (3), Damien Sanlaville (2), Gaetan Lesca (4), Renaud Touraine (1)

1. Génétique, CHU-Hôpital Nord, SAINT ETIENNE cdx2, France
2. Cytogénétique, CHU de Lyon, Bron, France
3. Génétique, CHU-Hôpital Nord, Saint Etienne, France
4. Génétique, CHU de Lyon, Bron, France

Mots clefs : Dyspraxie, Translocation, délétion, chromosome 11, NGS, KMT2C

Résumé :

M. est née à 38 SA après une grossesse sans particularités. Elle est eutrophe mais présente une hypotonie axiale. Les parents sont d'origine algérienne, leurs grands parents étaient cousins germains. Son grand frère est en bonne santé. À la naissance, le bilan biologique est normal ainsi que l'électromyogramme. L'hypotonie axiale s'aggrave pendant des épisodes infectieux et s'accompagne de vomissements. Un retard de développement statural et moteur est noté. Après un long silence radio, elle revient en consultation à l'âge de 9 ans, elle présente une taille à -1.5 DS et encore des troubles du neurodéveloppement sans véritable déficience intellectuelle : des difficultés motrices, particulièrement des troubles de la marche, des troubles praxiques et visuo-spatiaux, des difficultés en logico-mathématique, mais également une dysmorphie faciale et une insuffisance vélaire. Une IRM cérébrale décèle une légère hypoplasie cérébelleuse.

Le caryotype montre une translocation t(4,7) d'allure équilibrée et une délétion interstitielle sur le chromosome 11, de novo. Une CGH définit plus précisément les bornes de cette délétion : 11q14.3-q22.3 (16,7Mb) ; cette anomalie est probablement pathogène. Mais les cas décrits sont plus sévères et différents de notre patiente.

Un séquençage haut débit cible les points de cassures de la translocation qui s'avère plus complexe et remanie deux gènes (*FGA*, *KMT2C*). *FGA* est responsable d'amylose rénale mais a une pénétrance incomplète : une surveillance rénale est préconisée. *KMT2C* est impliqué dans des déficiences intellectuelles et des troubles du spectre autistique. La cassure a eu lieu au niveau de l'intron 43. Le mécanisme de pathogénicité semble majoritairement être une perte de fonction en début de gène. Un RNA decay permettrait-il d'expliquer le phénotype atténué chez notre patiente ? Quoiqu'il en soit, les anomalies ne correspondent pas complètement à ce que présente notre patiente.

Une exploration de l'exome est réalisée pour découvrir l'ultime train caché : ?

#20158 : Association épilepsie pharmacorésistante et profil génétique : étude cas-témoins

Auteurs :

Malek CHOUCI (1), Hédia Klaa (2), Ilhem Ben youssef (3), Lamia HILA (4)

1. Département de génétique, Faculté de Médecine de Tunis Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie
2. Neuropédiatrie, Institut de Neurologie, tunis, Tunisie
3. Neuropédiatrie, Institut de Neurologie, Tunis, Tunisie
4. Département de Génétique, Faculté de Médecine de Tunis Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Épilepsie pharmaco-résistante, pharmacogénétique, gène ABCB1, polymorphismes.

Résumé :

Introduction: L'épilepsie fait partie des troubles neurologiques les plus courants. Les médicaments antiépileptiques (MAEs) sont des médicaments efficaces contre l'épilepsie. De récentes études menées dans des pays développés et en voie de développement ont montré qu'environ 70% des patients épileptiques, pouvaient être traités avec succès au moyen de MAEs avec une maîtrise complète des crises pendant plusieurs années. Cependant, environ 30% des patients ne répondent pas favorablement à ce traitement et deviennent résistants. Les polymorphismes génétiques peuvent être impliqués dans la variation de la réponse aux MAEs. Le gène ATP-Binding Cassette sous famille A membre 1 (*ABCB1*) est le gène le plus étudié dans le cadre de la pharmacogénétique de l'épilepsie,

Matériel et Méthodes: Nous avons effectué une approche de gène candidat pour étudier la contribution du profil génétique dans la survenue d'une résistance aux MAEs. L'étude de cas-témoins a été réalisée pour examiner l'implication du polymorphisme C3435T du gène *ABCB1*, dans la survenue de l'épilepsie pharmacorésistante (EPR) chez des patients Tunisiens.

Résultats: L'étude cas-témoins a montré une association entre le polymorphisme C3435T et le risque d'EPR avec des odds ratios très significatifs. La réponse aux MAEs semble être modulée par les génotypes TT et les allèles T dans notre population d'étude.

Conclusion: Ce travail a fourni des informations plus précises et fiables de l'effet du facteur considéré sur le risque de survenue de l'EPR. Ces données seront précieuses pour les études génétiques ultérieures ciblant le gène *ABCB1*, à réaliser sur de plus larges cohortes pour préciser ses interactions dans les différentes populations. Ce type d'études permettra à son tour de valider nos résultats légitimant la mise en place d'un criblage génétique dans la perspective d'une médecine personnalisée chez les patients tunisiens atteints d'épilepsie.

#20000 : Déficit constitutionnel isolé en facteur VII de la coagulation: à propos d'une observation

Auteurs :

Fatima Zahra OUTTALEB (1), Bouchra OUKKACHE (1)

1. Laboratoire d'hématologie. Unité d'exploration de l'hémostase, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Université Hassan II, Casablanca, Maroc

Mots clefs : troubles d'hémostase, facteur VII, déficit constitutionnel isolé.

Résumé :

Introduction :

Le facteur VII, ou proconvertine, est un facteur de coagulation, vitamine K-dépendant. Le déficit en facteur VII, ou maladie d'Alexander, est une affection très rare, se manifestant par un syndrome hémorragique d'expression variable pouvant aller de l'épistaxis minime à l'hémorragie cérébrale. Les objectifs de cette étude est de montrer l'importance du diagnostic positif de cette pathologie hémorragique constitutionnelle rare, et du dosage des facteurs de coagulation en cas d'anomalie du bilan de l'hémostase.

Patient et méthodes :

Nous rapportons l'observation clinico-biologique d'une patiente suivie au niveau du CHU Ibn Rochd de Casablanca depuis janvier 2019, pour un déficit constitutionnel isolé en facteur VII de la coagulation.

Observation :

Il s'agit de l'enfant A.I, âgée de 7 ans, deuxième d'une fratrie de deux enfants, sans notion de consanguinité, suivie au CHU Ibn Rochd depuis janvier 2019 pour troubles d'hémostase de découverte fortuite, au cours du bilan pré-opératoire d'une amygdalectomie, pour angines streptococciques à répétition. L'interrogatoire ne retrouve pas d'antécédents d'hémorragie spontanée ou post-traumatique, ni d'antécédents chirurgicaux, ou de prise médicamenteuse. L'examen clinique est revenu normal, avec absence de signes hémorragiques cutanéomuqueux, ou de signes de maladies auto-immunes.

Sur le plan biologique, le bilan d'hémostase, réalisé par méthode chronométrique sur l'automate Sysmex 5000, retrouve un temps de Quick allongé à 16.3 secondes, un taux de prothrombine bas à 62%, un temps de céphaline activé normal à 23 secondes. L'étude de l'hémostase a été complétée par la mise en évidence de l'absence d'anticorps anti-coagulants circulants, puis par le dosage chronométrique de l'activité enzymatique du facteur VII, qui a retrouvé un taux bas de proconvertine à 27% (taux normal entre 70 et 140%). Ceci a permis de retenir le diagnostic de déficit constitutionnel en facteur VII.

Le reste du bilan biologique de la patiente, ainsi que le bilan d'hémostase chez les parents sont revenus normaux.

Discussion :

Les déficits constitutionnels en facteur VII est une maladie rare de transmission autosomique récessive. Chez les patients homozygotes ou hétérozygotes composites, les manifestations hémorragiques peuvent être précoces, spontanées et sévères (hémorragies cérébro-méningées, hémarthroses), tardives et provoquées, voire totalement absentes. Certains patients peuvent, en effet, être totalement asymptomatiques avec un taux de FVII inférieur à 1 %. Ainsi, il n'y a le plus souvent aucune corrélation entre les taux de FVIIc résiduels et la symptomatologie clinique.

#19882 : Utilisation du score pLI lors de l'interprétation des examens pangénomiques: principaux pièges à éviter

Auteurs :

Alban Ziegler (1), David Goudenege (1), Estelle Colin (1), Dominique Bonneau (1)

1. Biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France

Mots clefs : exome,pLI,haploinsuffisance,gain de fonction,filtration

Résumé :

Le score pLI reflète la tolérance d'un gène donné à la perte de fonction sur la base du nombre de variants perte de fonction (variants d'épissage, codon stop prématuré, perte du codon initiateur ou variants décalant le cadre de lecture) pour un gène dans les bases de données de contrôle pondérées par la taille du gène et par la couverture de séquençage. Il est fréquemment utilisé pour prioriser les gènes candidats lors de l'analyse de l'exome entier ou des données du génome entier. Bien qu'extrêmement efficace pour diminuer le nombre de variants candidats, ce score s'il est mal utilisé peut amener à exclure à tort un authentique variant causal. Nous listerons les principaux pièges à prendre en compte (mode de transmission, type de pathologies, gène monoexonique) avant d'utiliser ce score et donnerons des illustrations concrètes de ses limites.

#19813 : Les microcephalies WDR62 sont toutes elles aussi graves que ce qui est documenté dans la littérature ?**Auteurs :**

Lyse RUAUD (1, 2), Séverine DRUNAT (3, 2), Anais ERNAULT (1), Yline CAPRI (1), Lionel VAN MALDERGEM (4, 5), Camille ENGEL (6, 4), Allan BAYAT (7), Stéphanie MOORTGAT (8), Christiane ZWEIER (9), Damien HAYE (10), Fabienne GIULIANO (10), Sandrine VAESSEN (11), Laurent SERVAIS (12), Emilio DI MARIA (13, 14), Francesca FARAVELLI (13), Juergen KOHLHASE (15), Thomas BAST (16), Najoua MILADI (17, 18), Aomar AGADR (19, 20), Stéphane AUVIN (21, 2), Alain VERLOES (1, 2), Sandrine PASSEMARD (1, 2)

1. Service de génétique clinique, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. , Université de Paris, Neurodiderot, Inserm, Paris, France
3. Service de génétique moléculaire, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. , Université de Bourgogne-Franche Comté, Besançon, France
5. Centre de génétique humaine, CHRU de Besançon, Besançon, France
6. Centre de Génétique Humaine, CHRU de Besançon, Besançon, France
7. Danish Epilepsy Centre, Filadelfia, Dianalund, Danemark
8. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et Génétique, Charleroi, Belgique
9. Institute of Human Genetics, Friedrich-Alexander-Universität Erlanger-Nürnberg, Erlangen, Allemagne
10. Service de génétique, CHRU Nice, Nice, France
11. Centre de génétique humaine, Hôpital de La Citadelle, CHU de Liège, Liège, Belgique
12. Neuromuscular Reference Center, Hôpital de La Citadelle, CHU de Liège, Liège, Belgique
13. Unit of Medical Genetics, Galliera Hospital, Gênes, Italie
14. Department of Health Sciences, University of Genova, Gênes, Italie
15. , SYNLAB Center for Human Genetics, Freiburg, Allemagne
16. , Children's Hospital, Epilepsy Center Kork, Kehl, Allemagne
17. Service de neurologie pédiatrique, Magreb Médical, Tunis, Tunisie
18. , Université de Tunis El Manar, Tunis, Tunisie
19. Service de pédiatrie, Hôpital militaire Mohamed V , Rabat, Maroc
20. , Faculté de médecine Mohamed V, Rabat, Maroc
21. Service de neurologie pédiatrique, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Mots clefs : MCPH, microcéphalie, WDR62, évaluation neurocognitive

Résumé :

La microcephalie vera ou microcéphalie primitive (MCPH) est caractérisée par une réduction du périmètre crânien inférieur ou égal à -2 déviations standard sans malformations extra neurologiques. Une déficience intellectuelle de sévérité variable et des anomalies cérébrales peuvent y être associées. MCPH2, dues à des mutations de *WDR62* est considérée comme une forme sévère et est la 2^{ème} cause la plus fréquente de MCPH après MCPH5, causée par les mutations *ASPM*. *WDR62*, localisé en 19q13.12, est composé de 32 exons et code pour une protéine à motifs répétés WD qui est impliquée dans la duplication du centriole et joue un rôle dans la prolifération et la migration neuronale. Les patients MCPH2 présentent un retard de développement avec un retard de langage constant et une déficience intellectuelle modérée à sévère. De multiples malformations cérébrales sont décrites (simplification girale, anomalie du corps calleux, polymicrogyrie, hétérotopies neuronales, lissencéphalie, schizencéphalie) et la présence d'épilepsie est fréquemment rapportée. Plus de 110 patients ont été rapportés dans la littérature avec des variants homozygotes et hétérozygotes composites de *WDR62* mais rares sont ceux qui ont été bien caractérisés sur le plan clinique et neurocognitif. Nous rapportons une dizaine de patients adressés pour microcéphalie et qui ont bénéficié d'évaluation neurologique, neurocognitive et d'une imagerie cérébrale. Des variants de *WDR62* ont été identifiés chez tous ces patients par séquençage nouvelle génération. Dans notre cohorte, la déficience intellectuelle et l'importance de la microcéphalie sont variables, mais de manière intéressante, certains patients ont des capacités cognitives proches des patients *ASPM* avec des indices de compréhension verbale à 50. Tous présentent des troubles du comportement et plusieurs patients développent secondairement une ataxie ce qui n'a encore jamais été rapporté. Plusieurs patients ont une imagerie cérébrale normale ou présentent seulement une simplification de la giration. L'épilepsie est inconstante mais pharmaco-sensible chez tous nos cas, sauf chez une patiente. Nous démontrons à travers l'analyse phénotypique fine de notre cohorte de patients microcéphales avec mutation *WDR62* qu'il se dégage deux grands groupes cliniques : un groupe de pronostic sévère, décrit dans la littérature, et un groupe de patients plus préservé que ce qui était attendu au regard de la littérature, car évaluable sur le plan neuropsychologique et relativement autonome dans la vie quotidienne.

#20350 : Dépistage de la trisomie 21 par analyse de l'ADN libre circulant : le regard du biologiste sur l'interprétation des résultats et la prestation de conseil

Auteurs :

Mélanie JIMENEZ (1), Charlotte AHN (1), Sarah CHAUSSARD (1), Nirusha YANTHISAN (1), Agathe PAUBEL (1)

1. GENETIQUE HUMAINE, Laboratoire ABO+ Groupe Laborizon, CHAMBRAY LES TOURS, France

Mots clefs : ADNlc, trisomie 21, prestation de conseil, interprétation résultat

Résumé :

Les indications et la place du dépistage de la trisomie 21 par analyse de l'ADN libre circulant (ADNlc) sont définies par l'arbre décisionnel du parcours de soin de la femme enceinte (publié au journal officiel du 20 décembre 2018), les recommandations de l'Haute Autorité de Santé (HAS)(17 mai 2017) et de l'Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF)(Version 3-2017).

Ils délimitent l'usage de ce test dépistage et la place du test diagnostique. Les nuances sur les indications présentes au travers des ces différents documents de références nous conduisent à discuter avec nos confrères de la stratégie de prise en charge la plus efficiente pour les patientes. L'utilisation de technologies ayant une certification CE-IVD (certification européenne apposée sur un test lorsque le résultat est garanti et sous la responsabilité du fabricant) ne nous affranchit pas d'une analyse rigoureuse et d'une interprétation des résultats obtenus. En effet, comme tout résultat d'analyse biologique, une confrontation à la clinique est indispensable.

A travers l'analyse rétrospective de nos données issues des 9 mois d'activités suivant la mise à la nomenclature de ce test, nous vous présentons notre retour d'expérience (notamment sur le traitement préanalytique des échantillons), l'évolution des pratiques des prescripteurs et des correspondants.

Nos discussions portent sur l'interprétation des résultats des prélèvements avec des clartés nucales supérieures au 95 ème percentile et inférieures à 3.5 mm, ou avec un risque de trisomie 21 évalués par le dosage des marqueurs sériques maternels supérieur à 1/50, ainsi que le problème des comptes rendus échographiques non conformes (absence de conclusion, compte rendu manuscrit non lisible, absence d'information sur la morphologie précoce...).

L'analyse des 1500 prélèvements des patientes dépistées sur cette période nous a permis de faire évoluer et de conforter nos pratiques, nos interprétations des résultats et les prestations de conseils aux prescripteurs.

Pièce jointe : résumé assise génétique janvier 2020.pdf

#20497 : Prévalence des variants pathogènes du gène FAN1 parmi plus de 5000 patients adressés au laboratoire de l'Institut Curie pour une suspicion de prédisposition héréditaire aux tumeurs colorectales, du sein et/ou de l'ovaire, ou d'autres cancers

Auteurs :

Alice Fievet (1), Emmanuelle Mouret-Fourme (2), Chrystelle Colas (3), Marine Le Mentec (3), Antoine De Pauw (3), Dominique Stoppa-Lyonnet (3), Bruno Buecher (3)

1. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. Service de Génétique, Institut Curie, Saint-Cloud, France
3. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : panel de gènes, FAN1, tumeurs colorectales

Résumé :

Malgré des avancées significatives dans le diagnostic des prédispositions héréditaires aux tumeurs colorectales, de nombreuses situations cliniques évocatrices d'une prédisposition génétique restent inexplicables. En 2015, le gène *FAN-1* (*FANCD2/FANCI-Associated Nuclease 1*) a été proposé comme gène majeur de prédisposition aux polypes et aux tumeurs colorectales (1).

Nous avons évalué et comparé la prévalence des variants pathogènes du gène *FAN1* chez des patients ayant bénéficié d'une analyse en tant que cas index au laboratoire de génétique constitutionnelle de l'Institut Curie entre mai 2015 et novembre 2017, en raison de leur histoire personnelle et/ou familiale évocatrice d'une prédisposition aux tumeurs digestives (Groupe 1), d'une prédisposition aux tumeurs mammaires ou ovariennes (Groupe 2) ou d'une autre prédisposition génétique (Groupe 3). L'analyse moléculaire réalisée en NGS chez ces patients a consisté à séquencer un panel de 56 gènes, incluant le gène *FAN1*, mais seuls ceux correspondant à l'indication ont été analysés et rendus au titre du diagnostic.

Les résultats concernant le gène *FAN1* ont été démasqués pour 5136 patients. La fréquence des porteurs d'un variant pathogène dans le Groupe 1 (2/436 (0,46%)) n'est pas significativement différente de celle des autres groupes (Groupes 2 : 14/3991 (0,35%) et 3 : 2/709 (0,28%)), ou de celle attendue en population générale (0,35% selon la base GNOMAD). Les 2 patients porteurs du Groupe 1 n'ont pas d'histoire personnelle de tumeur colorectale. Il n'est pas non plus rapporté de tumeurs colorectales chez leurs apparentés, ni chez les apparentés de premier ou second degré des 16 cas index des Groupes 2 et 3 porteurs hétérozygotes d'un variant pathogène du gène *FAN1*.

Les résultats de notre étude ne sont pas en faveur de l'implication des variants pathogènes du gène *FAN1* dans les prédispositions aux tumeurs colorectales qui demeurent aujourd'hui inexplicables. Ainsi, le Groupe Génétique et Cancer a décidé de ne pas inclure *FAN1* dans la récente recommandation du panel de gènes de prédisposition aux tumeurs digestives.

Référence : 1 - Segui N, et al. Gastroenterology 2015; 149: 563-566.

Pièce jointe : résumé FAN1 assises 2020 CC - ADP.docx

#20219 : Altération constitutionnelle du gène TCF4 et prédisposition au médulloblastome de groupe SHH : Le cas évocateur d'une patiente atteinte du syndrome de Pitt-Hopkins**Auteurs :**

Maud Blanluet (1), Julien Masliah-Planchon (2, 3), Irina Giurgea (4, 5), Franck Bielle (6), Elodie Girard (7), Stéphane Clemenceau (8), Christine Bourneix (2), Lydie Burglen (9), Diane Doummar (10), Audrey Rapinat (11), Badreddine Mohand Oumoussa (12), Olivier Ayrault (13, 14), Celio Pouponnot (13, 14), David Gentien (11), Gaelle Pierron (2, 3), Olivier Delattre (2, 15), François Doz (3, 16), Franck Bourdeaut (3, 15)

1. Unité de Génétique Constitutionnelle, Institut Curie, Paris, France
2. Unité de Génétique Somatique, Institut Curie, Paris, France
3. SIREDO Oncology Center, Institut Curie, Paris, France
4. UF de Génétique Moléculaire, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
5. Sorbonne Université, INSERM UMR S933, Paris, France
6. Département de neuropathologie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
7. INSERM U900, Institut Curie, Paris, France
8. Neurochirurgie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
9. Centre de Référence Maladies Rares « Malformations et Maladies Congénitales du Cervelet », et Département de Génétique, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
10. Département de neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
11. PSL Research University, Translational Research Department, Genomics platform, Institut Curie, Paris, France
12. Sorbonne Université, Inserm, UMS Omique, Plateforme Post-génomique de la Pitié-Salpêtrière, P3S, Paris, France
13. CNRS UMR 3347, INSERM U1021, Université Paris Sud, Université Paris-Saclay, Orsay, France
14. PSL Research University, CNRS UMR, INSERM, Institut Curie, Orsay, France
15. Inserm U830, PSL Université, Institut Curie, Paris, France
16. Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : Médulloblastome, Syndrome de Pitt-Hopkins, TCF4, prédisposition au cancer, Voie Sonic Hedgehog

Résumé :

Le médulloblastome (MB) est le cancer cérébral pédiatrique le plus répandu, mais il reste peu fréquent chez l'adulte. La grande majorité des MB est sporadique, bien que de rares cas soient associés à des altérations constitutionnelles de gènes comme *PTCH1*, *SUFU*, *APC* et *TP53*. D'autres gènes sont responsables d'une prédisposition au MB, y compris certains qui n'ont probablement pas été décrits jusqu'à présent en raison de la rareté des cas et/ou de la faible pénétrance. Nous décrivons ici pour la première fois, le cas d'une femme de 27 ans, atteinte du syndrome de Pitt-Hopkins (SPT) porteuse d'un variant pathogène constitutionnel hétérozygote du gène *TCF4*, qui a développé un MB de groupe Sonic Hedgehog (SHH). Le SPT est une maladie neurodéveloppementale rare due à des variants hétérozygotes perte de fonction du gène *TCF4*. Aucun sur-risque de cancer n'a été mis en évidence jusqu'à présent dans ce syndrome. Cependant, la perte de fonction d'un allèle du gène *TCF4* est un événement somatique récurrent dans les MB, observé exclusivement dans 20% des tumeurs adultes de groupe SHH. Les analyses *in vivo* et *in vitro* publiées par Hellwig et al., en Mars 2019, sont en faveur d'un rôle suppresseur de tumeur du gène *TCF4* pendant le développement cérébelleux. La survenue d'un MB de groupe SHH chez une patiente adulte atteinte de SPT soutient l'hypothèse d'une synergie potentielle entre la perte de fonction du gène *TCF4* et l'activation de la voie SHH dans les MB tardifs, et suggère l'existence d'une susceptibilité au MB de groupe SHH dans le SPT.

Pièce jointe : Abstract Assises MB et TCF4.docx

#20242 : ETUDE ANAMETAB Pro : Validation d'un panel dédié au diagnostic prénatal des anasarques non immuns d'origine métabolique

Auteurs :

Cécile Pagan (1), Magali Pettazzoni (1), Sophie Vasseur (2), Roseline Froissart (1), Jérôme Massardier (3), David Cheillan (1)

1. Service Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est, Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, BRON, France
2. Service Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est, Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, BRON, France

Mots clefs : Anasarque, maladies héréditaires du métabolisme, prénatal, signe d'appel échographiques,

Résumé :

Contexte : L'anasarque foeto-placentaire complique 1 grossesse sur 8000. Parmi les nombreuses étiologies possibles, les maladies héréditaires du métabolisme (MHM) représentent 1 à 5% des cas d'anasarques non immuns mais leur recherche n'est pas systématique, et leur incidence est probablement sous-estimée. Trois groupes de pathologies sont impliquées : les maladies de surcharge lysosomale pour lesquelles il existe des marqueurs biochimiques en anténatal pour la plupart d'entre elles, les anomalies de N-glycosylation des protéines dont aucun marqueur biochimique en anténatal n'est disponible et les anomalies de synthèse des stérols dont la recherche biochimique se résume au seul diagnostic du syndrome de Smith-Lemli-Opitz dans la majorité des cas. L'étude de gènes impliqués dans les anasarques d'origine métabolique a été développée en complément des études biochimiques, afin de pallier l'absence de biomarqueurs en anténatal le cas échéant, et ainsi améliorer l'exhaustivité de la recherche, sachant que dans 20% des anasarques aucune étiologie n'est retrouvée.

Matériel et Méthode : Un panel comprenant 98 gènes de MHM impliqués dans les anasarques non immuns a été développé, validé et appliqué de façon prospective chez 26 fœtus présentant des signes d'appels échographiques évocateurs. Le séquençage haut débit a été réalisé sur la plateforme Biogenet - HCL sur NextSeq 500 Illumina après capture par panel Roche - Nimbelgen. La majorité des fœtus ont bénéficié d'un bilan biochimique spécialisé recherchant la plupart des maladies de surcharge lysosomale pouvant se manifester *in utero*.

Résultats : Aucun variant possiblement pathogène n'a été retrouvé chez 18 fœtus / 26 dont le bilan biochimique était par ailleurs normal ; excluant l'implication des gènes de notre panel. Pour 8 /26 fœtus, au moins un variant de classe 3, 4 ou 5 a été retrouvé (gènes *NPC1*, *GLB1*, *SMPD1*, *DHCR7* et *APT6V1A*) et après expertise, seul un diagnostic de CDG syndrome de type CDG-ATP6V1A a été retenu (1/26).

Discussion : Le panel « anasarque » développé a permis d'élargir le spectre des MHM recherchées devant des signes d'appels échographiques. Il a permis le diagnostic d'un CDG syndrome jusqu'alors peu accessible avec les approches biochimiques standard. La valeur prédictive négative semble être intéressante, et le nombre de variants de signification inconnue est réduit selon notre expérience.

Perspectives : Pour confirmer l'intérêt de notre panel « anasarque », nous proposons de participer à une étude prospective multicentrique nationale, l'étude ANAMETAB PRO, visant à rechercher ces pathologies de façon systématique chez 100 fœtus présentant un anasarque non immun grâce à ce nouvel outil.

#20453 : Différents taux d'hétéroplasmie affectent la détection des mutations d'ADN mitochondrial dans le sang

Auteurs :

Manel Guirat (1), Zara Assouline (1), Cyril Gitiaux (2), Isabelle Desguerre (2), Arnold Munnich (3), Jean-Paul Bonnefont (1), Julie Steffann (1), Giulia Barcia (1)

1. Service de génétique moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Service de neurologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Service de génétique clinique, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : ADNmt, Hétéroplasmie, Sang, Tissus atteints

Résumé :

L'étude de l'ADN mitochondrial (ADNmt) est réalisée par la plupart des laboratoires sur l'ADN extrait de leucocytes. Cependant, les mutations de l'ADNmt peuvent être présentes que dans les tissus atteints et rester indétectables dans le sang en raison de l'hétéroplasmie.

Nous décrivons ici un garçon de 13 ans, sans aucun antécédent familial, présentant une myopathie avec faiblesse musculaire et amyotrophie diffuse depuis l'âge de 8 ans. L'acide lactique dans le sang était élevé. Le dosage de la chaîne respiratoire sur la biopsie musculaire a révélé un déficit du complexe IV. L'électromyographie a montré un profil myopathique.

L'analyse de l'ADN mitochondrial par séquençage à haut débit sur l'ADN extrait de leucocytes a mis en évidence la mutation m.586G>A du gène *MT-TF* à un niveau très faible d'hétéroplasmie (4%) juste au-dessus du seuil de bruit de fond (2%). La mutation m.586G>A était présente avec un taux de 90% dans l'ADN extrait du muscle et de 40% dans l'ADN extrait de cellules urinaires. Cette mutation a déjà été rapportée chez une patiente souffrant de surdité et d'un syndrome parkinsonien.

Ce rapport élargie le phénotype associé à la mutation m.586G>A de l'ADNmt *MT-TF* et souligne que l'étude du tissu atteint est cruciale pour la détection correcte des mutations de l'ADNmt.

Pièce jointe : assises 2020-ADNmt.docx

#19952 : Manifestations psychiatriques dans le syndrome de l'X fragile : à propos de 3 cas

Auteurs :

Souhir Guidara (1), Houweyda Jilani (1), Imen Rjeb (1), Syrine Hizem (1), Yasmina Elaribi (1), Hèla Sassi (1), Yosra Lajmi (1), Ahlem Belhaj (2), Lamia Ben Jomaa (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires , hopital Mongi Slim , Tunis, Tunisie

2. service de pédopsychiatrie, hopital Mongi Slim , Tunis, Tunisie

Mots clefs : X fra,FMR1,autisme

Résumé :**Introduction :**

Le syndrome de l'X fragile est une maladie génétique rare associée à un handicap intellectuel léger à sévère qui peut être associé à des troubles du comportement et à des signes physiques caractéristiques. Il est dû à l'inhibition de la transcription du gène *FMR1* (Xq27.3), causée par l'expansion de la répétition de triplets (CGG)n dans sa région 5' non traduite et les méthylations qui s'en suivent. Rarement, ce syndrome est dû à des mutations ponctuelles au niveau de *FMR1*.

Objectif :

Notre objectif est de rapporter les différentes présentations cliniques du syndrome de l'X fragile essentiellement les troubles psychiatriques.

Observation :

Nous rapportons les observations de 3 enfants âgés entre 2 et 6 ans, ayant consulté au service des maladies congénitales et héréditaires de l'hôpital Mongi Slim. Le 1^{er} cas nous a été adressé pour une dysmorphie faciale associée à un retard global du développement et à des traits autistiques (stéréotypies gestuelles et verbales, mauvaise intégration sociale). Le 2^{ème} cas a été adressé pour des troubles isolés du spectre autistique. Le 3^{ème} enfant avait un retard cognitif et des troubles du langage. A l'interrogatoire, tous nos patients étaient issus d'un mariage non consanguin. Ils avaient tous une histoire de ménopause précoce du côté maternel. Le 3^{ème} patient avait des antécédents familiaux d' handicap intellectuel (cousins maternels). A l'examen, la dysmorphie faciale n'était pas constante. Le caryotype standard était normal chez tous nos patients. L'étude moléculaire du gène *FMR1* a permis de confirmer le diagnostic du syndrome de l'X fragile.

Conclusion :

Le syndrome de l'X fragile doit être évoqué en présence de manifestation neuropsychiatrique , essentiellement devant une histoire familiale de ménopause précoce et de cas similaires du côté maternel. L'absence d'une dysmorphie évocatrice ne doit pas éliminer le diagnostic.

Pièce jointe : Syndrome de l'X fra.docx

#20079 : Phénotype atypique d'un patient présentant un syndrome de Bardet-Biedl type 4

Auteurs :

Natacha Sloboda (1), Laëtitia Lambert (1), Viorica Ciorna (2), Ange-Line Bruel (3), Frédéric Tran Mau Them (3), Vladimir Gomola (4), Jean-Louis Lemelle (4), Olivier Klein (5), Marie-Christine Camoin-Schweitzer (6), Marie Magnavacca (6), Marie-Laure Eszto (7), Carole Legagneur (8), Christophe Philippe (3), Céline Bonnet (9), Bruno Leheup (1)

1. Service de Génétique Clinique, CHRU Nancy, Nancy, France
2. Service de Génétique Clinique, CHR Metz-Thionville, Metz, France
3. Laboratoire d'innovation en diagnostic génomique des maladies rares, UF6254, Plateforme de Biologie Hospitalo-Universitaire, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Service de Chirurgie Infantile Viscérale, CHRU Nancy, Nancy, France
5. Service de Neurochirurgie Pédiatrique, CHRU Nancy, Nancy, France
6. Secteur pédiatrique de Néphrologie-Dialyse-Transplantation rénale, CHRU Nancy, Nancy, France
7. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHR Metz-Thionville, Metz, France
8. Unité d'Endocrinologie et de Diabétologie pédiatrique, CHRU Nancy, Nancy, France
9. Laboratoire de Génétique, CHRU Nancy, Nancy, France

Mots clefs : Syndrome de Bardet-Biedl, imperforation anale, ambiguïté sexuelle

Résumé :

Nous présentons ici un cas de syndrome polymalformatif de découverte anténatale, avec comme signes d'appel échographiques : des gros reins hyperéchogènes, avec différenciation corticomédullaire normale, une présomption de communication interventriculaire (CIV) et une hexadactylie. À la naissance, l'enfant présentait une dysraphie spinale localisée à la région lombo-sacrée, un excès de peau nucale, une hexadactylie post-axiale de la main droite et du pied gauche, une cardiopathie de type CIV sous-valvulaire, une dysmorphie avec macrostomie à lèvre fine et des oreilles d'aspect faunesque. Une imperforation anale et des malformations des organes génitaux ont également été retrouvées, dans un contexte de caryotype normal 46,XY. Une échographie pelvienne néonatale a trouvé la présence de testicules, sans visualisation de structure évoquant un utérus. Le bilan hormonal effectué à 2 jours de vie a montré des sécrétions normales pour un nouveau-né de sexe masculin. Une analyse par séquençage haut débit de l'exome a révélé une délétion homozygote emportant les exons 4 à 6 (NM_033028) du gène *BBS4*. Il s'agit d'une variation pathogène déjà rapportée dans la littérature. En théorie, ce CNV entraîne une délétion en phase de 83 aa affectant le domaine TRP de la protéine BBS4.

La particularité de ce patient est la présence d'anomalies génito-anales, inhabituellement rapportées dans les cas de BBS avec caryotype 46,XY. Nous discutons du chevauchement clinique de ce tableau avec différentes ciliopathies et d'autres syndromes. La description d'autres cas de BBS ou de ciliopathies présentant le même type d'anomalies génitales pourrait être utile pour préciser le mécanisme qui a conduit à cette malformation sexuelle chez notre patient.

Pièce jointe : BBS4 - Sloboda N. -Abstract Tours v3 - français.docx

#20413 : Le Centre National de Ressources Psychologiques de la Filière Cardiogen : retour d'expérience

Auteurs :

Marie-Lise Babonneau (1, 2), Claire-Cécile Michon (1, 2), Vincent Probst (3, 4), Philippe Chevalier (5, 6), Damien Bonnet (7, 8), Philippe Charron (1, 9)

1. Filière Nationale de Santé Cardiogen, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Centre de Référence des Maladies Rythmiques Cardiaques, CHU Nantes, Nantes, France
4. Filière Nationale de Santé Cardiogen, CHU Nantes, Nantes, France
5. Service de Rythmologie Cardiaque, Hôpital Louis Pradel, HCL, Lyon, France
6. Filière Nationale de Santé Cardiogen, Hôpital Louis Pradel, HCL, Lyon, France
7. Service de Cardiologie Pédiatrique et Congénitale, Hôpital Necker, Paris, France
8. Filière Nationale de Santé Cardiogen, Hôpital Necker, Paris, France
9. Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héritaires, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Centre National de Ressources Psychologiques, Cardiogénétique, Accompagnement psychologique, Orientation, Réseau, Conseil

Résumé :

Contexte : La Filière Nationale de Santé Cardiogen a souhaité contribuer à faire reconnaître l'importance de la dimension psychique dans les maladies cardiaques héréditaires ou rares (MCH/R), à concourir à son intégration dans la prise en charge globale et à œuvrer à l'égalité d'accès à une consultation psychologique sur l'ensemble du territoire. Mis en place en janvier 2015, le Centre National de Ressources Psychologiques (CNRP) coordonné par 2 psychologues, a permis, depuis 4 ans, de réduire considérablement les inégalités territoriales d'accès à une consultation avec un psychologue pour les personnes concernées. Les psychologues coordinatrices proposent en effet des consultations téléphoniques pour accueillir les demandes et orienter au mieux vers les réseaux libéral et hospitalier. Pour les aider dans cette mission, elles développent un annuaire de psychologues et psychiatres libéraux comportant à ce jour près de 700 correspondants sur l'ensemble du territoire.

Objectifs : Les objectifs du CNRP sont : 1- de compléter les dispositifs existants par le développement et la coordination d'un réseau national de psychologues et psychiatres sensibilisés aux problématiques des MCH/R, 2- de faciliter l'accès de tous à une aide psychologique de proximité, rapide et adaptée aux problématiques spécifiques des MCH/R, 3- de contribuer à l'harmonisation des pratiques des psychologues au sein des consultations spécialisées.

Missions : Les missions du CNRP sont : 1- le développement d'un annuaire national de psychologues et de psychiatres sensibilisés aux problématiques des MCH/R, 2- l'orientation des personnes concernées vers l'un de ces professionnels de proximité, 3- la formation des professionnels de santé et des acteurs des associations, 4- l'appui à tout professionnel de terrain ou membres des associations confrontés à une situation complexe, 5- la coordination de groupes de travail des psychologues des consultations spécialisées (services de cardiologie, génétique, ...) pour contribuer à l'harmonisation des pratiques, 6- l'aide à l'élaboration de journées d'information, la rédaction de documents ou la mise en place de projets de recherche.

Evolution : Depuis sa création, les demandes adressées au CNRP ont été multipliées par 4 entre 2015 et 2019. En 2019, ces 200 demandes émanent majoritairement des patients et de leurs proches, puis des associations et des professionnels de santé. Leur objet est multiple, et avec le temps évolue plus particulièrement vers l'orientation vers un psychologue, le debriefing de situations de crise, la conception de formations (de professionnels et associatifs).

Conclusion : Après 4 ans d'activités, il apparaît que le nombre et la nature des demandes adressées au CNRP confirment l'intérêt et la pertinence de l'existence d'un tel centre. A ce jour, plusieurs Filières sollicitent les conseils des psychologues coordinatrices et soulèvent la question de déployer ce type de dispositif pour d'autres pathologies.

#20269 : Syndrome de Joubert et anomalies ciliaires causés par des mutations de *RNU4ATAC***Auteurs :**

Deepak KHATRI (1), Audrey PUTOUX (1, 2), Sophie KALTENBACH (3, 4), Sarah GROTTTO (5), Caroline MICHOT (6), Alicia BESSON (1), Audric COLOGNE (7, 1), Clara BENOIT-PILVEN (1, 7), Vincent LACROIX (7), Anne-Louise LEUTENEGGER (8), Tania ATTE-BITACH (9), Sylvie MAZOYER (1), Marion DELOUS (1), Patrick EDERY (1, 2)

1. Equipe Génétique du Neurodéveloppement, Centre de Recherches en Neurosciences de Lyon, UMR5292 CNRS, Inserm U1028, Université Lyon1, Bron, France
2. Service de Génétique, Centre de référence des Anomalies du Développement, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Département d'histologie, embryologie et cytogénétique, Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
4. Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
5. Service de Génétique Clinique, Maternité Port-Royal, APHP, Paris, France
6. Service de Génétique Médicale, Maternité Port-Royal, APHP, Paris, France
7. INRIA Erable, UMR 5558 CNRS LBBE, Université de Lyon, Villeurbanne, France
8. U1141 Inserm, Université de Paris, NeuroDiderot, Paris, France
9. Département d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : *RNU4ATAC*, Epissage mineur, Syndrome de Joubert, ciliopathie

Résumé :

Notre équipe et d'autres ont montré que des mutations bialléliques du gène *RNU4ATAC* sont associées au nanisme microcéphalique de type 1 (MOPD1) ou syndrome de Taybi-Linder (TALS, OMIM 210710), caractérisé par des malformations cérébrales sévères, un nanisme, une dysmorphie et un décès précoce ainsi qu'à deux autres syndromes moins sévères, le syndrome de Roifman (RS, OMIM 616651) et le syndrome de Lowry-Wood (LWS, OMIM 226960). *RNU4ATAC* est transcrit en un petit ARN nucléaire non codant, l'ARNsn U4atac, qui est un composant du spliceosome mineur impliqué dans l'épissage de moins de 1% des introns du génome, les introns U12 ou mineurs (environ 850 introns U12 répartis dans 700 gènes). La physiopathologie des malformations observées dans ces syndromes et du décès précoce des patients TALS reste inconnue.

Dans ce travail, nous rapportons une mutation homozygote de *RNU4ATAC*, n.16G > A précédemment identifiée chez plusieurs patients Roifman, chez deux patients non apparentés présentant un syndrome de Joubert (JBTS) avec une agénésie/hypoplasie du vermis cérébelleux, un signe de la dent molaire sur l'IRM et d'autres signes appartenant soit au spectre du syndrome de Roifman (retard de croissance, déficit immunitaire, hépatomégalie), soit au spectre des ciliopathies (polydactylie).

De façon concordante, une analyse des termes GO des gènes comportant un intron U12 montre un enrichissement en gènes codant des composants du centrosome/cil primaire et nos études transcriptomiques effectuées dans des fibroblastes dérivés de patients TALS ont montré un niveau élevé de rétention d'introns U12 dans les gènes ciliaires. De plus, la perte de fonction d'u4atac médiée par des morpholinos (MO) chez le poisson-zèbre est associée à des anomalies sévères du développement incluant une courbure de l'axe du corps, des kystes pronéphriques et des défauts des otolithes, tous caractéristiques de défauts ciliaires chez le poisson-zèbre, ainsi qu'à une microcéphalie, des hémorragies cérébrales et un œdème cardiaque. Nous avons observé que la fréquence et la sévérité de ces phénotypes dépendent de la dose de MO injectés et sont corrélées au niveau de rétention des introns U12 (mais pas U2) testés. Le phénotype des morphants et l'épissage d'introns U12 de gènes ciliaires sont restaurés par la co-injection du snRNA U4atac humain sauvage, mais pas ou peu par la co-injection des snRNA porteurs des mutations TALS n.51G > A et n.55G > A ou JBTS/RS n.16G > A. L'ensemble de ces résultats confirme qu'un phénotype ciliaire, dont le syndrome de Joubert, peuvent être causés par des mutations du gène *RNU4ATAC*.

Pièce jointe : Abstract Cil_final.docx

#20393 : Conseil génétique dans la maladie de Pompe : 2 cas.

Auteurs :

sarah berrada (1), hossam hilal elidrisi (2), Jabran Ghizlan (1), nadia Serbati (1), fatem zahera Outattaleb (1), Hind Dehbi (1, 2)

1. service de génétique médical , CHU Casablanca, casablanca, Maroc

2. laboratoire de Pathologie Cellulaire et moléculaire. Faculté de médecine et pharmacie Casablanca., Faculté de Médecine et de pharmacie Casablanca, casablanca, Maroc

Mots clefs : maladie de Pompe, diagnostique, conseil génétique.

Résumé :

La maladie de Pompe, ou glycogénose de type II, est une maladie génétique rare de transmission autosomique récessive, due à un défaut d'activité de l'hydrolase lysosomal (GAA), elle est de symptomatologie variable regroupant, une cardiomyopathie hypertrophique, une faiblesse musculaire, et une altération de la fonction respiratoire. Il existe 3 formes, forme adulte, adolescent, et infantile qui est la plus sévère et qui engage le pronostic vital.

Notre travail est une étude rétrospective intéressent 2 familles ayant des enfants décédés suite à la maladie de pompe, suivies en consultation de génétique médicale du CHU Casablanca. Le but de notre étude est de décrire le profil clinique, par acinique et génétique de la maladie de Pompe.

Nous rapportant le cas de 2 familles, avec un mariage consanguin de 1^{er} degré, adressées pour un décès à un âge jeune de leurs enfants suite à la maladie de pompe. La première famille le décès de 2 enfants, dans la 2eme famille décès d'une fille unique. Dans le même contexte clinique, ils présentent, une cardiomyopathie hypertrophie et des infections respiratoire a répétition, le diagnostic a été confirmé par un dosage de alpha glucosidase acide sur le sang, une étude génétique n'a pas pu être réalisé vue le décès précoce des enfants. Un conseil génétique est réalisé chez les 2 familles.

Un diagnostique précoce dès les premiers symptômes, et une détermination du statut du CRIM (cross réactive immune matériel) en urgence est préconisée avant toute prise en charge, ayant un intérêt pronostique et pouvant conditionner les indications thérapeutiques par des immunosuppresseurs transitoire. Un conseil génétique chez la famille doit être réalisé, pour le meilleur des enfants à venir.

Mots clés : maladie de pompe, diagnostique, conseil génétique.

Pièce jointe : Conseil génétique dans la maladie de Pompe sur 2 cas.docx

#20121 : Bilan cuprique et maladie de Wilson : résultats de deux années de dosage

Auteurs :

Nadia GAGI (1), BOUCHRA OUAHDI (1), WISSEM CHERIFI (1), Lyèce YARGUI (1)

1. , CHU Mustapha d'Alger, Alger, France

Mots clefs : Maladie de Wilson, Céruloplasmine, Cuivre sanguin, cuivre urinaire, ATP7B.

Résumé :

La maladie de Wilson (OMIM 277900) ou dégénérescence hépato-lenticulaire est une toxicose cuprique autosomique récessive, résultant d'une mutation du gène du transporteur hépatique du cuivre : l'ATP 7B.

Elle se caractérise par une accumulation tissulaire du cuivre libre, essentiellement hépatique, cérébrale et péricornéenne.

Son diagnostic est souvent difficile car repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques (céruloplasmine, cuivre sanguin et cuivre urinaire) et radiologiques. L'analyse moléculaire du gène ATP7B est actuellement le test de référence. Cependant le principal écueil du diagnostic génétique est le nombre important de mutations et de polymorphismes répertoriés.

Le cuivre échangeable sérique (CuEXC) et le calcul du REC [ratio CuEXC / Cuivre sérique total (CuT)] ont récemment été décrits comme des marqueurs prometteurs pour le diagnostic et le suivi thérapeutique des malades Wilsoniens.

Par ce travail, nous présentons les résultats de deux années de dosage effectué dans notre service.

Pièce jointe : Bilan cuprique et maladie de Wilson.docx

#20003 : La signature de la méthylation de RASSF1A et HIN-1 dans le cancer du sein chez la population Tunisienne**Auteurs :**

Hayet Radia Zeggar (1), Rabab Touati Touati (1), Khaled Rahal (2), Olfa Adouni (3), Ilhem Bettaieb (3), Aida Goucha (3), Selma Kamoun (3), Maher Kharrrat (1)

1. , University of Tunis El Manar, Faculty of Medicine of Tunis, LR99ES10 Human Genetics Laboratory, Tunis, Tunisia, Tunis, Tunisie

2. , Service de Chirurgie Carcinologique, Institut Salah Azaiz de Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie

3. , Department of Immunohistocytology, Salah Azaiz Cancer Institute, Tunis, Tunisia, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Cancer du sein, méthylation, HIN-1, RASSF1A, MS-HRM

Résumé :

Les modifications épigénétiques ont été présentées comme étant impliquées dans la carcinogenèse mammaire, première cause de décès par le cancer chez la femme. Dans ce contexte, la méthylation de l'ADN constitue un axe de recherche prometteur puisqu'il a été démontré que ce mécanisme surviendrait tôt dans le développement du cancer et jouerait ainsi un rôle tout aussi important que les modifications génétiques.

L'objectif de cette étude était de déterminer le statut de méthylation propre aux promoteurs de deux gènes, HIN-1 et RASSF1A, et d'associer leurs associations avec les caractéristiques clinico-pathologiques chez des patientes tunisiennes atteintes d'un cancer du sein sporadique.

L'analyse de la méthylation a été effectuée au niveau des tissus tumoraux ainsi qu'au niveau des tissus adjacents correspondants dans une cohorte de 52 patientes Tunisiennes, moyennant la technique semi-quantitative « Methylation-Sensitive High ResolutionMelting » (MS-HRM). Afin d'améliorer les résultats obtenus et obtenir un pourcentage exact de méthylation, nous avons utilisé la fonction d'interpolation polynomiales « polyfit » du logiciel Matlab (The MathWorks, Inc, USA).

Les taux de méthylation identifiés, de HIN-1 et de RASSF1A, étaient significativement plus élevés dans les tissus tumoraux que dans les tissus adjacents. La méthylation de HIN-1 a montré une forte corrélation entre le tissu tumoral et le tissu adjacent (coefficient de Pearson, $\rho = 0,636$, $p < 0,01$). Tandis que la méthylation de RASSF1A a montré une corrélation moyenne entre le tissu tumoral et le tissu adjacent (coefficient de Pearson, $\rho = 0,439$, $p < 0,01$).

L'analyse de l'association entre la méthylation et les données cliniques ont révélé que de l'hyperméthylation du gène HIN-1 était statistiquement associée au récepteur de la progestérone ($p=0,007$).

Cette étude illustre le potentiel de notre méthode afin de déterminer le profil de méthylation de l'ADN par MS-HRM, qui présente l'avantage d'être rapide, fiable, et relativement peu coûteuse. Nos résultats suggèrent que la méthylation des gènes HIN1 et RASSF1A pourrait avoir un intérêt comme biomarqueur diagnostique du cancer du sein.

Pièce jointe : Hayet Zeggar et Al.docx

#20365 : Anomalies de développement pulmonaire et mutations bi-alléliques de *SFTPB*

Auteurs :

Nadia Nathan (1), Valérie Nau (2), Tifenn Desroziers (3), Mélanie Héry (3), Emilie Filhol Blin (1), Jérôme Rambaud (4), Chiara Sileo (5), Aurore Coulomb l'Hermine (6), Florence Dastot le Moal (2), Philippe Duquesnoy (2), Annick Clement (1), Serge Amselem (2), Marie Legendre (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. Unité Inserm UMR_S933 Maladies génétiques d'expression pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Service de réanimation pédiatrique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
5. Service de radiologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
6. Service d'Anatomopathologie, Inserm et APHP Hôpital Trousseau, Paris, France

Mots clefs : Surfactant, développement pulmonaire, génétique moléculaire

Résumé :

Introduction

Les mutations bi-alléliques de *SFTPB* sont généralement associées à des détresses respiratoires néonatale (DRNN) sévères chez des enfants nés à terme. L'imagerie thoracique montre des poumons d'emblée blancs, et l'analyse histologique pulmonaire retrouve typiquement des cloisons alvéolaires épaissies associées à un certain degré de protéinose alvéolaire. Nous rapportons l'observation d'un nouveau-né à terme ayant présenté une DRNN par hypertension pulmonaire supra-systémique sévère et résistante rapidement fatale. Une première enfant du couple, non consanguin, était décédée à J4 d'une DRNN en rapport avec une dysplasie alvéolo-capillaire (DAC) sans mésalignement des veines pulmonaires (MVP). Elle présentait par ailleurs une fente palatine. Le caryotype et la CGH array étaient normaux.

Investigations

La radiographie thoracique initiale était normale. L'échographie cardiaque a par ailleurs mis en évidence un double arc aortique. La biopsie pulmonaire a montré des parois alvéolaires rigides, sans protéinose alvéolaire, avec des artères hypoplasiques et la persistance d'un lit capillaire compatibles avec une DAC sans MVP. Sur la base de ces éléments et des malformations associées chez les 2 enfants atteints, une mutation du gène *FOXF1* était suspectée.

Résultats

L'analyse moléculaire n'a pas retrouvé de mutation des séquences codantes et régions introniques flanquantes de *FOXF1*. En revanche, il a été mis en évidence que les deux sœurs atteintes étaient hétérozygotes composites pour les mutations non-sens c.111G > A p.(Trp37*) (exon 3, probablement pathogène), et décalant le cadre de lecture c.397delinsGAA p.(Pro133Glufs*95) (exon 5, pathogène) de *SFTPB*. Chacun des parents est hétérozygote pour une des mutations.

Discussion et conclusion

Les DRNN à terme avec anomalies de développement pulmonaire telles que les DAC sont rares et sont dans 60 à 80% des cas associées à des mutations du gène *FOXF1* ou de ses régions régulatrices. Des malformations extra-respiratoires (cardiopathie congénitale, malrotations digestives, anomalies de la ligne médiane) sont fréquemment associées. Les mutations bi-alléliques de *SFTPB* sont associées à des pneumopathies interstitielles diffuses néonatales, mais n'ont été associées qu'une fois dans la littérature à une DAC. Ce cas clinique met en évidence la difficulté à cibler un seul gène dans la recherche étiologique des DRNN à terme, et étend le spectre phénotypique des mutations de *SFTPB* aux DAC.

#20286 : Les microdélétions du chromosome 22 en dehors du syndrome de DiGeorges classique : A propos de deux observations

Auteurs :

Hela Bellil (1), Bérénice Hervé (2), Denise Molina Gomes (2), Marie Delcroix (2), Leman Robin (2), Fatiha Djaafri (3), Zakaria Rostane (4), François Vialard (2), Rodolphe Dard (2)

1. Fédération de Génétique, Chi de Poissy, Paris, France
2. Fédération de Génétique, Chi de Poissy, Poissy, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Chi de Poissy, Poissy, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique, CENTRE HOSPITALIER FRANCOIS QUESNAY , Mantes La Jolie, France

Mots clefs : 22q11, Diagnostic prénatal, Hernie de coupole diaphragmatique, SMARCB1, Tumeur rhabdoïde.

Résumé :

La microdélétion 22q11.2 est le microremaniement chromosomique le plus fréquent (Incidence : 1 sur 2000). Responsable avant tout du syndrome de DiGeorge (OMIM : 188400), d'autres remaniements ont été décrits au niveau de la région 22q11.2 qui est le siège de plusieurs Low Copy Repeats (LCRs). Ces LCRs (LCR22A-H) favorisent des recombinaisons homologues non alléliques et sont responsables de l'apparition de microremaniements. Le spectre clinique associé à ces remaniements est très large et certaines manifestations cliniques peuvent être sous estimées voire méconnues.

Nous rapportons deux présentations cliniques particulières associées à des microdélétions siégeant au niveau de la région 22q11.2 (P1 et P2), diagnostiquées en prénatal.

P1 (32 ans) est une patiente ayant deux antécédents de fausses couches au premier trimestre. Au cours de sa troisième grossesse, une échographie faite à 15SA a mis en évidence une crosse aortique droite. Une amniocentèse a été réalisée ainsi qu'une recherche de la microdélétion 22q11.2. L'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) a mis en évidence la microdélétion dont la taille a été précisée par une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA). L'étude parentale a montré une transmission maternelle de cette délétion. Une échographie faite à 19SA a identifié une hernie de coupole diaphragmatique gauche, manifestation clinique extrêmement rare et jamais rapportée dans les données publiées. L'enquête personnelle a révélé chez la mère des difficultés d'apprentissage, des otites à répétition, une scoliose et un souffle cardiaque. Une surveillance particulière de la grossesse a été mise en place ainsi qu'une évaluation clinique de la mère.

P2 (27 ans) est une patiente ayant présenté lors du suivi échographique de sa troisième grossesse des signes d'appel à type de syndactylie III-IV de la main droite et signe de la sandale d'un membre inférieur. Une ACPA a mis en évidence une délétion de 2.8 Mb sur le chromosome 22 en 22q11.21q11.23, délétion distale survenant entre les LCR-22D et 22H. Elle est responsable d'un tableau clinique qui associe une prématurité, un retard du développement, des anomalies cardiaques et squelettiques (clinodactylie). Le tableau clinique et le pronostic associés à cette délétion sont peu connus et avant tout dominés par un très haut risque de survenue de tumeurs rhabdoïdes agressives et précoces dans l'enfance et dès les premiers jours de vie suite à la délétion du gène *SMARCB1*. Les délétions et mutations inactivatrices de ce gène sont bien connues des oncopédiatres, qui préconisent un suivi en imagerie corps entier, dès la naissance.

Les deux patientes ont été orientées vers un centre de référence pour une prise en charge adaptée à la naissance. A travers ces deux observations, nous mettons le point sur deux manifestations particulières de délétions survenant au niveau de la région 22q11, et insistons sur l'importance du conseil génétique très différent de celui de la délétion 22q11.2 classique.

#20416 : A propos d'une nouvelle mutation non sens du gène ILDR1 découverte chez une famille algérienne

Auteurs :

SAMIA ABDI (1), Mohamed Makrelouf (2), Crystel Bonnet (3), Yahia Rous (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 : surdité,ILDR1, exome, mutations

Résumé :

Introduction et objectifs : Le gene ILDR1 (Immunoglobulin-Like Domain-Containing Receptor1) exprimé dans plusieurs organes et tissus dont la cochlée et le vestibule est essentielle au maintien d'une audition normale. Il code pour une proteine qui contient un domaine semblable à une immunoglobuline. Plusieurs mutaions homozygotes responsables de surdité isolée (DFNB42) ont été identifiées et decrites dans la littérature.Cette surdité est bilaterale, prelinguale et de severité moderee à profonde.

Ce travail qui rentre dans le cadre de la recherche des causes genetiques de la surdité hereditaire en Algerie, a pour objectifs de determiner le statut genetique des familles atteintes ce qui permettra de leur venir en aide en leur offrant un diagnostic genetique mais aussi un conseil genetique pour eviter la transmission de cette maladie autosomique recessive.

Materiels et méthodes :Une centaine de familles algeriennes ayant au moins un enfant atteint de surdité neurosensorielle est recrutée au niveau du service ORL du CHU de Blida. Une extraction d'ADN a concerné toutes les familles recrutées (cas index et apparentés) et a été faite au niveau du laboratoire de biochimie genetique du CHU Babeloued à Alger.

Le séquençage de l'exome fait à l'institut de la vision à Paris,a été utilisé pour le diagnostic moleculaire de cette deficiencie auditive.

Resultats et discussion: Parmi les nombreuses mutations genetiques identifiées dans nos familles, une nouvelle mutation non sens p.Arg127*/Arg127*) du gene ILDR1 a été retrouvée chez deux enfants atteints de surdité profonde et issus d'un meme mariage consanguin.Les parents sont heterozygotes pour la mutation et on note la presence de cas similaires dans les deux lignées parentales.

Conclusion: Cette nouvelle mutation a permis d'enrichir la base de données mondiale des mutations du gene ILDR1 et de participer à l'education sanitaire de toutes les familles à risque de transmission de la maladie par le decouragement des mariages consanguins.

#20519 : Nouvelle duplication en aval du gène BMP2 dans une famille française avec une Brachydactylie de type A2 (BDA2)**Auteurs :**

Estelle Colin (1), Agnès Guichet (1), Françoise Boussion (2), Marine Tessarech (1), Alban Ziegler (1), Magali Gorce (1), Sylvie Manouvrier (3), Dominique Bonneau (1)

1. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Département de Gynécologie et Obstétrique, CHU Angers, Angers, France
3. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU Lille, Lille, France

Mots clefs : brachydactylie de type A2, BMP2, remaniement de structure

Résumé :

La brachydactylie de type A2 (BDA2, MIM 112600) est une pathologie autosomique dominante caractérisée par la déviation et le raccourcissement de la phalange médiane de l'index et/ou du deuxième orteil. Elle peut être due à des mutations dans le gène *BMPR1B* (MIM 603248), des mutations dans le gène *GDF5* (MIM 601146) mais aussi à des remaniements de structure en 20p12.3 impliquant le gène *BMP2* (MIM112261). En effet, des microduplications en aval du gène *BMP2* ont été décrites dans 5 familles (2 allemandes et 3 chinoises). Nous avons identifié par une technique de SNP-array une nouvelle duplication de 45kb en aval du gène *BMP2* dans une famille française. Nous décrivons les caractéristiques phénotypiques et génotypiques de notre famille et ferons une revue de la littérature. Cette nouvelle description renforce la relation entre la BDA2 et les remaniements de structure en aval de *BMP2*.

#19868 : Diagnostic de l'ataxie cérébelleuse autosomique dominante (ADCA) SCA36 dans une série de patients adressés pour une forme familiale d'ataxie : le gène NOP56 arrive au 5ème rang des gènes les plus fréquemment impliqués dans les ADCA

Auteurs :

Marie TEMPLE (1), Jean-Madeleine DE SAINT-AGATHE (1), Kathy LARCHER (1), Sandrine NOEL (1), Eric LE GUERN (1), Cécile CAZENEUVE (1)

1. Département de Génétique, UF de Neurogénétique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GHU APHP Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

Mots clefs : ataxie cérébelleuse autosomique dominante, diagnostic, NOP56, SCA36, grande expansion

Résumé :

Les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes (ADCA) constituent un ensemble hétérogène tant d'un point de vue clinique que génétique. Les gènes *ATXN1*, *ATXN2*, *ATXN3*, *CACNA1A*, *ATXN7*, *TBP* et *ATN1* sont les plus fréquemment impliqués. Cependant, au laboratoire de diagnostic, seuls environ 32% des patients adressés pour une forme familiale d'ADCA portent une mutation (expansion de triplets CAG) dans un de ces gènes.

Le gène *NOP56* a été rapporté comme étant le gène causal de l'ADCA SCA36. La mutation en cause est une grande expansion d'hexanucléotides GGCTG dans l'intron 1 du gène.

Nous avons mis au point le diagnostic de SCA36 avec deux techniques complémentaires : 1/ une repeat-primed PCR (RP-PCR) pour la mise en évidence des grandes expansions et, la limite de détection de la RP-PCR n'étant pas connue, 2/une PCR quantitative permettant de doser le nombre d'allèles de taille normale.

Ces techniques ont été appliquées à une grande cohorte de patients adressés pour une forme familiale d'ADCA, préalablement testés au laboratoire pour les gènes les plus fréquemment impliqués dans les ADCA et sans mutation dans ces gènes.

Les résultats préliminaires portant sur environ 55% des familles d'intérêt montrent qu'une grande expansion d'hexanucléotides du gène *NOP56* est retrouvée dans 8 familles sur les 232 testées. Cette fréquence met le gène *NOP56* au 5^{ème} rang des gènes les plus fréquemment impliqués dans les ADCA dans la population testée, après les gènes *ATXN3*, *ATXN2*, *ATXN1* et *ATXN7*, respectivement au 1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} rang avec 101, 62, 37 et 25 familles. Aucun signe clinique n'est spécifique de SCA36 dans les 8 familles identifiées ; cependant, une hypoacousie et, à un moindre degré, des fasciculations de la langue ou de la bouche semblent être plus fréquemment associées à SCA36 qu'aux autres SCA.

De façon surprenante, la présence d'une petite expansion associée en mosaïque à une grande expansion (GE) a été observée chez 3 patients indépendants. Dans la première famille, le parent atteint transmetteur, décrit comme étant porteur d'une GE dans la littérature, porte un allèle avec 33 répétitions associé en mosaïque à une GE ; la fille, également atteinte, porte un allèle avec une GE. Dans la deuxième famille, le cas index, décrit comme étant porteur d'une GE dans la littérature, porte un allèle avec 24 répétitions associé en mosaïque avec une GE. Dans une troisième famille, sont observés un patient porteur d'une petite expansion sans mosaïque (31 répétitions), une patiente, nièce du précédent, porteuse d'un allèle avec 23 répétitions associé en mosaïque avec une GE et plusieurs patients (dont deux sont de la même fratrie que la patiente précédente) porteur d'une GE. Ces observations apportent des éléments nouveaux dans la physiopathologie moléculaire de SCA36.

Compte-tenu de la fréquence de la mutation du gène *NOP56* dans les familles d'ADCA, nous proposons d'inclure l'étude de ce gène dans la stratégie diagnostique des ADCA.

Pièce jointe : Abstract NOP56_191002_envoyé.doc

#19849 : Création et validation d'une échelle de mesure de la qualité de vie spécifique à une pathologie génétique rare : l'étude ELECT-RO dans la maladie de Rendu-Osler

Auteurs :

Sylvie FOURDRINOY (1), Anne Emmanuelle FARGETON (1), Guillaume MARTINENT (2), Sophie DUPUIS-GIROD (1)

1. Unité de Génétique Clinique et Centre de Référence pour la maladie de Rendu-Osler, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Femme Mère Enfant, BRON, France
2. UFR STAPS, Laboratoire sur les Vulnérabilités et l'Innovation dans le Sport L-VIS (EA 7428), Université Claude Bernard Lyon 1, LYON, France

Mots clefs : maladie de Rendu-Osler, mesure de la qualité de vie, échelle spécifique, méthodologie, étude clinique

Résumé :

Introduction

La maladie de Rendu-Osler (RO ou HHT Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia) est une maladie génétique rare, autosomique dominante (prévalence 1/6000). Elle se manifeste par des épistaxis qui peuvent être très sévères, des télangiectasies et des malformations artério-veineuses pulmonaires, hépatiques et cérébrales. Ces symptômes affectent significativement le quotidien des patients, leurs relations sociales et leur vie professionnelle.

Les outils de mesure de la qualité de vie (QDV) sont souvent génériques ; ils ne tiennent pas compte des particularités des pathologies et de leurs symptômes et ne permettent pas d'avoir une vision fine de leur impact sur la QDV.

Objectif principal

Elaborer et valider un outil de mesure de la qualité de vie (QDV) spécifique à la maladie de RO, simple et rapide, en auto-passation

Objectif secondaire

Evaluer les corrélations entre cet outil et des questionnaires validés

Méthodologie

ELECT-RO est une étude prospective multicentrique non interventionnelle en 2 phases ; durée 36 mois dont 33 mois d'inclusions

Promotion Hospices Civils de Lyon ; Avis CPP favorable le 27/11/2018

1) Phase qualitative : réalisée par le Centre de Référence (CRMR) pour la maladie de Rendu-Osler

1. Entretiens non directifs avec des patients et des médecins spécialistes du réseau de prise en charge de la pathologie pour créer une grille d'entretien ; puis 13 entretiens semi-directifs avec des patients (saturation des données)
2. Analyse des contenus thématiques : méthode de la théorisation ancrée pour élaborer un **outil de 75 items** abordant tous les domaines de la QDV (santé, famille, professionnel, loisirs, psychologique)
3. Apports de la phase qualitative : la QDV est d'abord liée à la santé (présence et sévérité des signes) et aux conséquences professionnelles, familiales et sociales des symptômes. Les patients rapportent le manque général de connaissances lié au caractère rare de cette maladie et le sentiment d'être incompris qui en découle

2) Phase quantitative : actuellement en cours dans le Centre de Référence pour la Maladie de Rendu-Osler, les 16 Centres de Compétences et 3 consultations associées

1. Passation de l'outil de 75 items par 400 patients RO
2. Epuration statistique pour créer un **outil de 20-25 items**
3. Passation par 200 patients du nouvel outil associé à des questionnaires validés : SF36, échelle d'anxiété-dépression, échelle de soutien social et échelle de régulation émotionnelle ; re-test du nouvel outil à 1 mois
4. Validation statistique : cohérence et corrélation entre les outils, reproductibilité

Conclusion

Cette **échelle validée** permettra une identification et une quantification des aspects de la qualité de vie impactés chez les patients avec une maladie de RO (domaines de la santé, familial, professionnel, des loisirs et/ou psychologique) afin de leur proposer un **accompagnement médico-psycho-social individualisé tout en harmonisant les pratiques**.

Pièce jointe : 2019-10-02 Abstract Assises Fourdrinoy ELECT-RO.docx

#20111 : Variations du gène CHD3 et syndrome de Snijders Block-Campeau : une pathologie à évoquer devant une hypersociabilité, une macrocranie et une dysmorphie cranio-faciale**Auteurs :**

Juliette Coursimault (1), Francois Lecoquierre (2), Pascale Saugier-Weber (2), Valérie Drouin-Garraud (3), Joel Lechevallier (4), Nathalie Drouot (1), Séverine Fehrenbach (1), Virginie Nguyen-Viet (1), Anne Boland (5), Jean-François Deleuze (5), Thierry Frébourg (2), Gael Nicolas (2), Anne-Claire Bréhin (1)

1. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
2. Inserm UMR 1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et centre de référence anomalies du développement, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
3. Département de Pédiatrie, CMPP H Wallon, CH de Dieppe, CH de Dieppe, Rouen, France
4. Département de chirurgie orthopédique pédiatrique, CHU de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Institut de biologie François Jacob , Centre National de Recherche en Génétique Humaine (CNRGH), Evry, France, Evry, France

Mots clefs : Anomalies du développement, déficience intellectuelle, hypersociabilité, exome

Résumé :

Les analyses pangénomiques ont permis la description des syndromes ultra-rares. Nous rapportons l'observation d'un patient de 22 ans, en errance diagnostique depuis près de 20 ans, présentant au premier plan une hypersociabilité très marquée, des troubles du spectre autistique, une déficience intellectuelle sévère, une dysmorphie faciale et une macrocranie. Sont également notés des anomalies ophtalmologiques sévères, des chevauchements dentaires, une hypoplasie rénale gauche, une cryptorchidie unilatérale, un pectus carinatum et une scoliose. Un séquençage d'exome en trio a mis en évidence la présence d'une variation faux-sens *de novo* dans le domaine hélicase du gène *CHD3*. La présentation phénotypique est tout à fait compatible avec le diagnostic de syndrome de Snijders Block-Campeau (SBCS). Le SBCS, décrit très récemment dans une unique publication rassemblant 35 patients, résulte majoritairement de variations faux-sens *de novo* localisées dans le domaine hélicase du gène *CHD3* (Snijders Block et al., Nature Communication, 2018). Ce syndrome, de transmission autosomique dominante, est responsable d'anomalies neuro-développementales associant des troubles du comportement de type hypersociabilité, un retard de développement et une déficience intellectuelle sévère, des troubles du spectre autistique, une macrocéphalie, une hypotonie. La dysmorphie caractéristique associe un front large et bombant, un hypertélorisme, un épicanthus, une énophtalmie, des sourcils épars, une hypoplasie de l'étage moyen, un nez proéminent, un menton pointu et des oreilles bas implantées avec un épaississement de l'hélix. La protéine CHD3 constitue une sous-unité du complexe NuRD (Nucleosome Remodeling Desacetylase), impliqué dans le remodelage de la chromatine et la régulation de la transcription. Ce complexe inclut soit CHD3 soit CHD4 en fonction des types cellulaires et des conditions physiologiques. De façon intéressante, les variations du gène *CHD4* sont responsables d'un syndrome neuro-développemental différent du SBCS et l'hypothèse que le complexe NuRD affecte des cibles distinctes en fonction de sa composition peut être émise. L'hypersociabilité, rapportée en association avec les variations de *CHD3* et non de *CHD4*, est une particularité comportementale peu fréquente dans les déficiences intellectuelles syndromiques, qui constitue un véritable point d'appel pour le diagnostic du syndrome de Williams-Beuren, d'Angelman, de Glass, du cri-du-chat ou pour la microdélétion 17q21.31. Le SBCS correspond à un syndrome rare, encore méconnu, à évoquer devant tout patient présentant un comportement hypersociable, élément majeur du phénotype, associé à un retard de développement, une macrocranie, des traits dysmorphiques incluant notamment un hypertélorisme, une hypoplasie de l'étage moyen et un nez proéminent.

#20078 : Identification de la mutation ancestrale c.1331+1G>A du gène AAAS chez des patients avec syndrome d'Allgrove : à propos de la première série marocaine

Auteurs :

Khawla Zerrouki (1, 2), Ihab Belmokhtar (1), Karam Belmokhtar (1), Hanane Latrech (3), Mohammed Bellaoui (1), Redouane Boulouiz (1), Abdeladim Babakhouya (4), Mariam Tajir (1, 2)

1. Unité de Génétique, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed Premier, Oujda, Oujda, Maroc
2. Unité de Génétique Clinique, Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI, Oujda, Oujda, Maroc
3. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI, Oujda, Oujda, Maroc
4. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI, Oujda, Oujda, Maroc

Mots clefs : Syndrome triple A, gène AAAS, effet fondateur, mutation ancestrale

Résumé :

Le syndrome d'Allgrove ou le syndrome triple A est une maladie génétique autosomique récessive rare, caractérisée par une alacrymie, une achalasie et une insuffisance surrénalienne par résistance à l'hormone adrénocorticotrope (ACTH). Il peut être associé à des anomalies du système nerveux autonome, central et périphérique. Une centaine de cas sont rapportés dans la littérature. C'est une maladie multisystémique dont l'âge de début peut aller de la petite enfance à l'âge adulte. Les manifestations cliniques et la gravité de la maladie sont très variables. Le gène responsable de la maladie est le gène AAAS, localisé sur le chromosome 12, en 12q13, et comporte 16 exons, codant pour une protéine nommée ALADIN (ALacrimia, AChalasia, aDrenal Insufficiency, Neurological disorder) et dont l'expression est ubiquitaire dans les tissus humains avec une expression exceptionnellement augmentée au niveau des glandes surrénales, du tractus digestif et du système nerveux central. La majorité des mutations aboutissent à une protéine tronquée et non fonctionnelle. Des mutations récurrentes ont été identifiées dans des familles d'Europe et d'Afrique du Nord. La mutation c.1331+1G > A est rapportée comme étant la mutation la plus répandue aux pays magrébins (notamment en Tunisie, en Libye et en Algérie). Nous rapportons dans ce travail une première série marocaine de patients atteints de syndrome d'Allgrove ayant bénéficié d'une étude moléculaire du gène AAAS objectivant la présence de la mutation ancestrale c.1331+1G > A chez tous les patients et confirmant ainsi l'effet fondateur de cette mutation.

#20139 : Phénotype comportemental du syndrome d'Angelman : à propos de 35 cas

Auteurs :

Olfa Rajhi (1), Mediha Trabelsi (1), Sana skouri (1), Lilia Kraoua (1), Rim Meddeb (1), Ines Ouertani (1), Hana Safraou (1), Ichraf Kraoua (2), Hela Klai (2), Faouzi Maazoul (1), Ilhem Turki (2), Ridha Mrad (1)

1. Service des Maladies Héritaires et Congénitales de l'Hôpital Charles Nicolle, Hôpital Charles Nicolle , Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Service de neuropédiatrie de l'institut national de neurologie Mongi Ben Hamida, Institut de neurologie Mongi Ben Hamida, Tunis, Tunisie

Mots clefs : syndrome d'Angelman, phénotype comportemental, retard psychomoteur, épilepsie, ataxie, retard du langage

Résumé :

Introduction

Le syndrome d'Angelman (SA) est un syndrome neurogénétique rare qui est dû à l'absence d'expression du gène *UBE3A* (15q11-q13), gène soumis à empreinte maternelle.

Différents mécanismes génétiques peuvent être à l'origine de ce syndrome, tels qu'une délétion de la région critique 15q11.2-q13, une disomie uniparentale paternelle, une mutation du centre d'empreinte ou une mutation du gène *UBE3A*.

Il a été suggéré comme un modèle de trouble neuro-développemental associant des manifestations comportementales spécifiques en plus des troubles neurologiques. L'objectif de notre travail est de décrire le phénotype comportemental du SA chez des patients tunisiens.

Patients et Méthodes :

Etude rétrospective des manifestations comportementales du SA chez 35 patients (issus de 34 familles) chez qui le diagnostic moléculaire a été confirmé par étude de la méthylation du chromosome 15 ou par séquençage du gène *UBE3A* (si MS-PCR normale). Ces patients ont consulté au service des Maladies Congénitales et Héritaires de l'hôpital Charles Nicolle durant la période s'étalant de 2004 à 2019.

Résultats:

À l'interrogatoire, nous avons objectivé un retard psychomoteur sévère chez 77 % de notre cohorte, une ataxie (62.85%) et une épilepsie (85.71 %).

À l'examen physique, la majorité des patients ont présenté une microcéphalie (54 %). La dysmorphie faciale était caractérisée par un teint clair (96%), une macrostomie chez les 2 tiers des cas, un strabisme a été rapporté chez la moitié des patients, une macroglossie (42 %), une dentition espacée (37 %).

Outre les troubles sus cités, nous avons observé 5 types de manifestations comportementales, à savoir le comportement joyeux (humeur joviale et accès de rires immotivés chez 85.7 % des patients), les stéréotypies (48.5%), l'hyperactivité (42 %), l'auto et/ou l'hétéroagressivité (rapportée par les parents dans 20 % des cas). Des traits autistiques ont été repérés chez seulement 2 enfants.

Par ailleurs, les troubles du sommeil ont été rapportés dans 34% des cas. Il s'agit le plus souvent d'une insomnie d'endormissement (24%) avec des réveils nocturnes fréquents.

Concernant les mécanismes du SA, la délétion de la région critique 15q11.2-q13 a été retrouvée dans 74.28% des cas, la mutation du gène *UBE3A* (12.5%), la disomie uniparentale paternelle chez 2 patients seulement.

Le phénotype comportemental varie en fonction du mécanisme génétique, de la sévérité du retard du développement et de l'équilibre de l'épilepsie très fréquemment associée.

En effet, il apparaît selon notre étude que le mécanisme de mutation du gène *UBE3A* est associé à des formes plus sévères de retard du langage alors que la délétion est plutôt associée à un retard psychomoteur plus profond.

Conclusion :

Une meilleure caractérisation du phénotype comportemental chez ces patients permet une prise en charge multidisciplinaire et personnalisée, garante d'une meilleure qualité de vie pour les patients et leur entourage.

#20148 : Etude fonctionnelle des variants de signification inconnue du gène RB1

Auteurs :

Jessica LE GALL (1), Elsa AMOUYAL (1), Ambre PETITALOT (2), Catherine DEHAINAULT (1), Lisa GOLMARD (1), Claude HOUDAYER (3), Dominique STOPPA-LYONNET (1), Marion GAUTHIER-VILLARS (4), Sandrine CAPUTO (1), François LALLEMAND (2)

1. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, Institut Curie, Paris, France
2. Laboratoire de Pharmacogénomique, Institut Curie, Paris, France
3. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, CHU Rouen, Rouen, France
4. Service de Génétique Clinique, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : Rétinoblastome, Tests fonctionnels, Variants de signification inconnue

Résumé :

Le rétinoblastome est la tumeur intra-oculaire de l'enfant la plus fréquente, de l'ordre de 1 sur 15 000 à 20 000 naissances. Il résulte de l'inactivation biallélique du gène suppresseur de tumeur *RB1* au sein d'une cellule de la rétine. Dans 45% des cas, la présence d'un variant pathogène au niveau constitutionnel prédispose au rétinoblastome. Le gène *RB1* code la protéine pRB, qui a un rôle majeur dans le contrôle du cycle cellulaire. Sa fonction la mieux décrite est la régulation des facteurs de transcription E2F, au moment de la transition G1/S. pRB interagit également avec des protéines de remodelage de la chromatine, dont les histones désacétylases (HDAC).

En France, l'étude moléculaire du gène *RB1* est réalisée chez tout patient atteint de rétinoblastome. L'identification d'un variant pathogène permet de réaliser des tests génétiques ciblés sur ce variant dans la famille et de guider la surveillance ophtalmologique, afin de libérer les enfants non porteurs d'une surveillance ophtalmologique lourde, réalisée par fond d'œil sous anesthésie générale chez les nouveaux-nés et nourrissons. Les variants les plus fréquemment identifiés sont des variants tronquants, faciles à interpréter. Cependant, dans un petit nombre de cas, des variants faux-sens sont identifiés, pour lesquels l'interprétation est difficile. Ils restent généralement de signification inconnue et ne peuvent pas être utilisés pour le conseil génétique. Il est donc essentiel de réussir à classer ces variants afin de pouvoir donner un conseil génétique optimal aux patients et à leur famille.

L'objectif de ce projet est de mettre en place des tests fonctionnels permettant d'aider au classement des variants de signification inconnue du gène *RB1*. Trois de ces tests sont présentés ici.

Nous avons généré par mutagenèse dirigée 28 variants faux-sens du gène *RB1* mis en évidence chez des patients atteints de rétinoblastome : deux variants pathogènes et neuf variants bénins qui ont été utilisés comme témoins positifs et négatifs, respectivement, et 17 variants de signification inconnue à évaluer.

Dans un premier temps, nous avons étudié la stabilité de la protéine pRb par Western-Blot. Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'interaction fonctionnelle de pRb avec le facteur de transcription E2F1, avec un vecteur d'expression constitué du promoteur du gène *E2F1* et du gène rapporteur luciférase. Nous avons également évalué l'interaction physique de pRB et E2F1 par co-immunoprécipitation. Enfin, nous avons étudié l'interaction de pRb avec l'histone désacétylase 1 (HDAC1) par co-immunoprécipitation.

#20315 : Des variants CEP57 responsables de craniosténose syndromique avec ou sans Aneuploïdie Variée en Mosaïque.

Auteurs :

Lucile PINSON (1), Corinne COLLET (2), Jacques PUECHBERTY (1), Anouck SCHNEIDER (3), Thomas ROUJEAU (4), Christian HERLIN (5), Emmanuelle HAQUET (1), Constance WELLS (1), Kévin YAUY (1), Valentin RUAULT (3), Jean-Baptiste GAILLARD (3), Christine COUBES (1), Patricia BLANCHET (1), Marjolaine WILLEMS (1), David GENEVIEVE (1), Franck PELLESTOR (3), Vincent GATINOIS (3)

1. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine personnalisée, Service de Génétique Clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Département de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire Paris-GH, Hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine personnalisée, Unité de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Département de Neurochirurgie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
5. Département de Chirurgie Plastique et Reconstructrice, Hôpital Lapeyronie, Montpellier, France

Mots clefs : CEP57, Craniosténose, Aneuploïdie Variée en Mosaïque

Résumé :

Des variations bialléliques des gènes *BUB1B*, *TRIP13* et *CEP57* sont rapportées chez les patients présentant un Syndrome d'Aneuploïdie Variée en Mosaïque (SAM). Ces gènes sont impliqués dans le point de contrôle du fuseau mitotique, la nucléation et la stabilisation des microtubules.

Le SAM est dû à une division cellulaire défectueuse provoquant une non-disjonction mitotique des chromosomes, ce qui se traduit par la coexistence de cellules diploïdes avec des cellules aneuploïdes (> 10%). Le SAM est un syndrome rare, transmis sur un mode autosomique récessif, hétérogène également sur le plan clinique.

Les patients présentent habituellement un retard de croissance à début anténatal, une microcéphalie, des éléments morphologiques mineurs, une déficience intellectuelle variable. Des malformations cardiaques, ophtalmologiques et du système nerveux central peuvent être associées.

Seuls, 7 patients présentant un SAM avec des variations bialléliques du gène *CEP57*, ont été rapportés dans la littérature. Leur phénotype comprend un retard de croissance post natal, un raccourcissement rhizomélisque des membres supérieurs (5 cas sur 7), une déficience intellectuelle légère et une dysmorphie comparable. Les anomalies de la forme du crâne sont constantes, allant de la présence de bosses frontales à une craniosténose authentifiée chez une patiente décrite en 2014 par notre équipe.

Nous rapportons le cas d'une fillette de 4 ans qui présente un syndrome malformatif congénital avec un retard statural, un raccourcissement rhizomélisque des membres supérieurs, une cardiopathie, une craniosténose et des éléments morphologiques mineurs tout à fait similaires au phénotype de notre première patiente. Ces patientes sont d'origine différente et non apparentées. De façon intéressante, cette nouvelle patiente a rattrapé spontanément son retard statural initial, à la différence des autres cas rapportés.

L'étude du gène *CEP57* réalisé après des investigations négatives (ACPA, panel de gènes impliqués dans les craniosténoses), met en évidence chez cette fillette le même variant homozygote récurrent c.915_925dup11.

La recherche répétée d'aneuploïdie variée en mosaïque chez cet enfant est restée négative à ce jour après analyse du liquide amniotique (clarté nucale augmentée), des lymphocytes (plus de 100 métaphases) et des fibroblastes cutanés.

Ce nouveau cas, ainsi que les données récentes de la littérature qui confirment le rôle de *CEP57* dans la modulation de *FGF2* et son rôle dans la croissance osseuse, suggèrent que la craniosténose est un signe majeur du phénotype SAM.

Ce nouveau cas évoque également la possibilité d'un phénotype SAM sans aneuploïdie variée en mosaïque chez des patients porteurs de variants *CEP57*.

Nous faisons appel à collaboration pour décrire de nouveaux patients afin de corroborer ces données.

Pièce jointe : Abstract PINSON Lucile assises 2020.docx

#20251 : Trouble du spectre de l'autisme et anomalies chromosomiques : à propos d'une série de 200 patients

Auteurs :

Amal Taamallah (1), Hela Sassi (2), Houweyda Jilani (1), Syrine Hizem (1), Yasmina Elaribi (1), Imen Rjeb (1), Lamia Ben jema (1), Meriem Hamza (3), Ahlem Belhadj (3), Maissa Idoudi (1), Rahma kchaou (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim La Marsa, Tunis TUNISIE, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim La Marsa, Tunis TUNISIE, tunis, Tunisie
3. service de pédopsychiatrie, Hôpital Mongi Slim La Marsa, Tunis TUNISIE, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Trouble du spectre de l'autisme, anomalies chromosomiques, CGH array, trouble neuro développemental

Résumé :**Introduction :**

Le trouble du spectre de l'autisme (TSA) est classé dans le groupe des troubles neuro développementaux, caractérisé par la triade: troubles des interactions sociales, anomalies de la communication verbale et non verbale et jeux répétitifs et/ou stéréotypés.

L'étiologie du TSA reste multifactorielle, néanmoins, un grand intérêt a été porté ces dernières années pour la piste de la vulnérabilité génétique. Une étiologie génétique est en cause de 15% des cas de TSA. Les anomalies chromosomiques macroscopiques représentent 2-5% des étiologies génétiques, alors que les microremaniements chromosomiques sont détectés dans 10-20% des cas.

Objectif :

L'objectif de notre travail était de déterminer les anomalies chromosomiques dans une cohorte de patients présentant un TSA syndromique.

Matériels et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective d'une cohorte de 200 patients colligés entre 2012 et 2018 consultant pour TSA syndromique (TSA associé à une dysmorphie faciale et/ou un retard du développement psychomoteur et/ou une malformation congénitale).

Notre démarche était de réaliser un caryotype standard en première intention chez tous les patients. Si un syndrome génique était suspecté, une étude moléculaire a été réalisée. Une FISH (Hybridation *in situ* fluorescente) a été pratiquée devant la suspicion d'un syndrome microdélétionnel. Les patients n'ayant aucune anomalie aux explorations précédentes, ont été explorés par CGH array (hybridation génomique comparative sur puce à ADN). Cette technique a également été pratiquée pour mieux caractériser les anomalies retrouvées au caryotype.

Résultats :

Nous avons mis en évidence sept anomalies chromosomiques: deux anomalies étaient visibles au caryotype standard : une délétion 11q24 compatible avec un syndrome Jacobsen et une mosaïque 47,XXX[21]/46,XY[29]. Deux microdélétions 22q11.2 ont été mises en évidence par FISH. Le CGH array a retrouvé trois variations de nombre de copie (CNV) : une duplication Xq27.1q28 de 8,7 Mb impliquant les gènes *FMR1* et *FMR2*, une microdélétion 16q21 de 4,8 Mb emportant les gènes *CDH8* et *CDH11*, et une duplication 15q11.2 de 206 Kb impliquant les gènes *NIPA1* et *NIPA2*. Les sept anomalies retrouvées ont été classées en pathogènes dans quatre cas, et en facteurs de susceptibilité des troubles neuro développementaux pour les trois autres anomalies.

Conclusion :

A la lumière de ces résultats, l'implication pathologique des anomalies chromosomiques reste limitée dans le TSA. Les perspectives se dirigent aujourd'hui vers l'étude de l'impact de l'environnement sur l'expression des nouveaux facteurs de susceptibilité découverts par les nouvelles techniques.

#20152 : Actualisation du schéma décisionnel proposé par le Centre pluridisciplinaire de Diagnostic prénatal de Montpellier devant la découverte d'une malposition isolée des pieds en période prénatale.

Auteurs :

Emmanuelle HAQUET (1), Benoît ANTOINE (2), Hélène KRIER (2), Patricia BLANCHET (1), Christine COUBES (1), Lucile PINSON (1), Constance WELLS (1), Marjolaine WILLEMS (1), David GENEVIEVE (1), Pierre BOULOT (2), Florent FUCHS (2), Jacques PUECHBERTY (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

Mots clefs : Diagnostic prénatal, malposition des pieds, trisomie 21, myotonie de Steinert

Résumé :

Les malpositions isolées des pieds touchent 1/1000 à 1/3000 naissances. Elles constituent une anomalie échographique très fréquente en anténatal, majoritairement découverte à l'échographie du second trimestre. Avec une prise en charge orthopédique adaptée, les malpositions isolées des pieds à la naissance ont majoritairement un très bon pronostic fonctionnel. Néanmoins, les découvertes anténatales sont des événements anxiogènes pour les parents. Les professionnels du diagnostic prénatal s'attachent à distinguer les situations où la malposition des pieds serait le signe d'appel d'une situation plus complexe, incluant des pronostics plus défavorables, notamment en cas d'anomalies chromosomiques majeures.

Jusqu'à récemment, le Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal de Montpellier (CPDPN) proposait un arbre décisionnel qui distinguait les situations unilatérales et bilatérales. Dans les deux cas, un suivi avec un échographiste de référence et une consultation auprès d'un orthopédiste pédiatrique étaient recommandés au couple. Pour les fœtus avec des malpositions bilatérales, un diagnostic prénatal (DPN) était proposé pour établir un caryotype fœtal, un dosage enzymatique évaluant le risque de non fermeture du tube neural et un diagnostic génétique pour l'amyotrophie spinale infantile et la myotonie de Steinert.

La lecture de deux thèses de médecine soutenues récemment et une revue de la littérature nous ont amenés à modifier notre conduite à tenir. Une thèse s'est intéressée à vérifier la concordance entre les diagnostics anténataux et postnataux de malposition des pieds, ainsi que les suivis proposés dans différents CPDPN de France. La seconde thèse concernait les examens de génétique proposés par les CPDPN et tentait d'évaluer leur pertinence.

L'arbre décisionnel actualisé choisi par le CPDPN de Montpellier concerne à présent aussi bien les situations unilatérales que bilatérales isolées. En plus du suivi avec un échographiste de référence et de la consultation auprès d'un orthopédiste pédiatrique, le couple est reçu en consultation de conseil génétique et se voit proposer un diagnostic prénatal pour un caryotype fœtal, une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) et un diagnostic moléculaire de la myotonie de Steinert. Pour les couples refusant le DPN, sont proposés un diagnostic prénatal non invasif (DPNI) de la trisomie 21 et une évaluation du risque de myotonie de Steinert chez le fœtus via le diagnostic moléculaire chez les parents.

#19954 : Identification de nouveaux et rares variants de gènes impliqués dans la voie de la récompense dans l'anorexie mentale par analyse d'exomes**Auteurs :**

thierry bienvenu (1, 2), nicolas lebrun (1), julia clarke (3, 4), philibert duriez (5, 6), philip gorwood (3, 4), nicolas ramoz (1)

1. INSERM U1266, Institut de Psychiatrie et Neurosciences de Paris, paris, France
2. AP-HP Groupe Hospitalier Cochin, Hôpital Cochin, paris, France
3. INSERM U1266, Institut de Psychiatrie et Neurosciences de Paris, Paris, France
4. Clinique des Maladies Mentales et de l'Encéphale, Hôpital Sainte-Anne, Paris, France
5. INSERM U1266, Institut de Psychiatrie et Neurosciences de Paris, france, France
6. Clinique des Maladies Mentales et de l'Encéphale, Hôpital Sainte-Anne, paris, France

Mots clefs : Exome, Psychiatrie, Récompense

Résumé :

L'anorexie mentale (AN) est un trouble mental chronique grave qui est dû à des habitudes alimentaires anormales et à des comorbidités psychiatriques, dont la dépression. La prévalence de l'AN est élevée (0,5%). L'AN apparaît surtout chez les adolescentes et les jeunes adultes. Son taux de mortalité est dramatique avec 10% de décès par dénutrition ou suicide. Il n'y a pas de traitement médicamenteux et seulement un tiers des patientes évoluent vers la rémission. La physiopathologie de l'AN est largement méconnue. Cependant, l'AN présente une importante composante génétique (héritabilité ~80%).

L'objectif de ce travail était d'identifier des variants génétiques rares de prédisposition.

Nous avons étudié 10 familles avec 15 femmes atteintes, 11 cas d'AN restrictive (ANR) et 4 cas d'AN binge-eating, et analysé en trio par séquençage nouvelle génération d'exomes. Les variants ont été filtrés par les contrôles de qualité (couverture, IGV viewer), la ségrégation dans les formes familiales, la prédiction *in silico* délétère des variants (Cadd > 15), et l'absence ou la rareté chez les apparentés non affectés et dans les bases de données (Gnomad, "Déjà vu" Paris Descartes) (< 1%).

L'analyse des variants *de novo* n'a pas permis d'identifier de variants candidats délétères (à l'exception de p.L206V, deleterious dans le gène *LUMAN/CREB3*) et récurrents. Dans les cas index des formes familiales, des variants *de novo* potentiels ont été identifiés. L'analyse, selon le mode dominant, a permis d'identifier 349 variants potentiels distribués dans 110 gènes. L'analyse de cette liste de gènes par String, David et GeneOntology, a permis d'identifier plusieurs voies biologiques susceptibles d'être altérées. Trois voies KEGG majeures ont pu être identifiées: "neuroactive ligand-receptor interaction" 9 gènes, "cholinergic synapse" 6 gènes, et "dopaminergic synapse" 6 gènes. Par ailleurs, l'analyse de la littérature a permis d'identifier 24 variants dans des gènes contribuant à des troubles neuropsychiatriques. Des analyses ciblées sur une large cohorte de patientes seront réalisées afin de confirmer nos résultats.

Ce travail a été soutenu par la Fondation Maladies Rares (#11632).

#20296 : SHFM1 and deafness associated with a 7q21.3 microdeletion: confirmation of a syndromic cause of deafness**Auteurs :**

Jessica Assoumani (1), Lionel Van Maldergem (1)

1. Centre de génétique humaine, CHRU Besançon, Besançon, France

Mots clefs : SHFM, ectrodactylie, DLX5, déficience auditive

Résumé :

Le syndrome main fendue, pied fendu ou split hand and foot malformation (SHFM) désigne un ensemble hétérogène d'affections génétiques qui comporte comme manifestation principale l'ectrodactylie ou lobster claw deformity. Il est actuellement divisé en six types, l'anomalie du développement des extrémités, avec principalement une absence de développement du rayon médian des mains et des pieds en constituant l'élément principal. Le SHFM peut être isolé ou syndromique. Il s'agit d'une affection emblématique par le défaut de pénétrance qui peut la caractériser et par sa grande variabilité d'expression phénotypique, y compris chez un même patient, qui peut présenter une atteinte différente de chacun de ses quatre membres. L'une de ces formes (SHFM1) est associée à une déficience auditive. Sa base moléculaire est encore incertaine, une seule famille liée aux mutations bialléliques de DLX5 ayant été décrite à ce jour. Nous rapportons l'observation d'un patient de 34 ans, d'intelligence normale, atteint de cette forme spécifique pour lequel l'établissement du caryotype moléculaire (Agilent 1M) a identifié une microdélétion hétérozygote *de novo* en 7q21.3, d'une taille de 1 Mb, bornée par les nucléotides 96407645 et 97479261, incluant *DLX5/6*, *SDHAF3* and *TAC1*. Il s'agit du premier enfant d'un couple non apparenté. Il présente une ectrodactylie typique des mains et des pieds, associée à une surdité de perception profonde bilatérale, une hypoplasie des pavillons de l'oreille et une brachycéphalie, sans autre malformation associée. En l'absence de mutation du 2^e allèle objectivée, nous retiendrons ici d'une part la confirmation de l'implication de *DLX5* dans l'étiologie de SHFM1 et posons l'hypothèse d'une hétérogénéité des modes de transmission.

Pièce jointe : SHFM1 and deafness associated with a 7q21.3 microdeletion confirmation of a syndromic cause of deafness.docx

#20309 : Le syndrome de SHORT: à propos d'un cas.**Auteurs :**

Ghizlane Jabrane (1), Nadia Serbati (2), Sara Berrada (3), Fatima zahra Outaleb (3), Hind Dehbi (2)

1. Laboratoire de génétique et de pathologie moléculaire, Université Hassan II Casablanca, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de génétique et de pathologie moléculaire, Université Hassan II , Casablanca, Maroc
3. Génétique médicale, Université Hassan II, Casablanca , Maroc

Mots clefs : SHORT syndrome, petite taille, Rieger, lipodystrophie

Résumé :

SHORT est un acronyme désignant une petite taille, une hyperlaxité articulaire ou une hernie inguinale ou les deux, une hypotension oculaire ou un glaucome congénital, une anomalie de Rieger, et un retard à l'éruption des dents. Cette association rare a été décrite chez moins de 50 patients dans la littérature mondiale. C'est une maladie autosomique dominante causée par la mutation d'un gène récemment découvert *PICK3R1* (5q13.1).

Nous rapportons le cas d'une famille ayant une fille de 3 ans qui présente un retard de développement global, un glaucome congénital, un visage triangulaire avec aspect progéroïde, une hypoplasie du massif facial médian et une lipodystrophie du reste du corps. A travers cette famille, nous tenons à étendre les caractéristiques cliniques et génétiques de ce syndrome.

#19960 : Complex translocation involving four chromosomes in Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia case**Auteurs :**

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Balkiss Abdelmoula (2), Sourour Ben Ali (3), Hadil Chaari (3), Sourour Falleh (3), Asma Yaich (3), Samir Aloulou (3), Nawel Abdellaoui (2), Fatma Abid (4), Hédi Ben Ameer (5), Saloua Ben Amor (2), Mustapha Ben Aziza (2), Moez Hédi Ben Ayed (3), Amir Karra (2), Haythem Fourati (6), Kays Chaker (2), Oldez kaabi (2), Wided Ltaif (3), Asma Kaabi (7), Walid Smaoui (2), Akram Sbai (3), Hamdi Yahia (3), Khaled Trigui (2), Sonda Kammoun (2)

1. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research , Sfax, Tunisie
2. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Sfax, Tunisie
3. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Gabes, Tunisie
4. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Mahdia, Tunisie
5. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Gafsa, Tunisie
6. Service d'Urologie, CHU Hbib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie
7. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Tunis, Tunisie

Mots clefs : CML, Philadelphia chromosome, complex translocation

Résumé :

Chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal malignant disorder of a pluripotent hematopoietic stem cell characterized by the presence of a Philadelphia (Ph) chromosome produced by the reciprocal translocation t(9;22)(q34;q11), resulting in the chimeric gene BCR-ABL. The Ph chromosome is found in over 90% of cases of CML, whereas 5-10% of cases demonstrate variant Ph chromosome translocations involving a third or infrequently a fourth chromosome in addition to chromosomes 9 and 22. Here, we report a case of Ph chromosome-positive CML in the chronic phase characterized by an unusual variant Ph chromosome. A 76 year-old male patient suffered since 10 months with severe loss of weight and splenomegaly. White blood cell count was $80.500 \times 10^9/l$ with myelaemia $> 150\,000$. Chromosome analysis using peripheral blood sample and RHG banding revealed a complex karyotype with a Ph translocation involving four chromosomal regions, 1p35-36, 9q34, 12p13 and 22q11.2: 46, XY, t(1;9;12;22)(p35-36;q34;p13;q11). The karyotype was in concordance with the clinical diagnosis of CML in chronic phase. There was no additional chromosomal abnormalities specific of acutisation. After karyotyping, the patient had initiation of Imatinib-treatment. Four-way Ph chromosome translocations are an extremely rare event in myeloid malignancies and the phenotypic consequences of such rearrangements have not been investigated. FISH is the technique used at present to determine the mechanism of variant translocations. Usually, variant Ph translocations are observed at diagnosis in chronic phase of CML, and their occurrence is not associated with disease evolution. The mechanisms of the generation of the variant translocations are not fully clear. Moreover, it appears that variant translocations can affect any chromosome. However, it has been suggested that distribution of the break-points is non-random with the chromosomal bands most susceptible to breakage being: 1p36, 3p21, 5q31, 6p21, 9q22, 10q22, 11q13, 12p13, 17p13, 17q21, 17q25, 19q13, 21q22, 22q12 and 22q13. Since the majority of CML cases are currently treated with imatinib, variant rearrangements in general have no specific prognostic significance, although the mechanisms involved in resistance to therapy have yet to be investigated. As evaluation of prognostic features in a limited number of patients with four-way Philadelphia rearrangements at present yields controversial results, our case may add further information on the prognostic impact of such abnormalities in CML patients.

#20308 : Retour d'expérience en séquençage haut débit ciblé dans le diagnostic de la déficience intellectuelle au CHU de Tours**Auteurs :**

Marie-Pierre Moizard (1), Nathalie Ronce (1), Marie-Laure Vuillaume (1), Stéphanie Arpin (1), Sophie Blesson (1), Médéric Jeanne (1), Yvan Herenger (1), Juliette Piard (2), Elise Boucher-Brischoux (2), Hubert Journal (3), Christine Muti (4), Sylvie Odent (5), Philippe Khau Van Kien (6), Bruno Delobel (7), Dominique Martin-Coignard (8), Michèle Mathieu (9), Annick Toutain (1), Martine Raynaud (1)

1. Service de Génétique, CHRU de Tours, Tours, France
2. Centre de génétique humaine, CHRU Besançon, Besançon, France
3. Consultation de Génétique Médicale, Centre hospitalier Bretagne Atlantique, Vannes, France
4. Laboratoire de génétique constitutionnelle prénatale et postnatale, CH de Versailles - Hôpital André Mignot, Le Chesnay, France
5. Service de génétique clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
6. Unité de génétique médicale et cytogénétique, CHU Nîmes, Nîmes, France
7. Centre de Génétique Chromosomique, GH de l'Institut Catholique de Lille - Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
8. Laboratoire de génétique médicale et cytogénétique, Centre Hospitalier Le Mans, Le Mans, France
9. Service de génétique clinique et oncogénétique, CHU Amiens-Picardie - Site Sud, Amiens, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, Panel de gènes, NGS

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) modérée à sévère concerne 3 à 4 ‰ individus dans la population (expertise INSERM 2016) et s'accompagne souvent, soit de troubles du spectre autistique, soit d'épilepsie. Les causes génétiques se caractérisent par une très grande hétérogénéité, rendant le diagnostic étiologique difficile. Les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS) ont considérablement amélioré le diagnostic, notamment avec la mise en œuvre de séquençage de panels de gènes ciblés.

Nous rapportons ici l'expérience du CHRU de Tours, sur la mise en place du séquençage d'un panel custom de 286 gènes (174 gènes autosomiques et 112 gènes de l'X) impliqués dans les DI et les troubles du spectre autistique. La stratégie utilisée est une technologie de capture/hybridation IDT (taille totale de régions cibles de 860 kbases) et séquençage sur séquenceur MiSeq (Illumina). L'analyse de la couverture des gènes explorés et l'identification des différents variants ont été effectuées sur la plateforme SOPHIA DDM®. Sur les 860 kb, plus de 99 % des bases sont séquencées avec une profondeur supérieure à 50X.

276 patients présentant une DI modérée ou sévère, isolée ou syndromique inexpliquée ont été analysés, après exclusion du syndrome de l'X fragile et analyse ACPA normale. 52 variations ont été identifiées dans 41 gènes distincts parmi lesquels un seul est associé à une forme de DI de transmission autosomique récessive (gène *AP4B1*). Toutes ces variations ont été vérifiées par séquençage Sanger et leur statut *de novo* recherché. Tous les types de variations ont été retrouvés : 7 non-sens, 15 délins, 6 variants d'épissage et 24 faux-sens. Les gènes *ANKRD11*, *ARID1B*, *MECP2*, *POGZ*, *SCN2A*, *SLC6A1*, *SPTAN1* et *ZEB2* ont été trouvés mutés plusieurs fois.

Au total, ce sont 40 variations avec impact fonctionnel (classe 4 et 5, probablement pathogènes et pathogènes) qui ont été validées et 12 variations de signification incertaine (classe 3) qui ont été relevées. Un diagnostic moléculaire de certitude a été rendu pour 40 patients, soit un rendement diagnostique de plus de 20 %, certains patients sont encore en cours d'étude. L'implication définitive de certains variants d'épissage ou faux sens a nécessité la mise en œuvre de tests fonctionnels (analyse de transcrits par RT-PCR).

Nos résultats montrent que le séquençage d'un panel de gènes dans le diagnostic de la déficience intellectuelle représente une approche pertinente, efficace et facile à entreprendre dans le cadre d'un laboratoire de diagnostic. Cependant, la liste des gènes impliqués dans la DI est en perpétuelle évolution et cette stratégie ne permet pas une mise à jour réactive des cibles explorées. C'est pourquoi, notre prochain objectif consiste à mettre en place le séquençage de l'exome qui nous permettra dans un premier temps d'étudier virtuellement les gènes les plus fréquemment impliqués, puis d'élargir plus aisément le criblage en cas de résultat négatif.

#20557 : Genome Variant Explorer (GVE) : une application Shiny pour explorer et filtrer aisément des variants génomiques annotés issus d'une expérience de NGS (Next-Generation Sequencing)

Auteurs :

Flora Carré (1), Thomas Larive (1), Henri-Jean Garchon (1, 2)

1. Faculté Simone veil des Sciences de la Santé, Université Paris-Saclay, UVSQ, Inserm, Infection et inflammation, Montigny-le-Bretonneux, France
2. Service de biochimie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France

Mots clefs : Séquençage d'exome ou de génome, variant génomique, sélection de variants, Shiny app, interface web, open source

Résumé :

La technologie de séquençage haut-débit est désormais couramment utilisée en biologie clinique. Dans ce cadre, le séquençage d'exome (WES), voire de génome entier (WGS), prend une place croissante. Toutefois, une difficulté majeure que l'on rencontre dans ce type d'expérience vient du nombre considérable de variants détectés, de plusieurs dizaines de milliers (WES) à plusieurs millions (WGS). Les premières étapes du workflow d'analyse des séquences, à savoir leur alignement sur la référence, l'identification des variants et leur annotation, sont relativement standardisées et sont prises en charge par un bioinformaticien. En revanche, l'étape finale du filtrage des variants les plus pertinents qui est assurée par le clinicien biologiste reste délicate et longue. Elle met en jeu de nombreux critères plus ou moins décisifs pris isolément et l'expérience du clinicien est déterminante pour sélectionner ces critères et leur donner un poids optimal. Il est donc essentiel de pouvoir explorer de manière conviviale et rapide l'ensemble des variants générés par l'expérience de NGS en disposant d'un nombre de critères le plus grand possible.

C'est dans ce but que nous avons développé "Genome Variant Explorer" (GVE), une application R Shiny qui permet d'examiner aisément les variants issus d'une expérience de WES/WGS. Shiny est un paquet du langage R qui permet de créer une interface web destinée à examiner un jeu de données de manière interactive. Le langage R est l'un des plus répandus dans le domaine de l'analyse des données. Il est disponible sur les principaux OS (Windows, Linux, Mac). L'application GVE est donc portable sans restriction. Son code est également accessible sans restriction.

Grâce à une interface web, GVE permet d'explorer un tableau de variants préalablement annotés sur un ordinateur personnel et ne nécessite aucune connaissance informatique, notamment du langage R. Le praticien peut filtrer les variants sur différents critères : fréquence allélique, localisation chromosomique (unique ou multiple, grâce à un fichier au format BED), localisation génique (pour les variants exoniques, il est possible de préciser l'impact sur le cadre de lecture), configuration génotypique (hétérozygote, homozygote, hétérozygote composite), pathogénicité prédite par les principaux algorithmes (M-CAP, REVEL, SIFT, POLYPHEN2...). Il est aussi possible d'examiner les variants présents dans un gène, ou une liste de gènes explicite ou obtenue à la volée à partir de terme de Gene Ontology. Enfin, à tout moment, il est possible de sauvegarder le résultat d'une recherche avec ses critères en format Excel.

Parmi les extensions envisagées, il est prévu d'intégrer la dimension familiale (présence de variants chez les patients et non chez les sujets sains, mutation de novo) avec la possibilité de visualiser le pedigree. GVE devrait faciliter l'exploration et le filtrage des milliers de variants issus d'une expérience de séquençage d'exome ou de génome.

#19903 : Étude rétrospective portant sur 4 ans de diagnostic moléculaire par panel de gènes impliqués dans des syndromes de vieillissement prématuré, incluant les laminopathies et les syndromes associés**Auteurs :**

Maude GRELET (1, 2), Véronique BLANCK (3), Sabine SIGAUDY (4, 2), Nicole PHILIP (4, 2), Fabienne Giuliano (5), Khaoula KHACHNAOUI (6), Godelieve MOREL (7), Sarah GROTO (8), Julia SOPHIE (9), Céline POIRSIER (10), James LESPINASSE (11), Laurent ALRIC (12), Patrick CALVAS (9), Gihane CHALHOUB (13), Valérie LAYET (14), Arnaud MOLIN (15), Cindy COLSON (15), Luisa MARSILI (16), Patrick EDERY (7), NICOLAS LEVY (4, 2), Annachiara DE SANDRE-GIOVANNOLI (17, 2)

1. DEPARTEMENT DE GENETIQUE MEDICALE, CHU TIMONE ENFANTS APHM, Marseille, France
2. Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France., MMG, Marseille, France
3. Medical Genetics Department, Assistance Publique Hopitaux de Marseille, Marseille, France., Assistance Publique Hopitaux de Marseille, marseille, France
4. DEPARTEMENT DE GENETIQUE MEDICALE, CHU TIMONE ENFANTS APHM, MARSEILLE, France
5. Medical Genetics Unit 2, L'Archet Hospital, NICE, France, L'Archet Hospital, Nice, France
6. Medical Genetics Unit 2, L'Archet Hospital, NICE, France, L'Archet Hospital, nice, France
7. Hospices Civils de Lyon, Genetic Department and National HHT Reference Center, Femme-Mère-Enfants Hospital, Bron, F-69677, France; Université Claude Bernard Lyon 1, F-69100, Villeurbanne, France., Hospices Civils de Lyon,, Lyon, France
8. Genetics Department, AP-HP, Robert-Debré University Hospital, Paris, France., AP-HP, Robert-Debré University Hospital, Paris, France
9. Department of Medical Genetics, CHU Toulouse, Purpan Hospital, 31059, Toulouse, France, CHU Toulouse, Purpan Hospital, Toulouse, France
10. Department of Genetics, Reims University Hospital, Reims, France., Reims University Hospital, Reims, France
11. Department of Genetics, Centre Hospitalier de Chambéry- Hôtel-dieu, Chambéry, France, Centre Hospitalier de Chambéry- Hôtel-dieu, Chambéry, France
12. Internal Medicine, CHU Toulouse, Rangueil Hospital, Toulouse 3 University Hospital Center, France, CHU Toulouse, Rangueil Hospital, Toulouse, France
13. Internal Medecine, CHR Metz-Thionville Metz-Thionville, France, CHR Metz-Thionville, Metz, France
14. Department of Genetics, Le Havre Hospital, F76600, Le Havre, France., Le Havre Hospital, Le Havre, France
15. CHU de Caen, department of genetics, avenue de la Cote de Nacre, Caen, 14000, France, CHU de Caen, Caen, France
16. Department of Clinical Genetics, Lille University Hospital, CHU Lille, France, CHU Lille, Lille, France
17. Medical Genetics Department and CRB-TAC Assistance Publique Hopitaux de Marseille, Marseille, France., Assistance Publique Hopitaux de Marseille, Marseille, France

Mots clefs : syndrome progéroïde, panel, NGS, séquençage à haut débit, variant, pathogène, VSI, ACMG

Résumé :Introduction :

Les syndromes progéroïdes “segmentaires” représentent un groupe de pathologies rares et souvent sévères qui ont été étudiées depuis le 20^{ème} siècle. Ces syndromes progéroïdes sont dits “segmentaires” car seulement une partie des signes cliniques observés dans le vieillissement naturel sont accélérés.

Méthodes :

Depuis 2015, le Laboratoire de Génétique Moléculaire de Marseille (APHM, Hôpital Timone Enfants) propose le diagnostic moléculaire des syndromes caractérisés par un vieillissement prématuré, incluant les laminopathies et les maladies associées, en utilisant un panel de 82 gènes impliqués dans ces syndromes. Nous avons analysé les résultats obtenus sur les 66 cas index analysés avec ce panel, de 2015 à 2018.

Résultats :

Au total, nous avons identifié dans environ ¼ des cas des variants pathogènes ou probablement pathogènes (ACMG classes 5 ou 4 respectivement), parmi lesquels 9 n'avaient jamais été décrits auparavant. En prenant en compte l'indication clinique pour la réalisation de l'examen, le rendement diagnostique est de quasiment 60% pour les cas index adressés avec une suspicion clinique précise du point de vue nosologique, à l'exception des syndromes liés aux anomalies du tissu conjonctif, pour lesquels le diagnostic clinique est souvent plus complexe. Ces résultats nous ont permis de proposer un conseil génétique pour un quart des patients adressés et de réaliser 4 diagnostics prénataux pour 3 familles. Nous décrivons par ailleurs 16 variants de signification inconnue dont 3 ont été reclassés en bénin grâce à l'analyse de ségrégation familiale.

-

Conclusions :

Le séquençage à haut débit par le biais du panel laminopathies/syndromes de vieillissement prématuré offre un diagnostic moléculaire large pour des pathologies rares et permet de délivrer un conseil génétique adapté dans environ ¼ des cas. Ce panel représente un premier niveau d'analyse intéressant avant que soit éventuellement proposé dans le futur, le séquençage du génome entier chez les patients restés sans diagnostic moléculaire, par les plateformes nationales de séquençage à haut débit prévues dans le plan « Médecine France génomique 2025 ».

#20592 : Deleterious mutation of NSD1 gene in a Senegalese patient with SOTOS syndrome.

Auteurs :

ROKHAYA NDIAYE DIALLO (1), KARAMBA DIALLO (1), BABACAR NIANG (2), ERIC PASMANT (3), JEAN PASCAL DEMBA DIOP (1), YACOUB DIA (1), SERIGNE SALIOU MBACKE (1), OUMAR FAYE (4), MICHEL VIDAUD (3), ALIOUNE DIEYE (5)

1. Service de Génétique Humaine, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal
2. Service de Pédiatrie, Hopital d'Enfants Albert Royer, Dakar, Sénégal
3. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, Paris, Paris, France
4. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal
5. Service d'Immunologie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar, Sénégal

Mots clefs : Sotos syndrome, NSD1, mutation, diagnosis

Résumé :

Sotos syndrome is a rare autosomal dominant childhood overgrowth condition, characterized by distinctive facial features, intellectual disability, macrocephaly and overgrowth of the body in early life. In almost 90% of cases, mutations occurred in the gene encoding nuclear receptor-binding SET domain containing protein 1 (*NSD1*). After informed consent of both parents, a Senegalese patient diagnosed with SOTOS syndrome at age 3 months was recruited. He was the second child of a nuclear family. Blood samples were collected from the index case and each parent for genetic testing. Genomic DNA was extracted and all coding exons and flanking intronic regions of *NSD1* (NM_022455.4), *DNMT3A* (NM_175629.6) and *SETD2* (NM_014159.6) genes, were screened for mutations by multiplex PCR followed by next generation sequencing of amplicons. Identified mutations were systematically verified by Sanger sequencing.

The reported case has excessive body growth (size > Z3DS), macrocephaly and facial dysmorphism (pronounced occipital horns, elongated face, palpebral anti-mongoloid clefts). We identified in the index case a heterozygous mutation in exon 5 of the *NSD1* gene, leading to a frameshift and premature termination of protein synthesis: c.2306dup (NM_022455); p.Gly771Trpfs*38 (NP_071900). This mutation occurs de novo in the index case and was not detected in either parents.

This is the first case of SOTOS syndrome genetically diagnosed in Senegal.

Pièce jointe : Ndiaye R Sotos syndrome.docx

#20520 : Impact pronostique des anomalies cytogénétiques par FISH dans la Leucémie Lymphoïde Chronique : une étude monocentrique en Algérie.**Auteurs :**

Mohand Tayeb Abad (1), Souad Taoussi (1), Salima Oukid (1), Hamida Brahimi (1), Mohad Bradai (1)

1. Hematologie, EHS ELCC CAC, Blida, Algérie

Mots clefs : LLC, FISH, del P53, del ATM, pronostic

Résumé :**Introduction**

Afin de recenser les caractéristiques cytogénétiques de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) dans notre région, une étude prospective par hybridation in situ fluorescente (FISH) a été menée.

L'objectif est d'identifier les patients présentant des anomalies cytogénétiques de mauvais pronostic pour proposer un traitement en conséquence.

Malades et méthodes

Une étude par FISH a été conduite chez 238 cas de LLC sur une période de 12 ans (2007-2018). Il s'agit de 184 hommes et 54 femmes (sex-ratio = 3,4), âge médian = 63 ans (37-89 ans). La majorité des patients était au stade B et C de Binet.

L'analyse par FISH a été réalisée sur un prélèvement de sang périphérique sur héparine lithium ; une culture de 72 heures avec PMA / PHA puis depuis 2014 avec DSP30 et interleukine 2 est réalisée. Les sondes utilisées : CEP12, 13 q 14 / 13qter, P53 (17p13) / ATM (q 11, 22), 6 q 21 / SE 6.

Tous les patients (n= 238) ont été évalués pour les délétions ATM et P53 ; 214 pts l'ont été pour un panel complet de sondes FISH.

Les études de survie selon Kaplan-Meier ont été analysées sur le logiciel SPSS 20

Résultats

Des anomalies récurrentes ont été constatées chez 177 pts (82,7% des cas). Une del 13q14 a été notée dans 57 cas/177 (32,2%), une trisomie 12 dans 40 cas/177 (22,6%), une del (ATM) dans 40 cas /238 (16,8%), une del P53 dans 34 cas/238 (14,3%) au diagnostic ou à la rechute, une del (6 q 21) dans 3 cas /177 (1,7%).

Au plan pronostique, la meilleure survie médiane (MS = 96 mois) a été retrouvée chez les patients porteurs d'une délétion 13q14 suivie des pts avec une trisomie 12 (MS = 77 mois), des pts sans anomalies (MS = 69 mois), des patients avec délétion ATM (MS = 49 mois), et des patients avec délétion P53 (MS = 28 mois). La del P53 apparaît comme l'anomalie la plus péjorative vs toutes les autres anomalies (p respectifs < 0,000, < 0,005 < 0,039) ; la del ATM est la deuxième anomalie péjorative vs la del 13q14, la del P 53 et les pts sans anomalies (p respectifs <0,006 , 0,039 , < 0,07).

Conclusion

L'analyse cytogénétique par FISH est un outil pronostique utile. La fréquence des anomalies récurrentes trouvées par FISH dans notre travail est similaire à celle d'autres séries publiées. (82,7% vs 80%); La del (13 q 14) est un peu moins commune que ce qui a été rapporté auparavant par d'autres (32,2% vs 55 à 63%, respectivement) probablement en raison du taux important de stades avancés B et C; la fréquence de la trisomie 12 (22,6 vs 13 à 25%) et de la del (ATM) (16,8% contre 11 à 18%) rejoint celles de la littérature; la fréquence de la del (P53) (14,3% vs 7%) est supérieure à celles observées dans la littérature. Ces données indiquent la fréquence élevée de del (P53) dans notre étude, jugée de très mauvais pronostic en raison de la résistance aux schémas thérapeutiques à base de Fludarabine. L'introduction dans notre pratique des thérapies ciblées (anti BCL2 et anti BTK) aura certainement un impact positif sur la survie des patients avec del P53 et del ATM.

Pièce jointe : Impact pronostique des anomalies cytogénétiques par FISH dans la Leucémie Lymphoïde Chronique.doc

#19935 : Identification de nouveaux gènes impliqués dans les hémorragies intracrâniennes chez le fœtus

Auteurs :

Thibault COSTE (1, 2), Camille GIRON (1), Chaker ALOUI (1), Anne Louise LEUTENEGGER (1), Elisabeth TOURNIER LASSERVE (1, 2)

1. Inserm NeuroDiderot (U1141), GenMedStroke , Université Paris Diderot, Paris, France

2. Service de Génétique Neurovasculaire, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : HIC exome hémorragies intracrâniennes fœtus génétique neurovasculaire

Résumé :

Les hémorragies intracrâniennes (HIC) fœtales ont une prévalence estimée à 5/10000 naissances et conduisent dans les formes sévères (grade III et IV) à une interruption médicale de grossesse. Il existe des causes non génétiques et génétiques à ces HIC. Parmi les causes génétiques on retrouve des mutations dans les gènes *COL4A1* et *COL4A2* chez environ 15% des fœtus référés pour HIC après exclusion des autres causes connues. La négativité du bilan chez 85% des fœtus ne permet pas un conseil génétique adapté. L'objectif de notre travail est d'identifier de nouveaux acteurs moléculaires impliqués dans la survenue d'HIC chez des fœtus non mutés *COL4A1/COL4A2* par une approche exome entier.

Nous disposons des données d'exome de 94 Fœtus Index et de 37 parents soit 16 trios, 2 quartets et 78 fœtus additionnels sans données parentales. Les bases de données 1000Genomes, gnomAD, TOPMed ainsi que la cohorte FREX sont utilisées comme bases de données « contrôles ». L'analyse des données d'exomes comprend i) une analyse des gènes de la voie de biosynthèse et de l'interactome de *COL4A1* et *COL4A2* ii) une recherche sans à priori de variants *de novo* et de variants compatibles avec un mode de transmission autosomique récessif chez les trios iii) une recherche de variants à l'état hémizygote et iv) une recherche de variants hétérozygotes chez tous les fœtus. Pour les gènes candidats retenus, une recherche d'enrichissement en variants rares cas/contrôles est réalisée grâce à un test de type gene based burden test.

Sur une première partie de la cohorte de fœtus (41 Index), parmi les gènes connus pour être impliqués dans la synthèse de *COL4A1/COL4A2*, nous avons trouvé 4 gènes potentiellement candidats en raison de leur enrichissement dans notre cohorte en comparaison à la cohorte FREX (*PLOD3*, *PLOD2* et *P4HA1*) et/ou de leur implication dans la survenue d'HIC chez l'homme (*PLOD3*, *PLOD1*). Parmi les gènes identifiés selon une approche sans à priori, une récurrence génétique a été observée pour quatre gènes. Cinq autres gènes sont également comme candidats en raison i) de leur implication dans la littérature dans la survenue d'HIC et/ou ii) de la nature disruptive de leurs mutations à l'état homozygote ou hémizygote. Ces données ainsi que celles issues de l'analyse des 53 fœtus additionnels seront présentées.

#20324 : Evaluation des pratiques professionnelles des gynécologues de Picardie concernant le suivi des femmes pré-symptomatiques porteuses d'une mutation BRCA1/BRCA2**Auteurs :**

Claire COZETTE (1), Emma LACHAIER (2, 3), Florence JOBIC (2), Florence AMRAM (2), Emilie LACOT-LERICHE (2, 4), Guillaume JEDRASZAK (5), Sara COSTANTINI (2), Gilles MORIN (2), Florence SCHEFFLER (1)

1. Médecine et Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et CECOS de Picardie, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
2. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
3. Service d'Oncologie Médicale, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
4. CRP-CPO EA 7273, Université Picardie Jules Verne, Amiens, France
5. Laboratoire de Génétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France

Mots clefs : Pré-symptomatique, mutation délétère BRCA 1/2, cancer sein/ovaire, recommandations INCa, évaluations pratiques professionnelles

Résumé :

Introduction. Les femmes porteuses d'une mutation délétère des gènes *BRCA1* (Breast Cancer 1 #OMIM 604370) et *BRCA2* (Breast Cancer 2 #OMIM 612555) présentent principalement par rapport à la population générale, un sur-risque de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire. En 2017, l'Institut National du Cancer (INCa) a émis de nouvelles recommandations sur la prise en charge de ces femmes. Les femmes atteintes d'un cancer du sein et/ou de l'ovaire (symptomatiques) ayant déjà un suivi dans des centres spécialisés, il semblait intéressant d'évaluer plus spécifiquement la prise en charge des femmes indemnes de pathologie tumorale présentant ce sur-risque (pré-symptomatique). L'objectif de cette étude est d'évaluer les pratiques professionnelles des gynécologues de Picardie concernant la prise en charge de leurs patientes pré-symptomatiques.

Matériel et Méthodes. Nous avons réalisé une évaluation des pratiques professionnelles grâce à un questionnaire destiné aux gynécologues médicaux et obstétriciens de Picardie. Ce questionnaire répartissait 34 questions en cinq catégories : profil du professionnel, type d'activité et réseau, dépistage, stratégie de réduction du risque, traitements hormonaux. Ce questionnaire a été envoyé aux 161 praticiens de Picardie recensés dans l'annuaire de l'Ordre des Médecins. Des analyses en sous-groupes ont été effectuées afin d'évaluer d'éventuelles différences significatives de pratique en fonction des catégories proposées (Chi2).

Résultats. Soixante-sept praticiens ont répondu au questionnaire soit un taux de participation de 41,6%. Vingt et un praticiens ne suivaient aucune patiente porteuse d'une mutation *BRCA1/2* ; 26 avaient dans leur patientèle entre 1 et 5 patientes pré-symptomatiques ; 15 en suivaient entre 5 à 10 et 5 estimaient en suivre plus de 10. Le nombre de réponses correctes aux questions portant sur les dernières recommandations était de 57,7%. Concernant les questions portant sur le dépistage, 56,5% de bonnes réponses étaient retrouvées. Ce taux était de 70,7% pour les items portant sur les chirurgies prophylactiques et 52,7% sur les traitements hormonaux. Il n'a pas été retrouvé de différence significative concernant la connaissance des recommandations de la prise en charge des femmes pré-symptomatiques quel que soit le type de patientèle des différents praticiens.

Conclusion. Cette évaluation des pratiques professionnelles indique que les dernières recommandations de l'INCa ne sont connues qu'en partie par les praticiens gynécologues de Picardie ce qui suggère la nécessité d'une formation continue. En ce sens, nous proposons de mettre en place des outils d'actualisation des connaissances et en parallèle une collaboration plus étroite entre les praticiens et le service d'Oncogénétique du CHU Amiens-Picardie. Suite à cette étude, des actions sont déjà en cours d'élaboration afin de permettre une meilleure prise en charge des femmes porteuses d'une mutation *BRCA1/2* de Picardie.

#19811 : Des variants dans le dégron d’AFF3 sont à l’origine d’un syndrome avec dysplasie mésomélique, rein en fer à cheval et encéphalopathie épileptique

Auteurs :

Norine Voisin (1), Rhonda Schnur (2), Sofia Douzgou (3), Susan Hiatt (4), Cecilie Rustad (5), Natasha Brown (6), Dawn Earl (7), Boris Keren (8), Olga Levchenko (9), Sinje Geuer (10), Nicolas Chatron (11), Giannuzzi Giuliana (1), Delphine Heron (8), Caroline Nava (8), Binnaz Yalcin (12), Kenjiro Kosaki (13), Dian Donnai (14), Stefan Mundlos (10), Nicola Brunetti-Pierri (15), Wendy Chung (16), Alexandre Reymond (1)

1. Centre Intégratif de Génomique, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse
2. GeneDx, GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
3. Manchester Centre for Genomic Medicine, St Mary's Hospital, Manchester , Royaume Uni
4. Institute for Biotechnology, HudsonAlpha, Huntsville , Etats-Unis
5. Department of Medical Genetics, Oslo University Hospital, Oslo, Norvège
6. Victorian Clinical Genetics Services, Murdoch Children's Research Institute, Victoria , Australie
7. Seattle Children's, Seattle Children's, Seattle, Etats-Unis
8. Pitié-Salpêtrière Hospital, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France
9. Research Centre for Medical Genetics, Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russie
10. Max Planck Institute for Molecular Genetics, Charité, Berlin, Allemagne
11. Genetics Department, Lyon University Hospital, Lyon, France
12. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, IGBMC, Strasbourg, France
13. Center for Medical Genetics, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japon
14. Manchester Centre for Genomic Medicine, St Mary's Hospital, Manchester, Royaume Uni
15. Telethon Institute of Genetics and Medicine , Federico II University, Naples, Pozzuoli, Italie
16. Department of Pediatrics, Columbia University, New York, Etats-Unis

Mots clefs : syndrome, déficience intellectuelle, modèle animal, exome, dysplasie

Résumé :

AFF1, AFF2, AFF3 et AFF4 sont des facteurs de transcription à domaine ALF, composants du complexe de super élongation qui régule l’expression de gènes impliqués dans la neurogenèse et le développement. Alors que des variants d’AFF4 ont été associées au syndrome CHOPS, caractérisé par une dysplasie osseuse et une déficience intellectuelle, nous décrivons ici que des variations d’AFF3 sont associées à un syndrome similaire.

Nous avons identifié dix individus présentant une combinaison d’anomalies reconnaissables telles qu’une dysplasie mésomélique de type Nievergelt/Savarirayan, un rein en fer à cheval, de l’épilepsie, de l’hypertrichose, une déficience intellectuelle et des difficultés respiratoires, porteurs de variants *de novo* faux-sens dans le dégron d’AFF3. Cette séquence de neuf acides-aminés du domaine ALF régule la dégradation de la protéine via interaction avec des ubiquitines ligases et sa modification entraine une accumulation des protéines AFF3 mutées. La surexpression d’AFF3 chez le zébrafish entraine des anomalies du développement, supportant la pathogénicité d’une augmentation de la quantité de protéine AFF3.

Un onzième individu avec une microdélétion comprenant uniquement le domaine de transactivation et le dégron d’AFF3 présente des symptômes similaires. Les souris knock-out arborent des anomalies osseuses, rénales, cérébrales et cognitives, alors que les souris knock-in modélisant la microdélétion et les variants faux-sens identifiés chez les patients présentent une mésomélie des membres inférieurs et une létalité précoce, respectivement.

Des analyses transcriptomiques et phylogénétiques ainsi que le recoupement partiel des syndromes associés aux variants dans AFF3 et AFF4 suggèrent que les facteurs de transcription ALF ne sont pas redondants contrairement à ce qui était suggéré précédemment.

Pièce jointe : résumé_AFF3_assises_AReymond.docx

#20405 : Article Revue des anomalies génétiques chez des patients Marocains atteints de glioblastome**Auteurs :**

Hossam Hilal El Idrissi (1), Oum Kaltoum Ait Boujmia (2), Bouchaïb Gazzaz (3), Hind Dehbi (1, 4)

1. Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc, CASABLANCA, Maroc
2. Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca-Maroc, CASABLANCA, Maroc
3. Institut d'analyse Génétique, Gendarmerie Royale, Rabat, Maroc
4. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd,, CASABLANCA, Maroc

Mots clefs : IDH1 and IDH2, P53, EGFR, Primary and secondary glioblastoma Morocco

Résumé :

Glioblastoma is the most aggressive malignant type of central nervous system tumors. The literature review revealed that the most common genetic abnormalities in primary and secondary glioblastomas are IDH1 / 2 mutation, p53 mutation, and overexpression of EGFR. To our Knowledge, this is the first Moroccan study that gives a holistic picture of genetic studies done in Moroccan patients to describe genetic marker and their frequency in our population. A profound research in ScienceDirect and Pubmed of articles treated glioblastoma in Morocco, this research based on these following keywords: Glioblastoma Morocco, Primary glioblastoma Morocco, secondary glioblastoma Morocco. We found only three research articles on genomic alteration of IDH1 / 2, p53 and EGFR expression.

Pièce jointe : Revue Glioblastoma Maroc.docx

#20330 : Vous avez dit ciliopathie? Mise en évidence d'un nouveau gène de rétinite pigmentaire syndromique

Auteurs :

Béatrice BOCQUET (1), Muriel PERRON (2), Nejla Erkilic (3), Vasiliki Kalatzis (3), Isabelle MEUNIER (4)

1. INSERM U1051 - Institut des Neurosciences de Montpellier, , MONTPELLIER, France
2. CERTO: Centre d'Etude et de Recherche Thérapeutique en Ophtalmologie Paris-Saclay Institute of Neurosciences (Neuro-PSI), Université Paris Sud, PARIS, France
3. INSERM U1051 , - Institut des Neurosciences de Montpellier, MONTPELLIER, France
4. Centre National de Référence Maladies Rares Maolya, , MONTPELLIER, France

Mots clefs : Maladies monogéniques - Rétinites pigmentaires syndromiques - Ciliopathies

Résumé :

Propos : Il s'agit d'un adolescent de 16 ans (cas simplex), dont le diagnostic clinique a été porté à l'âge de 12 ans. Héméralope depuis le plus jeune âge, il rapporte une baisse d'acuité visuelle récente. L'examen clinique montre une rétinopathie pigmentaire évolutive inhabituelle de part la disparité entre l'ElectroRétinoGramme, effondré, et l'aspect au fond d'œil, reflétant une maladie peu évoluée. Plus de 80 gènes étant décrits comme responsables des formes isolées de rétinite pigmentaire, et face à cette singularité clinique, un exome trio a été réalisé et a montré des mutations dans un gène responsable de ciliopathie.

Méthodes : Un examen ophtalmologique détaillé a été réalisé chez le patient. Un exome trio a été réalisé par la société Integragen. Les variants sélectionnés après filtres classiques ont été validés par séquençage selon Sanger. Des études fonctionnelles ont été réalisées chez le xénope : hybridation *in toto* sur des têtards et utilisation d'oligonucléotides morpholinos anti-sens suivis d'immuno-marquages.

Résultats : L'exome a révélé deux mutations hétérozygotes composites (frameshift et mutation d'épissage) dans un gène ciliaire que nous nommerons *CPH-RP*. Des mutations de ce gène ont été préalablement décrites chez un patient ayant une forme sévère de syndrome oro-facio-digital (OFD) de type IX, décédé à l'âge de 6 mois et présentant d'importantes anomalies développementales : anomalies oculaires, fente labiale, microcéphalie, polydactylie, absence de glande pituitaire et maladie cardiaque congénitale. L'IRM chez notre patient de 16 ans a révélé quelques signes extra-oculaires : corps calleux court, atrophie cérébelleuse hémisphérique, petite glande hypophysaire, fine tige pituitaire, clinodactylie et une neuropathie axonale des membres inférieurs, nous confortant dans l'hypothèse d'un syndrome OFD modéré de l'adulte.

Les premières études fonctionnelles montrent que *CPH-RP* est fortement exprimé dans l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR), et qu'une baisse de cette expression dans le modèle Xénope baisse également les marqueurs exprimés par l'EPR. Ces données nous laissent penser qu'il s'agirait d'une pathologie ciliaire touchant d'abord l'EPR et entraînant la dégénérescence des photorécepteurs. Nous avons pu obtenir les cellules iPS de notre patient, qui sont en cours d'analyses afin de mieux comprendre le rôle de ce gène dans la rétine.

Conclusion : Nous avons mis en évidence un nouveau gène ciliaire, responsable d'une forme syndromique de rétinite pigmentaire de transmission autosomique récessive. D'autres études fonctionnelles nous permettront de mieux connaître la physiopathologie de cette rétinite pigmentaire particulière, dans l'attente de cribler d'autres patients à la recherche de nouvelles mutations afin d'établir les corrélations phénotype/génotype propres à ce gène.

Pièce jointe : Abstract Assises de Génétique Béatrice BOCQUET.doc

#19933 : Syndrome de Koolen de Vries en prénatal : A propos de deux nouveaux cas

Auteurs :

Amandine BOUREAU-WIRTH (1), Khaoula ZAAFRANE-KHACHNAOUI (1), Houda KARMOUS-BENIALLY (1), Myriam CHAMI (2), Anna-maria COLTRI (3), Marianne SAIDI (4), Morgane PLUTINO (1), Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER (1)

1. Service de génétique , CHU de Nice, Nice, France
2. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prenatal, CHU de Nice, Cannes, France
3. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prenatal, CHU de Nice, Cannes, France
4. Diagnostic anténatal Lenval, Lenval, Nice, France

Mots clefs : Syndrome de Koolen de Vries, Anténatal, Anomalie du corps calleux, Microdélétion 17q21.31, KANSL1.

Résumé :

Nous rapportons 2 cas anténataux de syndrome de Koolen de Vries (KDVS) chez deux fœtus présentant à l'échographie du deuxième trimestre des anomalies du corps calleux. Le syndrome de KDVS est une maladie génétique rare (prévalence en post natal estimée à 1/16 000) causée soit par une microdélétion récurrente de la région 17q21.31 d'environ 600 kb soit par un variant pathogène dans le gène *KANSL1*. Ce syndrome associe principalement une déficience intellectuelle, une dysmorphie faciale et des anomalies morphologiques notamment des malformations cérébrales.

Première observation : parturiente de 35 ans, G6P1. La clarté nucale était fine, le dépistage de la trisomie 21 a estimé un risque à 1/7500. Toutefois avec un profil atypique des marqueurs sériques (PAPP-A 0.38MoM et B-HCG 0.11MoM). L'échographie T2 retrouve chez un fœtus féminin eutrophe une dysgénésie calleuse (corps calleux court et hypoplasique) isolée confirmée à l'IRM cérébrale fœtale.

Deuxième observation : parturiente de 24 ans, G3P1. Le dépistage de la trisomie 21 a estimé un risque à 1/10 000 (clarté nucale fine), on note là encore un profil atypique des marqueurs sériques (PAPP-A 0.39MoM et B-HCG 0.72MoM). Un corps calleux court a été décelé à 21SA+4 chez un fœtus féminin eutrophe associé à une communication interventriculaire musculaire de petite taille et une probable communication interauriculaire. L'anomalie cérébrale a été confirmée à l'IRM.

Dans ce contexte clinique, une amniocentèse pour Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) a été réalisée, mettant en évidence la microdélétion 17q21.31 responsable du syndrome de KDVS. Les deux couples, après information neuropédiatrique et génétique, ont demandé une interruption médicale de grossesse (IMG) sans autopsie.

Seulement 3 cas de microdélétion 17q21.31 responsable de ce syndrome ont été décrits en prénatal. Ces 3 fœtus présentaient des anomalies cérébrales essentiellement une anomalie du corps calleux (3/3) et une ventriculomégalie chez un fœtus, possible signe indirect de son anomalie du corps calleux. Une malformation cardiaque et une fente palatine ont été associées dans 1/3 des cas.

Nos 2 cas supplémentaires de découvertes anténatales de syndrome de KDVS par microdélétion 17q21.31 sont en accord avec les données bibliographiques précédemment décrites, notamment la constance des anomalies du corps calleux dans ce syndrome en anténatal. Elles nous permettent également de soulever l'interrogation d'une corrélation entre le profil atypique des marqueurs sériques et le syndrome de KDVS.

De ce fait, afin de proposer un conseil génétique approprié pour les couples dans un contexte de découverte anténatale d'une anomalie du corps calleux, en plus de la prise en charge habituelle (échographie de référence, IRM cérébrale, ACPA), il serait intéressant de compléter le bilan par une analyse du gène *KANSL1*, rapportée dans 5% des KDVS.

#19931 : Etude transcriptionnelle d'un modèle murin de Paraplégie Spastique Héréditaire SPG11

Auteurs :

Typhaine Esteves (1, 2), Julien Branchu (1), Liriopé Toupenet (3, 4), Khalid Hamid El Hachimi (3, 4), Frederic Darios (3), Giovanni Stevanin (3, 4)

1. , Institut du Cerveau et de la Moelle épinière/CNRS UMR7225/Inserm U1127/Sorbonne Université, Paris, France

2. , Ecole Pratique des Hautes Etudes, Paris, Grèce

3. , Institut du Cerveau et de la Moelle épinière/CNRS UMR7225/Inserm U1127/Sorbonne Université, PARIS, France

4. , Ecole Pratique des Hautes Etudes, PARIS, France

Mots clefs : Transcriptome, souris, Paraplégies spastiques héréditaires, lysosomes, lipides

Résumé :

Hereditary spastic paraplegias are rare inherited neurological diseases characterized by a large heterogeneity in both clinical and genetic aspects. Mutations in SPG11 account for the most common form of autosomal recessive cases. Patients present mainly with spasticity associated with neuropathy and mental impairment. This gene encodes the protein spatacsin, with still unknown function.

Nevertheless, spatacsin is known to be involved in lysosomal recycling, and interacts with the AP-5 complex involved in membrane sorting.

The Spg11 knockout mouse recapitulates the full range of symptoms associated with SPG11 mutations observed in patients. To understand the molecular changes in the brain of those mice (KO versus WT), we sampled mRNA from cortex, cerebellum and hippocampus at 3 different ages (6 weeks, 4 and 8 months) corresponding respectively to the onset of symptoms, the occurrence of the full clinical features and the onset of neurodegeneration. RNAseq was performed using the NextSeq500 sequencer.

As expected, SPG11 mRNA levels were decreased. Then, we also found a dozen of deregulated genes involved in the lysosomal pathway, according to the role of spatacsin in this cellular function.

Although spatacsin interacts with AP-5 complex members, we found none of them deregulated at the mRNA level, which does not exclude a post-translational regulation of those partners.

More interestingly, we found that the most deregulated genes were involved in lipid metabolism, supporting recent studies in SPG11 in which lipidic accumulations have been observed.

Further analyses are ongoing to identify new interesting targets and decipher the mechanisms involved in this pathology.

#20031 : Identification of potential new genes involved in autosomal recessive forms of Parkinson's disease**Auteurs :**

Christelle Tesson (1), Aurélie Honoré (1), Valérie Drouet (1), Hélène Bertrand (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, genetics, pathway

Résumé :**Objective**

The aim of the work is to identify new genes involved in autosomal recessive (AR) early-onset (EO, > 40 years) Parkinson disease (PD), using consanguineous PD families and applying genotyping on DNA microarrays and NGS technologies.

Background

Parkinson disease (PD) affects 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 with either autosomal dominant (AD) or recessive (AR) forms of PD. However, the identified genes associated with EO AR PD only explain 45%, other genes remain to be discovered.

Material and Methods

We selected 99 families that fulfilled the following criteria:

- Age at onset ≤ 50 years
- Confirmed consanguinity
- Excluded for mutations in known AR PD associated-genes

We performed exome sequencing and looked for rare homozygous variants, predicted to be pathogenic and rare in the public databases (MAF < 1%).

Results

Using a series of 99 families with confirmed consanguinity, we looked for homozygous loss of function or missense mutations predicted deleterious in region of loss of homozygosity. Then we first focused on variant shared by at least two families. We identified mutations in PSMF1 an interactor of FBXO7. In one families, it remains only this variant moreover both mutations code for amino acid highly conserved upon evolution.

Most of the candidate's genes are private genes highlighting genetic heterogeneity of PD. Therefore, in a second time we hypothesized that some candidate's genes can be involved in a common pathway. Using ClusterProfiler we performed GO term enrichment analyses, then we were able to grouped together some genes and were able to see an statistical enrichment in autophagy pathway.

Conclusions

We identified a strong candidate gene for AR-PD: PSMF1. Further functional data are needed to strengthen the role of this gene in PD, possibly affecting the proteasome activity and α -synucleine aggregation. We will also continue to investigate pathway analyses in order to identify candidates for PD in our families.

#20326 : Diabète monogénique MODY: quel est l'apport de l'analyse NGS ciblée au Maroc

Auteurs :

Said TRHANINT (1), Nadia MAAZOUZI (2), Annie BERARD (3), Leila BOUGUENOUGH (1), Cécile GED (3, 4)

1. Service de Génétique Médicale et Oncogénétique, CHU Hassan II, FES, Maroc
2. FST, Faculté des Sciences et Techniques, FES, Maroc
3. Service de Biochimie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. INSERM U1035-BMGIC, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : diabète monogénique, diagnostic génétique, analyse NGS

Résumé :

Les formes monogéniques de diabète, regroupées sous l'appellation MODY (Maturity Onset Diabetes of the Youth) constituent une entité hétérogène sur le plan clinique et génétique. Les caractéristiques classiques associent un début précoce, un caractère familial avec une transmission autosomique dominante et un défaut de la sécrétion insulinaire dépendante des cellules β -pancréatiques. Cependant, l'augmentation régulière de la prévalence du diabète de type II, polygénique, peut représenter un facteur confondant quand plusieurs membres d'une même famille sont atteints, éventuellement sur plusieurs générations.

Dans le cadre de cette étude, nous avons analysé une série de 20 patients suivis au CHU de Fès (Maroc) pour diabète et présentant les critères suivants : sujet âgé de moins de 40 ans au diagnostic du diabète, au moins 2 générations atteintes de diabète, absence de dysimmunité en faveur d'un diabète de type 1.

La méthodologie employée a utilisé dans un premier temps le séquençage ciblé (analyse Sanger faite au CHU de Fès) des gènes GCK et HNF1A, puis la technique NGS avec un panel ciblant les gènes GCK, HNF1A, HNF4A, HNF1B, INS, ABCC8, KCNJ11 (CHU de Bordeaux). Si nécessaire, l'analyse MLPA a été utilisée pour confirmer la présence d'anomalie des CNV (notamment une délétion étendue du gène GCK).

Le diagnostic de diabète MODY de type 2 (délétion étendue du gène GCK) et celui de MODY de type 3 (variant faux-sens du gène HNF1A déjà décrit) a pu être fait dans 2 familles. Il a été complété par l'analyse de ségrégation.

La majorité des patients testés n'a donc pas d'identification exacte en faveur d'une forme MODY, bien que l'analyse NGS ait fourni des résultats rapides et exhaustifs sur les gènes testés. Un suivi précis de l'évolution et des manifestations phénotypiques sera nécessaire pour adapter la poursuite de l'enquête génétique : panel élargi, voire séquençage d'exome.

Une bonne connaissance de la physiopathologie du diabète MODY est en effet essentielle pour guider les choix thérapeutiques, évaluer le risque de survenue de complications dégénératives et adapter le conseil génétique dans les familles présentant plusieurs sujets atteints.

Pièce jointe : Abstract GED 20326.docx

#20237 : Génétique d'infertilité : Intérêts diagnostiques d'un panel personnalisé pour l'analyse de 51 gènes impliqués dans des infertilités humaines non-syndromiques.

Auteurs :

Ozlem Okutman (1, 2), Julien Tarabeux (3), Jean Muller (3, 4), Stéphane Viville (1, 2)

1. IPPTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de génétique de l'infertilité, Les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS), Strasbourg, France
3. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS), Strasbourg, France
4. Laboratoire de Génétique Médicale, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : custom panel, high throughput sequencing, non-syndromic human infertility, DNA

Résumé :

Infertility is a global healthcare problem which affects men and women equally. In research, the focus has shifted from single gene mutation studies to genome wide analysis. This has allowed, during the last decade, to identify a fast growing up list of human genes involved in infertility. However with the exception of few genes, the described mutations are rarely detected, most of them stayed as a familial mutation or individual cases. Therefore, the impact on human fertility still needs to be confirmed for the majority of these genes. Furthermore the prevalence of these mutations in specific population is unknown.

In order to scan 51 identified genes involved in different form of non-syndromic infertility, we have designed a genetic diagnostic test based on high throughput sequencing technology. The panel encloses 35 genes for male infertility, 16 genes for female infertility and 6 common control SNPs. As an initial study, a cohort of 98 non-syndromic infertility cases (81 males, 17 females) with a well-defined infertility phenotype has been studied. Five patients with known single gene mutations were added to study as a control. DNA was extracted from peripheral blood and library was prepared using SureSelectQXT Target Enrichment system. Multiplex sequencing has been performed on Illumina NextSeq 550 with 2x75bp reads for total 51 genes. Variant analysis has been achieved using VaRank tool.

Results revealed 2 homozygous, 1 compound heterozygous mutation and 2 heterozygous in male patients ($5/81=0,06$), in addition to 3 homozygous and 1 heterozygote mutations in female patients ($4/17=0.23$) related to defined infertility phenotype. However one specific gene in the panel shows unexpectedly high amount of variations for unrelated phenotypes. Ten men with spermatogenic failure carry at least one missense mutation predicted as deleterious on a gene described in a oocyte maturation arrest phenotype ($10/51=0.2$). This opens a debate on the implication of this gene in human infertility with the specific phenotype for which it has been identified.

The precise diagnostic is important for adapting the best treatment and counsel not only to patients but to their spouse and relatives. This study allows us to designate gene mutations which have significant impact on specific infertility phenotype on a restricted cohort of French patients. Considering the dynamism in the field, we will soon upgrade our panel and we will offer a genetic diagnostic test to scan 120 genes within the genetic ward of the Strasbourg university hospital (HUS).

#20024 : Epidémiologie moléculaire du Syndrome de Fryns dans l'Océan Indien

Auteurs :

Laure TIVERNE (1), Jean-Luc ALESSANDRI (2), Patrick MUNIER (1), Bérénice DORAY (1), Paul GUEGUEN (1)

- 1. Service de Génétique, CHU de La Réunion, SAINT DENIS, France
- 2. Service de Réanimation Néonatale, CHU de La Réunion, SAINT DENIS, France

Mots clefs : Syndrome de Fryns, gène PIGN, Isodisomie uniparentale

Résumé :

Contexte : Le syndrome de Fryns (SF) est un syndrome polymalformatif dont les manifestations les plus fréquentes sont une hernie diaphragmatique congénitale, une hypoplasie pulmonaire, une dysmorphie cranio-faciale et une hypoplasie digitale distale. Transmis sur un mode autosomique récessif, le SF résulte de mutations du gène *PIGN* (NM_176787.4). Une délétion récurrente des exons 5 à 7 du gène *PIGN* a été découverte chez des patients originaires de La Réunion et de Mayotte (Alessandri JL & al, EJHG (2018)).

Matériels & Méthodes : Une technique de génotypage par PCR HRM de point de cassure a été mise au point afin d'identifier la délétion des exons 5 à 7 dans une cohorte de 9 patients cliniquement suspects de SF et leurs apparentés originaires de La Réunion et de Mayotte. Des études complémentaires ont été effectuées chez deux familles (Séquençage Sanger, QFM-PCR et SNP array). Le génotypage a également été réalisé sur une cohorte de 587 individus sains, représentative de la population réunionnaise, dans le but d'évaluer la fréquence des porteurs hétérozygotes.

Résultats : 6 des 9 patients cliniquement suspects de SF présentent la délétion homozygote de *PIGN* après génotypage par PCR HRM. Chez un patient suspect de SF et porteur à l'état hétérozygote de la délétion, le séquençage Sanger complet du gène *PIGN* a permis d'identifier la variation c.2354G > A - p.(Arg785His) dans l'exon 25. Cette étude a également mis en évidence une isodisomie uniparentale partielle d'origine paternelle par SNParray. Enfin, la délétion à l'état hétérozygote est retrouvée chez 4 individus de la cohorte (0,68%).

Conclusions : Nous avons développé une approche simple et robuste de génotypage de la délétion des exons 5 à 7 du gène *PIGN* par PCR HRM permettant l'analyse de 9 cas index et de leurs apparentés ainsi que d'une cohorte de 587 individus. Cette délétion est le mécanisme mutationnel majoritaire du SF, laissant supposer un effet fondateur dans la population de l'Océan Indien (Réunion et Mayotte). La fréquence d'hétérozygotie pour cette délétion est cohérente avec la fréquence de la maladie à La Réunion (0,001%), selon la loi de Hardy-Weinberg. Des explorations moléculaires complémentaires seront nécessaires chez deux individus suspects de SF non porteurs de la délétion du gène *PIGN*. Nous retrouvons également un cas index hétérozygote composite pour le gène *PIGN* (délétion d'origine maternelle et variation c.2354G > A paternelle). La variation c.2354G > A - p.(Arg785His) entraîne la substitution d'un acide aminé conservé et les prédictions bioinformatiques (SIFT et Mutation Taster) la classent comme délétère. Enfin, un génotype homozygote pour la délétion a été retrouvé chez un cas index avec une ségrégation non mendélienne (absence de la délétion chez la mère), et après élimination d'une hémizygotie par QFM-PCR, cette étude a mis en évidence pour la première fois une isodisomie uniparentale partielle d'origine paternelle par SNParray dans le SF.

#19927 : Description clinico-moléculaire d'une série de cas de troubles neurodéveloppementaux associées à GATAD2B (GAND) et précision du phénotype.**Auteurs :**

Gabriella Vera (1), Arthur Sorlin (2), Geoffroy Delplancq (2), François Lecoquierre (1), Florence Petit (3), Thomas Smol (3), Sandra Mercier (4), Alban Ziegler (5), Dominique Bonneau (5), Patrick Edery (6), Gaëtan Lesca (6), Nicolas Chatron (7), Isabelle Sabatier (8), Bénédicte Duban-Bedu (9), Cindy Colson (10), Amélie Piton (11), Benjamin Durand (11), Yline Capri (12), Laurence Perrin (12), Antje Wiesener (13), Christiane Zweier (13), Reza Maroofian (14), Chris Carroll (15), Hamid Galehdari (16), Neda Mazaheri (16, 17), Bert Callewaert (18), Fabienne Giuliano (19, 20), Khaoula Zaafrane-Khachnaoui (19), Thierry Frebourg (1), Anne-Sophie Lebre (21), Gaël Nicolas (1), Pascale Saugier-Verber (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, CHU de Rouen, Université de Rouen et Inserm, Rouen, France
2. Centre de Génétique, CHU Dijon Bourgogne, Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, INSERM 1231, Génétique des Anomalies du Développement, Université Bourgogne Franche-Comté, CHU Dijon Bourgogne, Inserm, Dijon, France
3. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHU Lille, Univ. Lille, RADEME, EA 7364, 59000, , CHU de Lille, Lille, France
4. Service de génétique médicale, CHU Nantes, CHU de Nantes, Nantes, France
5. Department of Biochemistry and Genetics, University Hospital, 49933 Angers Cedex 9, France; and UMR CNRS 6214-INSERM 1083 and PREMMI, University of Angers, 49933 Angers Cedex 9, , CHU de Angers, CNRS et Inserm, Angers, France
6. Service de génétique clinique, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Centre Est- HCL, CHU de Lyon, Lyon, France
7. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est CHU de Lyon HCL - GH Est, CHU de Lyon, Lyon, France
8. Department of pediatric neurology, Lyon University Hospitals, CHU de Lyon, Lyon, France
9. Cytogenetics Service, Saint Vincent de Paul Catholic Hospitals Association of Lille, Free Faculty of Medicine, Université Catholique de Lille, Lille, France
10. Service de Génétique, CHU de Caen - Hôpital Clémenceau, CHU de Caen, Caen, France
11. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpitaux Universitaires de Stasbourg, Strasbourg, France
12. Department of Genetics, APHP-Robert DEBRE University Hospital, Denis Diderot School of Medicine, Paris University, APHP, Université de Paris, Paris, France
13. Institute of Human Genetics, Friedrich-Alexander-Universität, Erlangen-Nürnberg, Friedrich-Alexander-Universität, Erlangen, Allemagne
14. Neurogenetics Laboratory, National Hospital for Neurology and Neurosurgery, Queen Square, National Hospital for Neurology and Neurosurgery, London, Royaume Uni
15. Molecular and Clinical Sciences Institute, St George's, University of London, Cranmer Terrace, London SW17 0RE, St George's, University of London, London, Royaume Uni
16. Department of Genetics, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Shahid Chamran University , Ahvaz, Iran
17. Narges Medical Genetics and Prenatal Diagnosis Laboratory, East Mihan Ave., Kianpars., Narges Medical Genetics and Prenatal Diagnosis Laboratory, Ahvaz, Iran
18. Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent University Hospital, Gent, Belgique
19. Medical Genetics Unit 2, L'Archet Hospital, CHU de Nice, Nice, France
20. Division of Genetic Medicine, University of Lausanne, University of Lausanne, Lausanne, Suisse
21. Department of Genetics, Reims University Hospital, CHU de Reims, Reims, France

Mots clefs : GATAD2B, retard de développement, déficience intellectuelle, dysmorphie, NGS, séquençage nouvelle génération, séquençage haut débit

Résumé :

Les techniques de séquençage à haut débit ont accéléré l'identification de nouveaux gènes de déficience intellectuelle (DI) et d'anomalies du développement. Les variants pathogènes du gène *GATAD2B* ont récemment été associés à une forme syndromique de trouble neurodéveloppemental (GAND) caractérisé par une DI sévère, une altération du langage, une hypotonie infantile et une dysmorphie. Depuis, seul sept patients ont fait l'objet d'une description clinique détaillée dans la littérature, ce qui contraste avec la fréquence de détection de variants perte de fonction (LoF) de *GATAD2B* rapportés comme causals dans les bases de données. Nous décrivons 15 nouveaux patients dont le diagnostic de syndrome GAND a été confirmé sur le plan moléculaire et précisons le phénotype associé. Dans cette étude, le retard de développement était sévère avec un âge médian pour l'acquisition de la marche libérée de 2,6 ans (intervalle [2-5]) et un âge médian de 3 ans pour les premiers mots (intervalle [1-6]). Le langage progressait peu et lentement par la suite, certains patients restaient sans langage, dont les deux plus âgés qui avaient plus de 30 ans. La DI était en général modérée à sévère, avec trois cas sévères, un cas de DI profonde et un de DI légère. Les traits dysmorphiques les plus observés étaient un grand front, des fentes palpébrales étroites, une énophtalmie, un hypertélorisme, une base du nez large, une bouche aux coins tombants, et un menton pointu. La médiane du périmètre crânien (PC) était décalée de deux déviations standards (SD) par rapport à la population générale. Par ailleurs, les complications prénatales, les malformations extra-cérébrales, l'épilepsie et les traits autistiques étaient peu fréquents. Étaient également rapportés des difficultés alimentaires, des troubles du comportement et des anomalies non-spécifiques à l'IRM cérébrale. Les approches de séquençage haut débit ont contribué à une meilleure détection des variants de *GATAD2B*. En améliorant notre connaissance du phénotype clinique de ce syndrome nous pourrions faciliter l'interprétation des variants identifiés et adapter le suivi des patients.

Pièce jointe : GATAD2B_Abstract pour assises 2020.docx

#20267 : Prédilection au carcinome hypercalcémiant de l'ovaire par mutation du gène SMARCA4 : à propos d'un cas et revue de la littérature**Auteurs :**

Mathis LEPAGE (1), Nancy UHRHAMMER (1, 2), Flora PONELLE-CHACHUAT (1, 2), Maud PRIVAT (1, 2), Mathilde GAY-BELLILE (1, 2), Sandrine VIALA (1), Yannick BIDEZ (1, 2), Mathias CAVAILLE (1, 2), Yves-Jean BIGNON (1, 2)

1. Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France

2. Imagerie Moléculaire et Stratégies Théranostiques UMR1240, Université Clermont Auvergne, INSERM, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : carcinomes hypercalcémiants à petites cellules de l'ovaire, annexectomie prophylactique, SMARCA4, dépistage, prévention

Résumé :

Les carcinomes hypercalcémiants à petites cellules de l'ovaire ou SCCOHT (Small cell carcinoma of the ovary of hypercalcemic type) sont exceptionnels (1% des cancers ovariens) et de très mauvais pronostic (survie à 5 ans tous stades confondus < 10%). Ces tumeurs rhabdoïdes indifférenciées surviennent chez la femme jeune (âge médian : 24 ans), et sont génétiquement prédisposées dans 40 % des cas, secondaires à une mutation constitutionnelle à l'état hétérozygote du gène *SMARCA4*.

Nous présentons une patiente âgée de 25 ans adressée pour une SCCOHT rapidement progressive (pT1C2, Figo IC2, compliquée d'une carcinose péritonéale), sans antécédent familial. Une analyse en panel de gènes a identifié un variant pathogène constitutionnel à l'état hétérozygote de *SMARCA4* (NM_001128849.1) : c.300_301del ; p.(Gly102Profs*26)).

Il n'existe à l'heure actuelle aucune recommandation pour la prise en charge de ces patientes et de leurs apparentées.

Chez les patientes indemnes présentant une mutation dans ce gène, l'annexectomie prophylactique est proposée dans la littérature, due à une pénétrance élevée mais indéterminée des mutations *SMARCA4*, d'un dépistage non efficace et d'un pronostic sombre même pour un stade précoce (taux survie à 5 ans stade I de 30-50%). L'âge auquel proposé cette chirurgie est difficile à déterminer : la survenue de SCCOHT chez des enfants a été décrite (cas le plus précoce : 14 mois), mais les conséquences d'une annexectomie prophylactique (ostéoporose, troubles cognitifs et cardiovasculaires, infertilité) sont d'autant plus sévères que précoces. Les données de la littérature orientent néanmoins vers une chirurgie prophylactique réalisée précocement, avant la ménarche au cas par cas.

Les anomalies constitutionnelles de *SMARCA4* sont également responsables du syndrome de prédisposition aux tumeurs rhabdoïdes, qui expose à des tumeurs rhabdoïdes multiples et précoces. Cependant, les familles présentant uniquement des SCCOHT ne semblent pas exposées à un risque d'autres types de tumeurs rhabdoïdes, et une prise en charge du seul risque ovarien paraît nécessaire.

En conclusion, tout diagnostic de SCCOHT doit amener à une recherche de mutation constitutionnelle de *SMARCA4*. La prise en charge des apparentés porteur de la mutation et indemne de cancer doit être réalisée dans un centre expert, de manière multidisciplinaire et en discussion avec la patiente, en raison de ses conséquences.

Pièce jointe : SCCOHT Mathis Assises.docx

#20050 : MG132 induit la clairance de la progérine et améliore les phénotypes cellulaires chez des patients atteints de progeria-like**Auteurs :**

Karim Harhouri (1), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1), Nicolas Lévy (1)

1. INSERM U1251, Marseille Medical Genetics (MMG), Marseille, France

Mots clefs : HGPS-like, Progérine, MG132, autophagie

Résumé :

La Progéria de Hutchinson-Gilford (HGPS ; OMIM # 176670) est une maladie génétique rare caractérisée par un vieillissement prématuré et accéléré, affectant une naissance sur 4 à 8 millions. Ce syndrome résulte d'une mutation *de novo* dans l'exon 11 du gène *LMNA* codant les lamines A et C, filaments intermédiaires nucléaires. Cette mutation silencieuse, découverte par notre équipe en 2003, induit l'activation d'un site cryptique d'épissage, principalement régulé par le facteur d'épissage SRSF-1, et la synthèse d'une forme tronquée et farnésylée de prélamine A, la progérine. Celle-ci s'accumule dans les noyaux cellulaires exerçant un effet toxique qui affecte la distribution et l'organisation structurale de la matrice nucléaire et de nombreuses voies de signalisation et de régulation de l'homéostasie nucléaire. Les enfants atteints de progéria présentent un retard de croissance, une peau fine, une perte du tissu adipeux sous-cutané, une alopecie, une ostéoporose et une atteinte cardiovasculaire majeure entraînant le décès à un âge moyen de 14,6 ans.

Nous avons montré que l'inhibiteur du protéasome MG132 induit la dégradation de la progérine par macroautophagie et diminue sa production par la réduction des niveaux d'expression de SRSF-1 et l'augmentation des niveaux d'expression de SRSF-5, contrôlant l'épissage aberrant de l'ARNm de la prélamine A. Le traitement avec MG132 réduit la sénescence et améliore la viabilité et la prolifération des fibroblastes de patients HGPS. *In vivo*, l'injection intramusculaire de MG132 réduit localement l'expression de la progérine et de SRSF-1 chez des souris modèle de la progéria *Lmna*^{G609G / G609G}.

D'autres mutations *de novo* hétérozygotes du gène *LMNA* ont été identifiées chez des patients HGPS-like présentant des phénotypes progéroides. Ces mutations affectent l'épissage de l'exon 11 conduisant à la production de progérine et/ou d'autre isoformes de prélamine A tronquée (D35 et D90). Afin d'élargir la cohorte des patients éligibles à un traitement par MG132, nous avons testé l'efficacité de cette approche dans les cellules de patients atteints de HGPS-like. Nous montrons que le traitement par MG132 réduit les niveaux d'expression des isoformes aberrantes de prélamine A ainsi que le taux de sénescence cellulaire et des cassures doubles brins de l'ADN. Le traitement par MG132 augmente la prolifération et la migration cellulaires et restaure certaines protéines dont l'expression est altérée dans les cellules des patients (Lamine B, LAP2 α , Tri-Me-K9). Nous montrons également que le blocage de la dégradation d'I κ B (inhibiteur de NF κ B) par MG132 réduit fortement la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8, TNF α) qui sont surexprimées dans les cellules des patients HGPS.

Au total, nous montrons une clairance de la progérine induite par une double action du MG132 : celle-ci constitue de ce fait une molécule à très fort potentiel thérapeutique pour les enfants atteints de progeria et des maladies apparentées.

Pièce jointe : Abstract MG132 HGPSL assises 2019 Karim Harhouri.doc

#19966 : Inv dup(15) marqueur chromosomique surnuméraire : à propos d'un cas

Auteurs :

hasna hamdaoui (1), Fatima Chegiani (2), Houda Benrahma (3, 4), oumaïma Benlarroubia (5), hind Dehbi (6)

1. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital cheikh khalifa, faculté des sciences Ain Chock, université Hassan II , Casablanca, casablanca, Maroc
2. , Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc
3. , Université Mohammed VI des Sciences de la Santé, Casablanca, Maroc
4. Pôle cytogénétique, Laboratoire National de référence, Casablanca, Maroc
5. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital cheikh khalifa, casablanca, Maroc
6. laboratoire de genetique medicale CHU casablanca, laboratoire de pathologie cytologie moleculaire, faculte de medecine de casablanca, universite Hassan II, casablanca, Maroc

Mots clefs : marqueur chromosomique, ACPA, Inv dup(15)

Résumé :

Introduction :

La cytogénétique reste un moyen de première intention pour l'exploration des anomalies chromosomiques associées à une déficience intellectuelle et/ou aux malformations congénitales (DI et/ou MC). Il est aujourd'hui complété par l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) pour l'étude globale du génome en offrant une résolution 10 à 500 fois supérieure et en donnant accès au contenu génique de la région remaniée, elle détecte des déséquilibres génomiques avec une résolution 10 à 500 fois supérieure à celle du caryotype (qui est de 5 à 10 millions de paires de bases ou 5-10 Mb). L'étude par cette technique, des patients présentant une déficience intellectuelle et/ou des malformations congénitales, a permis de détecter 10 à 15 % d'anomalies non visibles sur le caryotype

Patient et méthodes :

Nous rapportons dans ce travail le cas d'un enfant adressé en consultation de génétique médicale pour une déficience intellectuelle et trouble de l'apprentissage, chez lequel un caryotype métaphasique a été réalisé en premier à partir de cultures de lymphocytes à 37°C pendant 72h. Les préparations chromosomiques sont obtenues selon les techniques standards avec RHG banding. Une ACPA a été réalisée ultérieurement chez le patient.

Résultat :

Le caryotype conventionnel a montré la présence d'un marqueur chromosomique surnuméraire rappelant la structure d'un chromosome 22.

L'analyse ACPA chez ce patient a permis d'identifier le marqueur surnuméraire présent au caryotype standard comme étant un dérivé d'un chromosome 15. La chromatine présente dans ce dérivé 15 provient de la région subcentromérique (15q11.2-q13.2). Une partie de cette région est présente en deux copies sur le marqueur : 15q11.2q13.1 (22770421_30370017), et par conséquent il existe une tétrasomie de cette région.

Une seconde partie du marqueur est présente en une copie : 15q13.1q13.3 (30370017_32439524), par conséquent il existe une trisomie de cette région.

Il s'agit probablement d'une duplication inversée 15q11 (inv dup(15) ou syndrome du chromosome 15 isodicentrique (idic (15))).

Le conseil génétique doit être prudent : le syndrome de dup15q11-q13 est en général sporadique, rarement familial.

Conclusion :

Le caryotype reste un élément diagnostique important dans la déficience intellectuelle. Cependant il doit être complété par des techniques comme l'ACPA pour améliorer la détection des anomalies invisibles sur le standard.

#20544 : ATM data bank : création d'une base nationale des variants du gène ATM

Auteurs :

Jessica LE GALL (1), Alice FIEVET (2), Catherine DUBOIS D'ENGHIEN (1), Sandrine CAPUTO (1), Eve CAVACIUTI (3), Dotothée LE GAL (3), Lisa GOLMARD (1), Nadine ANDRIEU (3), Fabienne LESUEUR (3), Dominique STOPPA-LYONNET (1)

1. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, Institut Curie, Paris, France
2. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, Institut Gustave Roussy, Paris, France
3. Plateforme d'investigation en génétique et épidémiologie des cancers, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : ATM, base de données

Résumé :

L'interprétation des variants nucléotidiques à l'ère du séquençage haut débit est un challenge majeur. En oncogénétique, les panels de gènes de prédisposition aux cancers s'étoffent régulièrement de nouveaux gènes. La mise en place de bases de données pour chaque gène est indispensable afin de recueillir et diffuser l'interprétation des variants. Ces bases permettent ainsi d'améliorer et d'uniformiser les rendus d'analyses génétiques. Plusieurs études ont montré que les variants pathogènes d'*ATM* augmentaient le risque de cancers, notamment du sein, du pancréas et de la prostate. Cependant, ces risques sont imprécis et de nombreuses études nationales et internationales sont en cours pour préciser ces risques ; ce gène pourrait donc rapidement être analysé en routine diagnostique en oncogénétique. L'interprétation biologique de variants de signification inconnue d'*ATM* est donc fondamentale.

Le gène *ATM* (NM_000051.3) code une serine-thréonine kinase qui joue un rôle majeur dans la signalisation des cassures double brin de l'ADN. La prévalence des porteurs d'un variant *ATM* pathogène pour l'A-T à l'état hétérozygote dans la population générale est estimée à 1/150. L'inactivation constitutionnelle biallélique de ce gène conduit à une maladie rare : l'Ataxie-Télangiectasie (A-T). A l'Institut Curie, *ATM* est étudié dans un contexte d'A-T depuis 1995 et plus récemment devant certaines formes familiales de cancers. Contrairement aux patients porteurs d'un variant hétérozygote, les patients A-T peuvent bénéficier de tests fonctionnels afin d'évaluer la pathogénicité de leurs deux variants. Ainsi nous avons créé une base de données de variants identifiés et caractérisés chez ces patients A-T que nous enrichissons de variants constitutionnels identifiés chez des patients atteints de cancer et de variants acquis lors du processus tumoral.

Ainsi, chez 379 enfants A-T non apparentés testés à l'Institut Curie, 446 variants différents ont été mis en évidence. Chez 181 cas index de familles de cas de cancers du pancréas ou de la prostate, 3 variants pathogènes et 15 variants de signification clinique inconnue différents ont été identifiés. En parallèle, l'étude nationale TUMOSPEC permettant le séquençage d'*ATM*, entre autres, dans un contexte de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire a permis d'identifier 26 autres variants (12 étant classés comme pathogènes pour l'A-T et 14 de signification inconnue).

Lorsqu'*ATM* sera inclus dans les gènes de prédispositions aux cancers, il sera fréquent de détecter des variants dont l'interprétation sera parfois difficile. La mise à disposition de ces données sous forme d'une base de données à l'attention des laboratoires de diagnostic du Groupe Génétique et Cancer sera alors un outil de diagnostic précieux pour le conseil génétique mais également à visée thérapeutique pour l'inclusion dans des essais thérapeutiques.

#20181 : Analyse par panel commun de l'ADNmt et de 244 gènes nucléaires responsables de cytopathie mitochondriale.

Auteurs :

Benoit Rucheton (1), Magalie Lodin (1), Sandrine Filaut (1), Damien Sternberg (1), Dominique Bonnefond Rousselot (1), Pascale Richard (1), Claude Jardel (1)

1. U.F. Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, AP-HP6, GHU La Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : mitochondrie / NGS / ADNmt

Résumé :

Les maladies mitochondriales, sont des maladies de présentation clinique très variée et de diagnostic difficile. Elles sont dues à l'altération de gènes localisés soit sur l'ADN mitochondrial (ADNmt), soit sur le génome nucléaire (ADNg). Les investigations génétiques portent sur le séquençage de la totalité de l'ADNmt puis en cas de négativité sur des panels larges de gènes nucléaires. Seule la mise en évidence du gène causal permet d'affirmer le diagnostic de maladie mitochondriale. Cette stratégie nécessite dans la plupart des cas 2 étapes puisque la mise en évidence d'un variant pathogène de l'ADNmt est assez rare en particulier en pédiatrie. L'utilisation d'un panel commun ADNmt +ADNg est actuellement peu réalisée du fait de la présence dans l'ADNg de pseudogènes mitochondriaux et donc par crainte d'un mauvais séquençage de l'ADNmt. Nous avons effectué une comparaison de la détection des variants de l'ADNmt entre notre nouveau panel commun et notre technique de séquençage actuelle de l'ADNmt. Le but est de pouvoir rendre des résultats les plus complets le plus rapidement.

Méthode

Les ADN de 15 patients ont été étudiés par les deux techniques. Les ADN extraits des leucocytes ou muscle ont été analysés par un panel NGS-capture (Roche NibelGen, Madison, WI, USA), comprenant les exons et les jonctions exon-intron de 244 gènes associés aux maladies mitochondriales et l'intégralité de l'ADNmt. L'analyse isolée de l'ADNmt est réalisée à partir d'une amplification par PCR longue de l'ADNmt en 2 fragments de grande taille 15 kb et 13 kb qui permettent de couvrir intégralement l'ADNmt. Les deux produits de ces PCR chevauchantes sont réunis et subissent une tagmentation avec le kit Nextera®XT DNA. Les deux séquençages sont effectués sur MiSeq, Illumina. La profondeur, la couverture, le nombre de variant par patient, leur concordance ainsi que leur hétéroplasmie ont été comparés.

Résultats

- Les profondeurs et couvertures pour l'ADNmt sont bonnes pour les deux méthodes et supérieures au seuil limite choisi par le réseau Mitodiag. L'ajout de l'ADNmt ne modifie pas ces paramètres pour l'ADNg.
- Une seule discordance a été observée mais celle-ci provenait du fait que les deux tissus testés étaient différents : muscle et leucocytes. L'absence de la détection du variant pathogène dans les leucocytes par la capture a été confirmée par séquençage sanger. Cette mutation n'était présente que dans le muscle à 70% d'hétéroplasmie.
- L'étude de 3 patients présentant des variants pathogènes a montré que les deux méthodes permettaient leur détection avec la même hétéroplasmie

Conclusion

L'analyse commune des deux ADN sur le même panel ne modifie pas les performances analytiques pour la détection des variant de l'ADNmt ni la couverture de l'ADNg. Cependant elle permet de donner aux cliniciens un résultat plus complet rapidement en particulier en pédiatrie où les gènes les plus souvent impliqués sont nucléaires.

#20340 : Mise en place d'une approche intégrée génotype-transcrits-protéine-hérédité-phénotype chez des patients myopathes suspects de titinopathie**Auteurs :**

Aurélien PERRIN (1), Raul JUNTAS-MORALES (2), Edoardo Malfatti (3), Corinne METAY (4), François RIVIER (5), Claude CANCES (6), Ulrike WALTHER-LOUVIER (5), Emmanuelle URO-COSTE (7), Nicolas LEBOUQCQ (8), Robert-Yves CARLIER (9), Valérie RIGAU (10), Isabelle RICHARD (11), Corinne THEZE (12), Delphine LACOURT (13), Henri PEGEOT (1), Reda ZENAGUI (13), Tanya Stojkovic (14), Henk GRANZIER (15), Michel KOENIG (16), Mireille COSSEE (16)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Montpellier, Université Montpellier, Montpellier, France
2. Département de Neurologie, CHU, Montpellier, France
3. Service Neurologie Médicale, CHU Raymond-Poincaré, GARCHES, France
4. Unité Fonctionnelle de Cardiogénétique et Myogénétique moléculaire et cellulaire. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique et INSERM UMRS 974, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière-Charles Foix, PARIS, France
5. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU, Montpellier, France
6. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU, Toulouse, France
7. Département d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU, Toulouse, France
8. Neuroradiologie, CHU Montpellier, Université Montpellier, Montpellier, France
9. DMU smart Imaging, Medical Imaging Department Raymond Poincaré Teaching Hospital, Garches, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (AP-HP), PARIS, France
10. Département de Biopathologie cellulaire et tissulaire des tumeurs, CHU, Montpellier, France
11. INSERM, UMR951 INTEGRARE research unit, GENETHON, EVRY, France
12. Laboratoire de Génétique moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
13. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Montpellier, France
14. Myology Institute, Neuromuscular Pathology Reference Center, Groupe Hospitalier Universitaire La Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
15. Department of Cellular and Molecular Medicine, University of Arizona, Tucson, Etats-Unis
16. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Université Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : TITINOPATHIES - CORRELATIONS PHENOTYPE GENOTYPE - ETUDES FONCTIONNELLES

Résumé :

Les titinopathies sont dues à des altérations de la titine, protéine géante du sarcomère codée par le gène *TTN*. Les bases moléculaires de l'extrême variabilité clinique et des modes d'hérédité dominant ou récessif sont mal connues et il est le plus souvent impossible de statuer quant au caractère pathogène des variants *TTN* identifiés chez les patients. En raison de la taille géante de la protéine (3,7MDa), peu d'équipes au sein de la communauté internationale, et aucune équipe française, ne proposait l'analyse en Western-blot (WB) de la titine en pratique diagnostique.

Nous avons identifié par NGS, chez des patients atteints de myopathie squelettique avec ou sans cardiomyopathie, plusieurs variants *TTN* potentiellement pathogènes. Une part importante de ces variants affecte les domaines d'interaction à la chaîne lourde de la myosine. Grâce à une collaboration internationale, nous avons mis au point l'analyse en WB de la titine à partir de biopsies musculaires.

L'objectif de notre projet est évaluer, chez 50 patients suspects de titinopathie, les conséquences des variants *TTN* sur les transcrits, la protéine et ses interactions protéiques, puis de les corrélés aux données familiales et phénotypiques. Nous présentons les premiers résultats de cette approche intégrée, incluant la caractérisation d'un nouveau phénotype associé à un CNV et la mise en évidence chez des patients avec titinopathie congénitale d'un déficit secondaire en myosine, jamais rapporté à ce jour.

Cette approche intégrée devrait améliorer le diagnostic des patients, permettre d'étendre le spectre mutationnel et clinique des titinopathies et de participer à l'effort international pour comprendre les bases moléculaires des titinopathies.

#20426 : Deux nouveaux cas de microdélétion interstitielle 7q36.1 incluant CNTNAP2

Auteurs :

Lucie Tosca (1, 2), Loïc Drévilion (3), Laure Lecerf (4), Audrey Briand-Suleau (5), Valérie Ortonne (6), Virginie Benoit (7), Sophie Brisset (8, 2), Lionel Van Maldergem (9), Quitterie Laudouar (10), Michel Goossens (11), Irina Giurgea (12), Gerard Tachdjian (13, 14), Corinne Métay (15)

1. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, AP-HP. Université Paris Saclay, hôpital Antoine Bécère, Clamart, France
2. Faculté de Médecine, Université Paris Sud Paris Saclay, Le Kremlin Bicêtre, France
3. AP-HP Hôpitaux Universitaires AP-HP. Sorbonne Université, La Pitié Salpêtrière, SIRIC Curamus, Paris, France
4. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U955, Université Paris-Est, Faculté de Médecine, Créteil, France
5. Service de Génétique et Biologie Moléculaires - Plateforme NGS, AP-HP. Centre - Université de Paris, hôpital Cochin, Paris, France
6. Service de Génétique, AP-HP. Hôpitaux Universitaires Henri Mondor, Créteil, France
7. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, AP-HP. Centre - Université de Paris, hôpital Cochin, Paris, France
8. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, Clamart, France
9. Centre de génétique humaine, Pôle Biologie et Anatomie Pathologique, CHRU de Besançon - Hôpital Saint-Jacques, Besançon, France
10. Service de Réanimation néonatale, AP-HP. Université Paris Saclay, hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
11. Service de Biochimie et Génétique, AP-HP. Centre - Université de Paris, hôpital Cochin, Paris, France
12. U.F Génétique Moléculaire, Département de Génétique médicale, AP-HP, CHU Paris Est, hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France
13. Faculté de Médecine, AP-HP. Université Paris Saclay, hôpital Antoine Bécère, Clamart, France
14. Faculté de Médecine, AP-HP. Université Paris Saclay, Clamart, France
15. UF de Cardiomyogénétique et myogénétique, Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire, AP-HP, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : CNTNAP2, microdélétion 7q36.1, retard du développement psychomoteur, épilepsie, particularités morphologiques

Résumé :

Nous rapportons les cas de deux patients avec une microdélétion interstitielle 7q36.1 de taille 4,3Mb et 4,8Mb, rarement décrite. Le contenu en gènes est comparable incluant *CNTNAP2* qui code pour la contactin-associated protein-like 2, famille des neurexines, protéines transmembranaires pré-synaptiques impliquées dans l'adhésion inter-neuronale. *CNTNAP2* est lié à une forme récessive de déficience intellectuelle apparentée au syndrome de Pitt-Hopkins. L'identification et la caractérisation des causes moléculaires responsables de ces troubles et leur corrélation avec le phénotype des patients est essentielle à leur diagnostic.

Le premier cas est une patiente dont la mère a présenté une grossesse avec élévation des marqueurs sériques. L'amniocentèse a montré un caryotype conventionnel 46,XX normal, confirmé en période post-natale. L'enfant, née à terme, avait un périmètre crânien à -2,2DS. Un retard du langage, une déficience intellectuelle légère et une hypotonie ont par la suite été observés. Après un premier épisode de convulsions à l'âge de 3 ans, celles-ci se sont généralisées. Elle a acquis la marche à l'âge de 22 mois. L'examen clinique à 6 ans a montré un périmètre crânien à -2DS ainsi que des particularités morphologiques crânio-faciales. Une hypertrichose est présente au niveau des coudes. La face externe des genoux présente un éperon osseux. Le bilan étiologique réalisé alors s'est avéré négatif (X fragile, MPLA télomérique, FISH 22q11.21, IRM et radio de l'hémisphère).

Le deuxième cas est celui d'un patient de 3 ans. La grossesse a été marquée par un diabète gestationnel, un dépistage combiné du premier trimestre à risque (DPNI négatif). L'enfant est né à 38SA dans un contexte d'anomalies du rythme cardiaque fœtal à type d'extrasystoles. L'examen clinique a révélé une hypotonie axiale et périphérique, un excès de peau, des pieds en piolet, des mamelons écartés et à hauteur différente, une cryptorchidie et des particularités morphologiques crânio-faciales. A l'âge d'un mois le suivi oculaire était peu présent, le tonus périphérique était satisfaisant mais l'hypotonie axiale toujours marquée. L'IRM cérébrale a montré une agénésie partielle du corps calleux sans anomalie de signal de la substance blanche.

L'analyse par CGH-array (Agilent 180K) a montré respectivement les formules chromosomiques suivantes : $arr[GRCh37]7q36.1q36.1(147,157,477 \times 2,148,047,494-152,379,990 \times 1,152,012,189 \times 2)$ et $arr[GRCh37]7q35q36.1(148,039,951 \times 2,147,180,572-152,004,588 \times 1,152,397,173 \times 2)$. Ces microdélétions ont été confirmées par FISH. L'analyse des parents a montré leur caractère *de novo*.

Afin d'identifier un deuxième évènement moléculaire dans le gène *CNTNAP2*, il sera présenté le résultat du séquençage du gène pour les deux patients. L'étude détaillera également la corrélation génotype-phénotype en comparant nos résultats avec les cas rapportés et en étudiant la fonction des gènes d'intérêt compris dans la délétion 7q36.1.

Pièce jointe : Abstract Assises Délétion 7q.docx

#20333 : Perte d'expression conjointe de SDHB et de FH dans une tumeur du rein de bas grade de malignité chez une patiente porteuse d'une léiomyomatose cutané-utérine.**Auteurs :**

Caroline Abadie (1), Nathalie RIOUX-LECLERCQ (2), Christine KANDEL-AZNAR (3), Sophie FERLICOT (4), Georges Karam (5), Alice FIEVET (6), Etienne ROULEAU (6), Brigitte BRESSAC DE PAILLERETS (7), Stéphane RICHARD (8)

1. Unité d'Oncogénétique, Institut de Cancérologie de l'Ouest, Saint-Herblain, France
2. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Rennes, RENNES, France
3. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Nantes, NANTES, France
4. (4) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpitaux Universitaires Paris Sud , Hôpital de Bicêtre, LE KREMLIN-BICETRE , France
5. Service d'Urologie, CHU Nantes, NANTES, France
6. Service de Génétique Moléculaire, Institut Gustave Roussy , VILLEJUIF, France
7. Service de Génétique Moléculaire, Institut Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
8. (7) Réseau National pour Cancers Rares de l'Adulte PREDIR labellisé par l'INCa Centre de Référence, Hôpital de Bicêtre, LE KREMLIN-BICETRE, France

Mots clefs : cancer rein, FH, immunohistochimie

Résumé :

La léiomyomatose cutané-utérine héréditaire avec cancer rénal (OMIM 605839), liée au gène FH codant la fumarate hydratase, prédispose au développement de léiomyomes cutanés, utérins multiples et au cancer du rein. Les cancers du rein initialement décrits sont de type papillaires de type 2. Depuis la mise en place des analyses génétiques en panel de gènes en séquençage haut débit, d'autres types histologiques de tumeurs rénales majoritairement de haut grade, ont été retrouvés chez des patients porteurs d'une mutation constitutionnelle du gène FH.

Nous rapportons le cas d'une patiente prise en charge à 30 ans par néphrectomie partielle pour une tumeur rénale droite difficilement classable avec une perte d'expression conjointe de SDHB et de FH pour laquelle une mutation constitutionnelle délétère du gène FH a été identifiée.

Le diagnostic de tumeur rénale a été réalisé dans le cadre d'explorations initiales d'un fibrome utérin. Sur le plan familial, on retenait un antécédent de carcinome à cellules claires du rein bilatéral aux âges de 63 et 72 ans chez la grand-mère maternelle. Sur le plan anatomopathologique, cette lésion kystique, difficile à classer, correspondait à une tumeur de bas grade de malignité devant faire éliminer en premier lieu un carcinome avec mutation SDHB compte-tenu de la perte d'expression en immunohistochimie de SDHB. Cette information, transmise à la patiente, orientait donc vers une prédisposition liée au gène SDHB. L'analyse constitutionnelle des principaux gènes de prédisposition aux tumeurs du rein (VHL, FH, FLCN, SDHB, BAP1, MET et MTF) a permis l'identification, non pas d'une mutation du gène SDHB, mais d'une mutation faux-sens délétère connue et fréquente du gène FH [c.349G > C (p.Ala117Pro)]. L'étude d'expression en immunohistochimie de FH, demandée a posteriori, retrouvait une perte d'expression conjointe de FH. Le test génétique prédictif est actuellement en cours chez la mère. Au total, une mutation constitutionnelle délétère du gène FH a été identifiée de façon inattendue au vu des résultats d'immunohistochimie chez une patiente présentant une tumeur rénale de bas grade. A notre connaissance, il s'agit du premier cas rapporté de tumeur rénale de bas grade de malignité avec perte d'expression conjointe de FH et SDHB dans un contexte de mutation constitutionnelle de FH.

#20210 : Le séquençage entier du gène MYBPC3 optimise le diagnostic moléculaire des cardiomyopathies hypertrophiques.**Auteurs :**

Alexandre JANIN (1, 2), Valérie CHANAVAT (1), Pierre-Antoine ROLLAT-FARNIER (3), Claire BARDEL (3), Karine NGUYEN (4), Emilie CONSOLINO (5), Philippe CHEVALIER (6), Antoine DELINIERE (7), Jean-Christophe EICHER (8), Laurence FAIVRE (9), Juliette PIARD (10, 11), Emma ALBERT (12), Séverine NONY (12), 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. Plateforme NGS-HCL, Cellule bioinformatique, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France, Lyon, France
4. Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France
5. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, APHM, Marseille, France
6. Centre de référence des troubles du rythme héréditaires, Hôpital Cardiologique L. Pradel, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
7. Hôpital Cardiologique Louis-Pradel, Service de Rythmologie, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
8. Centre de Compétences des Cardiomyopathies, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon, Dijon, France
9. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon, Dijon, France
10. Centre de Génétique Humaine, Université de Franche-Comté, CHU Besançon, Besançon, France
11. Unité de recherche en neurosciences intégratives et cognitives EA481, Université de Franche-Comté, Besançon, Besançon, France
12. Laboratoire de Cardiogénétique moléculaire, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France, Lyon, France

Mots clefs : Séquençage à haut débit, variation intronique, épissage, étude minigène, cardiomyopathie hypertrophique

Résumé :

La cardiomyopathie hypertrophique (CMH) est la cardiomyopathie héréditaire la plus fréquente, dont la prévalence, probablement sous-estimée, est évaluée à 1/500 dans la population générale. Cette cardiomyopathie, de transmission essentiellement autosomique dominante, est familiale dans plus de 60 % des cas et se caractérise par une pénétrance incomplète et une expressivité variable. Elle est principalement causée par des mutations affectant des gènes codant des protéines du sarcomère. Plus de 40 gènes ont été rapportés dans la littérature. Parmi ceux-ci, les variations pathogènes du gène *MYBPC3*, codant la protéine C cardiaque, sont les plus fréquentes et représentent environ 50 % des variants identifiés chez les patients souffrant de CMH. Les variations pathogènes de *MYBPC3* sont constituées dans plus de 90 % des cas de variations créant des codons stop prématurés (mutations non sens, mutations d'épissage, petites délétions ou insertions à l'origine d'un décalage du cadre de lecture). Etant donné la particularité de la nature des mutations de *MYBPC3* identifiées et la fréquence élevée de ces variations dans la CMH, l'objectif de notre étude était de déterminer la prévalence de variations introniques profondes de *MYBPC3* pouvant être responsables d'une altération de l'épissage et de l'apparition d'un codon stop prématuré.

Une analyse basée sur le séquençage entier de *MYBPC3* par séquençage haut-débit (NGS) a été réalisée sur une cohorte de 93 patients atteints de CMH et pour lesquels l'analyse d'un panel de 48 gènes impliqués dans les cardiomyopathies n'avait pas permis de mettre en évidence de variations pathogènes ou probablement pathogènes.

Notre approche nous a permis d'identifier une variation pouvant affecter l'épissage chez 6 patients de cette cohorte (6,5%, 6/93). Ces cas index étaient porteurs soit d'un grand réarrangement de *MYBPC3* (1 cas) soit d'une variation ponctuelle entraînant une anomalie de l'épissage (5 cas). Quatre nouvelles variations pathogènes introniques ont ainsi été détectées. La validation de leur pathogénicité a été effectuée par technique minigène associée à l'analyse des ARN leucocytaires ectopiques et à l'étude de ségrégation, quand celle-ci était possible. La prévalence de la variation c.1927+600C > T, retrouvée chez 2 cas index non apparentés de la cohorte, a ainsi été estimée à environ 0,35% par l'analyse par PCR digitale de 1040 individus non apparentés atteints de CMH et pour lesquels l'analyse moléculaire s'était avérée négative.

Cette étude suggère que les variations introniques profondes du gène *MYBPC3* sont responsables d'une part significative des CMH (6,4% de cette cohorte). Le séquençage systématique des séquences introniques du gène *MYBPC3* semble donc être une piste intéressante pour augmenter significativement l'efficacité du diagnostic moléculaire de cette pathologie.

Pièce jointe : Abstract Whole MYBPC3 V2 GM PC KN JP CB LOF UCS.docx

#19904 : Consultation de groupe en oncogénétique : intérêt et satisfaction des patients

Auteurs :

Allan LANÇON (1, 2), Sophie NAMBOT (1, 2), Geoffrey BERTOLONE (1, 2), Béatrice GEORGES (1), Elodie COSSET (1), Amandine BAURAND (1, 2), Marion ROBERT (1, 2), Caroline SAWKA (1, 2), Audrey JAYET (1), Laurence FAIVRE (2, 1)

1. Oncogénétique, Centre Georges-François Leclerc, Dijon, France
2. Centre de génétique, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : Oncogénétique, consultation, groupe, satisfaction

Résumé :

INTRODUCTION

Dans un objectif **d'amélioration de la prise en charge des patients**, il existe des pistes pour apporter une **meilleure qualité d'information et d'échanges** durant les consultations d'oncogénétique. L'une d'elle est l'organisation de consultations de groupe pour les cas index orientés dans le cadre d'une indication identique. Certaines études se sont intéressées à cette modalité de consultation dans un but de raccourcir les délais d'attente, d'autres pour évaluer l'effet sur la compréhension des patients sur les informations délivrées. L'objectif dans cette étude est cette fois d'étudier l'intérêt des patients autour d'un support d'explication et des échanges avec des autres personnes concernées.

MATERIEL ET METHODES

Cette approche a été testée 1 fois par mois lors d'une expérience pilote de 3 mois, avec des groupes de 8 à 10 patientes orientées dans le cadre d'une recherche de prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire. Lors de la prise de rendez-vous téléphonique, les deux modes de consultations ont été proposés aux patientes de manière neutre et factuelle. Il leur a été précisé que les délais de rendez-vous étaient identiques quelle que soit la modalité de consultation, pour ne pas influencer leur décision. Leur choix ainsi que les motivations qui les sous-tendent ont ainsi pu être recueillis.

Le déroulé de la consultation était le suivant : **un 1^{er} temps en groupe, d'environ 45 minutes**, avec **présentation des informations générales** à l'aide d'un **diaporama illustré**, puis **réponse à toutes les questions éventuelles**. Dans **un 2nd temps**, les patientes sont reçues **à tour de rôle** pour une **consultation courte de 15 à 20 minutes** maximum afin de revoir leur histoire personnelle et familiale du cancer préalablement complétée dans un document à cet effet, recueillir leur consentement éclairé, répondre aux questions qu'ils n'auraient pas souhaité poser en groupe, et prescrire l'analyse génétique le cas échéant. En sortie de consultation de groupe, la satisfaction des patientes a été évaluée au travers d'un court questionnaire.

RESULTATS

La consultation de groupe a été acceptée par 30% des patientes contactées. L'analyse des motivations montre que l'acceptation semble d'une part directement associée au bon état général de la patiente, autant physique que psychologique et d'autre part associée à leur proximité géographique et à une plus large disponibilité. L'analyse préliminaire de la satisfaction générale relevée après la première des trois consultations de groupe, a été excellente. Elles ont également apprécié et bénéficier des échanges dans le groupe. Les praticiens ont pu aussi apprécier cette modalité, qui permet de transmettre une seule fois les mêmes informations. Les résultats définitifs seront disponibles au mois de décembre et détaillés dans le poster.

L'objectif de ce travail est de mesurer l'intérêt du dispositif et la satisfaction des patients afin d'envisager de pérenniser ou non ce mode de consultation innovant.

Pièce jointe : RESUME POSTER v4 Consultation de groupe en oncogénétique.docx

#20410 : Le gène MDR1 et la Prédisposition à la leucémie myéloïde aiguë chez des sujets marocains : étude cas-témoins et méta-analyse**Auteurs :**

Oum kaltoum AIT BOUJMIA (1), Hind Dehbi (2), Hossam Hilal el idrissi (1), Mouna Lamchahab (3), Asma Quessar (3)

1. , Laboratory of Cellular and Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Pharmacy of Casablanca, University Hassan II, Casablanca, Morocco, Casablanca, Maroc
2. , Laboratory of Cellular and Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Pharmacy of Casablanca, University Hassan II, Casablanca, Maroc
3. , Department of Onco-Hematology, Ibn Rochd University Hospital, Casablanca, Morocco, Casablanca, Maroc

Mots clefs : MDR1, Leucémie myéloïde aiguë, susceptibilité, méta-analyse

Résumé :

Introduction : La leucémie myéloïde aiguë (LAM) est une maladie multifactorielle résultant d'interaction complexe entre la capacité métabolique de l'individu et l'exposition à des facteurs de risque environnementaux. Des études récentes montrent que certains gènes polymorphes sont connus d'avoir un rôle important dans la genèse de la LAM notamment les polymorphismes des enzymes impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques. Les enzymes du MDR1 appartiennent à la phase III de la détoxification, dont la fonction est la détoxification et l'élimination des cancérogènes d'origine très divers, ces enzymes protègent ainsi les cellules des dommages et des mutations induits par ces composés qui peuvent à long terme conduire à des erreurs de réplication d'ADN et plus tard favoriser l'apparition de cancers dont les leucémies. **L'objectif de notre étude était d'évaluer l'effet des polymorphismes du gène MDR1 sur le risque de développement de la LAM.**

Patients et méthodes : La population d'étude est composée de 187 patients atteints d'une LAM recrutés au Service d'Hématologie et d'Oncologie, Hôpital 20 Août, Casablanca Maroc, ainsi que 206 volontaires sains sans antécédents de LAM. L'ADN extrait avait été analysé par la technique PCR-RFLP, en utilisant les enzymes de restriction BanI et Mbo I et nous avons réalisé une méta-analyse sur les associations entre les polymorphismes du gène C2677T, C3435T du gène MDR1 et la prédisposition à la LAM. Les analyses statistiques ont été effectuées avec les logiciels Spss version 16 et le logiciel MedCalc v.11.6.1.0.

Résultats : Nos résultats génétiques ont montré que la distribution des fréquences alléliques des deux polymorphismes C2677T, C3435T du gène MDR1 était en équilibre de Hardy-Weinberg dans les deux populations malade et témoin. En comparant les fréquences alléliques et génotypiques des deux groupes, aucune différence significative n'a été décelée. D'autre part, nous avons constaté que l'âge d'apparition de la LAM chez les patients homozygotes mutés était statistiquement inférieur à celui des patients présentant un génotype hétérozygote ou homozygote sauvage pour les deux polymorphismes ($P = 0,006$; $P = 0,03$).

Notre méta-analyse a révélé une association significative entre ces deux polymorphismes et le risque de développer une LAM (modèles récessif et allélique).

Conclusion : Nous avons démontré l'absence d'association significative entre les deux polymorphismes MDR1 (C2677T, C3435T) et le risque de survenue de la leucémie myéloïde aiguë au Maroc.

#20508 : Inhibition de la traduction mitochondriale dans les fibroblastes d'un patient exprimant la variante KARS p. (Pro228Leu) et présentant une surdité neurosensorielle, développementale retard et acidose lactique

Auteurs :

Benedetta Ruzzenente (1), Zahra Assouline (2), Giulia Barcia (3, 1), Marlène Rio (2), Nathalie Boddaert (4), Arnold Munnich (5), Agnès Rötig (6), Metodi Metodiev (7)

1. , Laboratory for Genetics of Mitochondrial Disorders, INSERM U1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
2. , Departments of Pediatrics and Genetics, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Service de Génétique, Reference Center for Mitochondrial Diseases (CARAMMEL), Groupe Hospitalier Necker Enfants Malades, Assistance Publique -Hôpitaux de Paris, Paris, France
4. Service de Radiologie Pédiatrique, INSERM UMR 1163, INSERM U1000, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
5. , INSERM U1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
6. , INSERM U1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine,, Paris, France
7. , Institute IMAGINE, Paris, France

Mots clefs : mitochondria, mitoribosome, KARS, mitochndrial translation

Résumé :

Aminoacyl-tRNA synthetases are ubiquitous enzymes, which universally charge tRNAs with their cognate amino acids for use in cytosolic or organellar translation. In humans, mutations in mitochondrial tRNA synthetases have been linked to different tissue-specific pathologies. Mutations in the KARS gene, which encodes both the cytosolic and mitochondrial isoform of lysyl-tRNA synthetase, cause predominantly neurological diseases that often involve deafness, but have also been linked to cardiomyopathy, developmental delay, and lactic acidosis. Using whole exome sequencing, we identified two compound heterozygous mutations, NM_001130089.1:c.683C>T p.(Pro228Leu) and NM_001130089.1:c.1438del p.(Leu480TrpfsX3), in a patient presenting with sensorineural deafness, developmental delay, hypotonia, and lactic acidosis. Nonsense-mediated mRNA decay eliminated the truncated mRNA transcript, rendering the patient hemizygous for the missense mutation. The c.683C>T mutation was previously described, but its pathogenicity remained unexamined. Molecular characterization of patient fibroblasts revealed a multiple oxidative phosphorylation deficiency due to impaired mitochondrial translation, but no evidence of inhibition of cytosolic translation. Reintroduction of wild-type mitochondrial KARS, but not the cytosolic isoform, rescued this phenotype confirming the disease-causing nature of p.(Pro228Leu) exchange and demonstrating the mitochondrial etiology of the disease. We propose that mitochondrial translation deficiency is the probable disease culprit in this and possibly other patients with mutations in KARS.

Pièce jointe : Abstract.docx

#20362 : Impact diagnostique, pronostique et théranostique d'un panel de gènes pour les hémopathies myéloïdes réalisé par NGS: l'expérience du laboratoire Eurofins Biomnis en 2019.**Auteurs :**

VANNA GEROMEL (1), PASCAL MOUTY (1), CARINE CHAL (1), JACQUES DELAUNAY (2), SOPHIE SADOT-LEBOUVIER (2), REGIS KAPHAN (3), JOZSEF VIGVARI (4), JEAN-PIERRE COADIC (5), EVE ALEXA MARIN LA MESLEE (5), OLIVIER ROUALDES (6), CLARISSE BOURDIN (6), ALEXANDRA PETIT (7), MERCEDES ROUMIGUIERES (7), LAURE RAYMOND (1), BENOIT QUILICHINI (1)

1. GENETIQUE , LABORATOIRE EUROFINS BIOMNIS, LYON, France
2. Hématologie Clinique , HOPITAL PRIVE DU CONFLUENT , NANTES, France
3. Medecine Interne-Oncologie, CH Simone Veil , CANNES, France
4. Medecine Interne , CH SEMUR EN AUXOIS, SEMUR EN AUXOIS, France
5. LABM, BIOLOIRE, NANTES, France
6. HEMATOLOGIE CELLULAIRE , LABORATOIRE EUROFINS BIOMNIS, LYON, France
7. CYTOGENETIQUE ACQUISE, LABORATOIRE EUROFINS BIOMNIS, LYON, France

Mots clefs : NGS – Hémopathie maligne – NMP- LMC – SMD – LMMC – LAM – CHIP

Résumé :

Le diagnostic, le pronostic et le suivi des hémopathies malignes reposent sur la confrontation de données d'hématologie cellulaire, histologiques, de cytogénétique et de biologie moléculaire. La prise en charge des hémopathies malignes myéloïdes telle que définie dans la classification OMS 2017, requiert des analyses moléculaires pour conforter le diagnostic. Cette approche moléculaire permet également d'établir un pronostic et guider dans certains cas le schéma thérapeutique des patients.

Nous présentons l'expérience du laboratoire Eurofins Biomnis sur l'année 2019. Nous avons sélectionné des cas cliniques pour lesquels les résultats de l'analyse NGS ont contribué soit en une amélioration de la prise en charge du patient soit à se poser des questions sur une valeur diagnostique ou pronostique des anomalies moléculaires observées.

Les thématiques abordées, issues des résultats obtenus de ces cas cliniques (n=20), sont :

- Aide diagnostique pour une leucémie myéloïde chronique (LMC) atypique
- Aide pronostique dans le cadre des myélofibroses primitives (Score MIPSS70+)
- Aide diagnostique pour les leucémies myélomonocytaires chroniques (LMMC)
- Aide pronostique dans le cadre des syndromes myélodysplasiques (SMD)
- Valeur théranostique des mutations IDH1/2 dans la leucémie aiguë myéloïde (LAM)
- Doubles mutations JAK2/CALR et JAK2/MPL dans les NMP : un impact sur le potentiel évolutif ?
- CHIP (Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential) et hémopathies malignes : quelle valeur diagnostique ?
- Double hémopathie (LMC/TE) : l'aide d'un panel de gènes ?
- CNV et hémopathies myéloïdes chroniques: l'aide du NGS pour le caryotype hématologique ?

Au sein des hémopathies myéloïdes chroniques (NMP, LMMC et SMD), la dernière classification OMS 2017, n'inclut, dans les critères diagnostiques *stricto-sensu*, que les mutations des gènes JAK2, CALR, MPL, CSF3R et SF3B1. Ces données vont très certainement s'affiner grâce aux travaux rapportés dans la littérature et conduiront à une classification moléculaire exhaustive de ces hémopathies malignes. L'approche NGS des hémopathies myéloïdes va donc participer à une nouvelle ère diagnostique, pronostique et théranostique.

#20364 : The NLRP3 p.A441V mutation in NLRP3-AID pathogenesis: Functional consequences, phenotype-genotype correlations and evidence for a recurrent mutational event

Auteurs :

Eman Assrawi (1), Fawaz Awad (1), Claire Jumeau (1), Sylvie Odent (2), Véronique Despert (3), Camille Louvrier (4), Laetitia Cobret (1), Bruno Copin (5), Philippe Duquesnoy (1), William Piterboth (6), Marie Legendre (1), Irina Giurgea (7), Sonia Karabina (1), Serge Amselem (8)

1. UMR_S933 INSERM / Sorbonne Université, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
2. Service de Génétique Clinique, CHU de RENNES, Rennes, France
3. Service de Pédiatrie, CHU de RENNES, Rennes, France
4. Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. génétique, hôpital Trousseau, Paris, France
6. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
7. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
8. Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France

Mots clefs : NLRP3-AID; NLRP3; thérapeutique

Résumé :

Introduction

NLRP3-associated autoinflammatory diseases (NLRP3-AIDs), previously known as cryopyrin-associated periodic syndromes (also known as cryopyrinopathies) 1, are a group of rare autoinflammatory diseases caused by heterozygous missense gain-of-function mutations in *NLRP3* gene, coding for cryopirin. Upon activation, NLRP3 initiates the formation of a multiprotein complex called inflammasome, which regulates proinflammatory cytokine secretion. NLRP3-AID encompasses a spectrum of three clinically overlapping syndromes with varying severity: the familial cold autoinflammatory syndrome (FCAS); the Muckle-Wells syndrome (MWS); and the chronic infantile neurological, cutaneous, and articular syndrome (CINCA). Among the NLRP3 variations identified in NLRP3-AIDs the pathogenicity of the p.A441V missense variation has been questioned by the report of a very large family in which MWS spanned five generations. Noteworthy, although 15 members were found to carry the p.A441V missense variation, up to 14 members were found to be mutation-negative (Sobolewska B. et al. 2016).

Objective

To determine the molecular and cellular bases of autoinflammatory syndromes in a multigenerational French family with MWS and in a patient originating from Portugal with FCAS.

Methods

Sequencing of *NLRP3* exon 3 was performed in all accessible patients. Microsatellite and whole-genome single nucleotide polymorphism genotyping was used i) to test the intrafamilial segregation of the identified variant and ii) to look for a founder effect. Functional analyses included the study of i) ASC (Apoptosis-associated Speck-like protein containing a CARD) speck formation in HEK293T cells (stably expressing ASC-green fluorescent protein and pro-caspase 1-FLAG) transiently expressing the wild-type or mutated NLRP3 protein, ii) levels of IL-1 β secreted from transfected THP-1 cells, and iii) inflammasome-related gene expression and cytokine secretion from monocytes isolated from patients in crisis (proband from the two families), related patients out of crisis, and from controls.

Results

The same heterozygous mutation (c.1322C>T, p.A441V) located in the NACHT domain, segregating with the disease within the first family, was identified in the two families. This C-to-T transition, which occurred on a CpG dimer, was found to be associated with different core haplotypes. NLRP3-A441V led to increased ASC speck formation and high levels of secreted IL-1 β . Monocyte inflammasome-related gene expression and cytokine secretion, which were within the normal range in patients out of crisis, were found to be differentially regulated between the two probands, correlating with their phenotypic status.

Conclusion

These molecular and cellular findings, which indicate a recurrent mutational event, clearly demonstrate the pathogenicity of the p.A441V missense mutation in *NLRP3*-associated autoinflammatory disease and point to the interest of studying patients' primary cells to assess disease activity.

Pièce jointe : Assrawi et al NLRP3-AID.docx

#20246 : Identification d'une insertion d'élément mobile dans le gène PALB2 à l'origine d'une prédisposition héréditaire au cancer du sein et de l'ovaire**Auteurs :**

Mélanie EYRIES (1), Olivier ARISTE (2), Gaëlle LEGRAND (3), Noémie BASSET (3), Erell GUILLERM (3), Odile COHEN-HAGUENAUER (4), Pierre DE LA GRANGE (2), Florence COULET (1)

1. Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. GenoDiag, GenoDiag, PARIS, France
3. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
4. Oncologie Médicale, Hôpital Saint-Louis, PARIS, France

Mots clefs : variants structuraux, insAlu, cancer du sein et/ou de l'ovaire, PALB2, bioinformatique

Résumé :

Les variants pathogènes des gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont principalement responsables de la prédisposition héréditaire au cancer du sein et/ou de l'ovaire. Le gène *PALB2* est le 3^e gène le plus fréquemment muté dans cette prédisposition. L'analyse moléculaire est réalisée par séquençage haut débit (NGS) d'un panel de gènes d'utilité clinique. Cette approche permet la détection de variants ponctuels et de CNV. Cependant des anomalies responsables sont détectées dans seulement 20% des cas, malgré une histoire personnelle et familiale évocatrice. L'une des hypothèses de ce faible taux d'identification d'anomalie moléculaire est l'existence d'autres variants difficiles à détecter par les techniques de génotypage moléculaire de routine, comme les variants structuraux tels que l'insertion d'éléments Alu. Un exemple est déjà connu parmi les gènes de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire, il s'agit de l'insertion Alu dans l'exon 3 du gène *BRCA2* c.156_157insAlu, dont la fréquence est particulièrement élevée dans la population d'origine portugaise.

Notre travail a consisté à rechercher ce type d'anomalie par une analyse bioinformatique optimisée des données issues du panel de capture ciblée utilisé en routine, incluant les séquences codantes et les régions introniques flanquantes des 13 gènes reconnus d'utilité clinique dont *BRCA1*, *BRCA2* et *PALB2*. Cette analyse permet d'identifier le variant c.156_157insAlu sur le gène *BRCA2* et a mis en évidence un nouveau variant structural sur le gène *PALB2* : une insertion de 114 bp correspondant à un élément Alu de type LINE L2 dans l'exon 9 du gène *PALB2*. Cette insertion s'accompagne de la délétion de 17 nucléotides de l'exon 9 de *PALB2* au niveau du point de cassure de l'insertion. Grâce à des conditions de PCR Alu-spécifique suivi d'un séquençage Sanger, nous avons pu confirmer biologiquement, la présence, la taille et la séquence de l'insertion Alu prédite par analyse bioinformatique. Cette insertion Alu a très probablement un effet pathogène soit par décalage du cadre de lecture (p.Gln958Serfs*26 selon les prédictions *in silico*) soit par un effet sur l'épissage. Cet événement pourrait être issu d'une recombinaison médiée par des séquences Alu puisque un autre élément Alu de type LINE L2 est présent dans l'intron 9 adjacent.

Ce variant a été identifié chez une patiente présentant un cancer du sein à 55 ans, sa mère et sa grand-mère maternelle étant décédées d'un cancer du sein survenu respectivement à l'âge de 42 ans et < 50ans.

Cette étude met en évidence pour la première fois l'insertion d'un élément Alu dans la séquence codante du gène *PALB2* élargissant ainsi le spectre des variants pathogènes impliqués dans la prédisposition héréditaire au cancer du sein et de l'ovaire. Ce résultat illustre l'intérêt d'une analyse bioinformatique optimisée permettant d'identifier ce type d'anomalie aussi bien sur des données prospectives que rétrospectives issues des panels ciblés utilisés pour le diagnostic de routine.

#19946 : ATP1A3 est responsable de neuropathies auditives isolées et syndromiques (syndrome CAPOS)

Auteurs :

sophie ACHARD (1), Laurence JONARD (2), Natalie LOUNDON (3), Marine PARODI (1), Naima DEGGOUJ (4), Yves SZNAJER (5), Sandrine MARLIN (6)

1. ORL, Hôpital Necker; APHP, Paris, France

2. CRMR Surdités Génétiques, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

3. ORL, CRMR Surdités Génétiques, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

4. ORL, Clinique universitaire Saint Luc; UCL, Bruxelles, Belgique

5. Centre de Génétique humaine, Clinique universitaire Saint Luc; UCL, Bruxelles, Belgique

6. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : Surdité, Neuropathie Auditive, ATP1A3, Syndrome Cerebral Ataxia-Pes Cavus-Optic Atrophy-Sensorineural Hearing Impairment (CAPOS)

Résumé :

Les neuropathies auditives (NA) sont une entité à part parmi les surdités de perception, elles sont pour la première fois décrites en 1996. Il décrit une forme particulière de déficience auditive attribuée à une mauvaise synchronisation des influx nerveux dans le nerf cochléaire. Les NA se caractérisent par une série de résultats paradoxaux lors des investigations audiolinguistiques qui la distinguent des atteintes cochléaires habituelles. Les performances en audiométrie vocale sont typiquement moins bonnes que celles attendues. Le patient entend les sons mais ne comprend pas les phrases. Les NA représentent 5 à 10% des déficiences auditives et peuvent être congénitales ou secondaires, de cause génétique ou extrinsèque, isolées ou syndromiques. L'efficacité de la réhabilitation auditive est le plus souvent corrélée avec la localisation du déficit auditif : cellules ciliées internes; synapse entre ces dernières et les fibres nerveuses sous-jacentes, ou nerf cochléaire.

Une étude de cohorte de cas présentant une NA a permis de mettre en évidence chez trois patients non apparentés le même variant pathogène hétérozygote du gène *ATP1A3*, c.2452G > A, p.(Glu818Lys), déjà rapportée comme responsable du syndrome CAPOS (OMIM-601338). Le syndrome de Capos associe une baisse de l'audition progressive, une atrophie optique, une hypotonie et une ataxie cérébelleuse. L'atteinte est décrite comme apparaissant dans l'enfance, avec des épisodes aigus fébriles de détérioration neurologique s'apparentant à des encéphalites. Les autres variants *ATP1A3* sont responsables d'atteintes neurologiques distinctes : ataxies isolées, dystonies parkinsoniennes et hémipariés alternantes de l'enfance. *ATP1A3* code pour la sous unité alpha de la NA+/K+-ATPase $\alpha 3$ neurone spécifique localisée dans les neurones du ganglion spiral.

L'âge moyen au diagnostic de la surdité était de 9.6 ans. Ils existaient chez tous une discordance importante entre l'audiométrie tonale et vocale. Seul un patient présentait un tableau clinique évocateur du syndrome CAPOS avec dès l'âge de 3 ans des épisodes aigus fébriles avec hypotonie majeure et régression des acquisitions. L'atrophie optique était retrouvée chez une seule des patientes. Aucun cas ne présentait d'ataxie de type neurologique mais un déficit vestibulaire avait été objectivé chez tous. Notre étude montre également de bons résultats de l'implantation cochléaire en cas de neuropathie auditive associée à un syndrome de CAPOS, avec une amélioration de la compréhension des mots chez les 3 patients ; et ceux malgré la localisation neuronale de la protéine défectueuse.

La mutation p.(Glu818Lys) *ATP1A3* est responsable de cas isolés et syndromiques (CAPOS) de NA. Ce diagnostic est probablement sous diagnostiqué en particulier dans les formes cliniques isolées. L'efficacité de l'implantation cochléaire retrouvée chez nos patients incite à rechercher systématiquement cette cause devant un tableau de NA.

#19897 : Etude du gène RASA1 dans une cohorte de 113 enfants avec malformations capillaires au niveau des membres inférieurs : résultats de la cohorte nationale CONAPE**Auteurs :**

charlotte veyrat-durebex (1), Marine Durieux-verde (2), juliette MAZEREEUW-HAUTIER (3), Olivia BOCCARA (4), ludovic MARTIN (5), Christine CHIAVERINI (6), Catherine ESCHARD (7), Nathalie BENETON (8), Pierre VABRES (9), Aline BERTHELOT (10), Gérard Lorette (2), sophie LEDUCQ (2), Mahtab Samimi (2), Christian R Andres (11), Agnès Caille (12), Patrick Vourc'h (13), Annabel Maruani (14)

1. , Inserm U1253, tours, France
2. Dermatologie, CHU de Tours, Tours, France
3. Dermatologie, CHU de Toulouse, toulouse, France
4. Dermatologie, CHU Necker , Paris, France
5. Dermatologie, CHU Angers, angers, France
6. Dermatologie, CHU Nice, Nice, France
7. Dermatologie, CHU Reims, reims, France
8. Dermatologie, CH Le Mans, le mans, France
9. Dermatologie, CHU Dijon, dijon, France
10. U1253 INSERM Université de Tours, CHU de Tours, tours, France
11. U1253 Inserm université de Tours, Service de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France
12. Inserm 1415, CHU de Tours, Tours, France
13. U1253 INSERM Université de Tours, CHRU de Tours, Tours, France
14. Dermatologie, CHU de Tours, tours, France

Mots clefs : Dertomalogie, anomalies vasculaires, RASA1

Résumé :

Les patients atteints de malformation capillaire-artérioveineuse (CM-AVM), maladie héréditaire autosomique dominante, présentent fréquemment des mutations dans le gène codant la protéine Ras P21 (RASA1). Les objectifs de cette étude étaient de déterminer la fréquence des variants génétiques dans le gène RASA1 dans une cohorte nationale multicentrique française d'enfants, âgés de 2 à 12 ans, avec apparition sporadique de malformations capillaires (CM) au niveau des jambes, et de rechercher des corrélations génotype-phénotype. L'ADN a été extrait à partir d'échantillons sanguins. Tous les exons du gène RASA1 ont été amplifiés puis séquencés. Parmi les 113 enfants analysés, 7 présentaient des variants hétérozygotes (6,1 %) de RASA1. Quatre variants avaient déjà été identifiés, 2 étaient nouveaux. Chez les enfants porteurs de variants de RASA1, les malformations capillaires étaient plus fréquemment bilatérales et multifocales. En conclusion, des variants du gène RASA1 sont rarement observés chez les enfants avec malformation capillaire sporadique des membres inférieurs sans CM-AVM. Etude en lien avec le Groupe de Recherche de la Société Française de Dermatologie Pédiatrique.

#20376 : Analyse moléculaire du gène Mecp2 Etude rétrospective de 10 années de pratique au Laboratoire central de biochimie du CHU Mustapha**Auteurs :**

SIHAM HALLAL (1), Bouchra ouahdi (2), Manel Rezki (3), Lyès Yargui (1)

1. Laboratoire central de Biochimie, CHU Mustapha-Alger-Algérie, Alger, Algérie

2. Laboratoire Central de Biochimie, CHU Mustapha, alger, Algérie

3. Laboratoire Central de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie

Mots clefs : Génétique, Mecp2, rett syndrome, mutation

Résumé :

Le syndrome de Rett. décrit chez la fille, se caractérise par un trouble grave et global du développement du système nerveux central.

Il est causé par des mutations du gène Mecp2 (methyl-CpG-binding protein 2) en Xq28, qui comprend 4 exons, dont le premier est non codant.

Plus de 200 mutations ont été décrite à ce jour.

Le diagnostic du syndrome de Rett. ne peut se faire que sur la base de l'examen clinique, il est confirmé secondairement par des techniques moléculaire (Amplification-séquençage direct).

Une analyse globale de la séquence codante du gène MECP2 chez 100 patientes algériennes, nous a permis d'identifier plusieurs anomalies moléculaire fréquemment décrite dans la littérature, essentiellement au niveau de l'exon 4 ; il s'agit de mutations faux-sens, mutations non-sens, et mutations frameshift de type délétion.

Ce travail nous a permis d'étiqueter 4 mutations non décrites dans la littérature, spécifique à notre population.

#20507 : Récurrence d'arthrogrypose congénitale : identification d'une nouvelle mutation dans CHST14 par focused exome en trio

Auteurs :

Guillaume JEDRASZAK (1), Fanny MORONVAL (2), Noémie CELTON (3), Mathilde PUJALTE (2), Florence JOBIC (4), Sara COSTANTINI (5), Henri COPIN (3), Gilles MORIN (4)

1. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle , CHU Amiens, AMIENS, France
2. Laboratoire de génétique constitutionnelle, CHU Amiens, AMIENS, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Amiens, AMIENS, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU Amiens, AMIENS, France
5. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens, AMIENS, France

Mots clefs : CHST14, exome, arthrogrypose, diagnostic prénatal

Résumé :

L'arthrogrypose congénitale désigne un ensemble de pathologies ayant pour caractéristique des contractures articulaires *in utero*, fixant les articulations en flexion ou en extension. L'arthrogrypose peut être isolée ou syndromique, et le pronostic est dépendant du terme d'apparition et de signes associés. L'identification de la cause moléculaire sous-jacente est importante pour permettre une prise en charge adaptée de la grossesse. Sur le plan génétique, ce groupe de pathologie a des origines multiples, le plus souvent monogéniques, avec tout type de transmission. A ce jour, 402 gènes pouvant être responsables d'arthrogrypose congénitale sont connus.

Nous rapportons le cas d'un couple sans antécédent particulier ayant eu sur deux grossesses successives un fœtus présentant une arthrogrypose congénitale syndromique (en association à des anomalies cérébelleuses). L'étude a porté sur la réalisation d'un focused exome (panel de 4900 gènes) en trio sur le premier fœtus et les parents puis confirmation sur le second fœtus.

Le focused exome a permis d'identifier environ 16.000 variants par échantillon. Après application de filtres basées sur la fréquence des variants dans la population générale et sur la conséquence au niveau protéique des variants, puis en appliquant une stratégie d'exclusion de variants basée sur une hypothèse de transmission autosomique récessive, nous avons exclu l'ensemble des variants sauf un. Il s'agit du variant homozygote faux-sens c.858C > G;p.(Cys286Trp) dans l'exon 1 du gène *CHST14*.

Le gène *CHST14* qui code pour une dermatan sulfatase. Les mutations de ce gène sont connues pour être responsables mutation de ce gène du syndrome d'Ehlers-Danlos musculo-contractural chez une quarantaine de patients dans le monde. Cinq cas de présentation anténatale ont été rapportés à ce jour, avec un phénotype compatible à celui des fœtus de cette étude.

Le variant identifié chez les fœtus n'a jamais été rapporté à ce jour, il concerne une cystéine localisée dans le domaine catalytique de l'enzyme, acide aminé essentiel à la structure tridimensionnelle de la protéine en raison de la présence d'un pont disulfure.

L'analyse de la fraction alléliques de l'ensemble des variants du focused exome a également permis de montrer que ce variant homozygote était présent au sein d'une grande région d'homozygotie d'environ 30 Mb, reflet d'une consanguinité du couple qui n'était pas connue.

Cette étude montre la pertinence de réaliser ce type d'étude en trio pour identifier la cause moléculaire de syndrome de présentation anténatale sévère pouvant bénéficier d'une interruption médicale de grossesse.

#20565 : L'intérêt de la ré-analyse des analyses génétiques : à propos de deux cas

Auteurs :

Marta Spodenkiewicz (1), Evan Gouy (1), Guillaume Jouret (1), Gaetan Lesca (2), Elise Boudry-Labis (3), Boris Keren (4), Emilie Landais (5), Martine Doco-Fenzy (5)

1. génétique , CHU Reims, Reims, France
2. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon-CNRS UMR 5292, INSERM U1028, CNRL, Université Claude Bernard Lyon1, GHE, Lyon, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. UF Cytogénomique des Déficiences Intellectuelles et Anomalies du Développement, Institut de Génétique Médicale, CHRU Lille, Lille, France
4. Département de Génétique , Hopital Pitié Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
5. Département de Génétique , CHU Reims, Reims, France

Mots clefs : analyses génétiques, cas clinique, exome, CGH, neurogénétique

Résumé :

L'essor des analyses génétiques permet de préciser un diagnostic chez de plus en plus de patients. Les résultats négatifs peuvent parfois être dus à une filtration trop restrictive.

Dans ce travail nous abordons deux cas cliniques pour lesquels la ré-analyse de l'analyse CGH et exome, ont permis de préciser un diagnostic.

Le premier cas montre qu'il est important de considérer la résolution des examens génétiques. Ce premier point est illustré par le cas d'une fratrie de deux, originaire de Mayotte, atteints d'une encéphalopathie épileptique. Le plus âgé est décédé à l'âge de 11 mois. Parmi les examens génétiques, l'analyse PAGEM et une CGH résolution moyenne 100kB étaient négatifs. Son petit frère avec le même tableau clinique a eu également une CGH qui a mis en évidence une microdélétion de 106 kB, homozygote, emportant les exons 1 à 5 du gène *WWOX*, impliqués dans les encéphalopathies épileptiques retrouvés à l'état hétérozygote chez les parents. Ce variant a également été retrouvé chez le premier frère.

Le deuxième cas illustre l'importance de rediscuter les critères de filtration des variants. Ce deuxième point est illustré par le cas d'un garçon d'origine turque issu d'une famille consanguine, âgé de 6 mois, présentant une hypotonie et un retard psychomoteur. Sur le plan génétique, l'analyse moléculaire du Prader Willi était négative, la CGH ne retrouvait pas de déséquilibre chromosomique en lien avec le tableau clinique. La relecture de l'exome a mis en évidence un variant de site de donneur intronique, entraînant très probablement une anomalie de l'épissage à l'état homozygote, retrouvé à l'état hétérozygote chez les parents.

Le but de ce travail est de sensibiliser à la relecture des analyses génétiques dans le cas de tableaux évocateurs de pathologies génétiques, notamment situations de récurrence d'une pathologie familiale et consanguinité.

#20057 : Explorations moléculaires et Exomes ciblés des Neuropathies Périphériques Héréditaires Centre National de Référence des Maladies Rares (CNRMR) du CHU Bicêtre.

Auteurs :

Bruno Francou (1, 2), Guillemette Beaudonnet (3), Mélissa N'Débi (4), Christophe Habib (4), Alexis Proust (1), Jérôme Bouligand (1, 2), David Adams (3), Anne Guiochon-Mantel (1, 2), Andoni Echaniz-Laguna (3)

1. Génétique Pharmacogénétique et Hormonologie, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
2. UMR S 1185 Inserm et Faculté de Médecine Université Paris Sud Paris-Saclay, Inserm, Le Kremlin Bicêtre, France
3. Neurologie Adulte, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
4. Plateforme d'Expertise Paris Sud Maladies Rares, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France

Mots clefs : NGS, Charcot-Marie-Tooth, HSN, dHMN

Résumé :**Introduction**

Les neuropathies sensitivomotrices héréditaires (HMSN) ou maladie de Charcot-Marie-Tooth forment un groupe de pathologies extrêmement hétérogènes sur les plans clinique, électrique et génétique. Elles ont une base génétique commune avec d'autres maladies : neuropathies sensitives et autonomiques, neuropathies motrices distales, paraplégies spastiques, ataxies spinocérébelleuses. Dans le cadre du diagnostic moléculaire d'HMSN, le screening moléculaire de la duplication 17p12, mutation la plus fréquente, est réalisé en première intention, puis le séquençage nouvelle génération (NGS) permet d'explorer simultanément de nombreux gènes potentiellement en cause.

Patients, Matériels et méthodes

Nous avons étudié 355 patients cas index (233 du CHU Bicêtre, 122 d'autres CHU : Pitié-Salpêtrière, Necker, Trousseau, Lariboisière, Reims, Rouen-) par une approche NGS d'un panel de 77 puis 95 gènes, patients ensuite discutés en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) par les biologistes moléculaires et les cliniciens. Les variants génétiques d'intérêt alors retenus sont confirmés par séquençage Sanger.

Résultats

La duplication 17p12 est positive dans 16% des cas (CMT1a). Le NGS retrouve une mutation causative dans 6 % des cas de Bicêtre et 26% des cas hors Bicêtre, reflet d'un recrutement différent. Le pourcentage de diagnostic positif diminue avec l'âge de début des symptômes et en l'absence d'histoire familiale. Dans un tiers des cas, un variant de signification incertaine est mis en évidence.

Les RCP permettent de retenir les variants génétiques d'intérêt, proposer d'autres examens (panel métabolique mitochondrial ; biochimie spécialisée, imagerie), d'assurer le conseil génétique, d'identifier les familles candidats à des approches pangénomique (analyse de liaison génétique, séquençage d'exome entier). Parallèlement nous avons développé un formulaire de description phénotypique standardisé et une base de données cliniques et génétiques (PythieVar).

Conclusion

Le panel de gènes explorés par NGS a permis de réduire l'errance diagnostique. La performance de cette analyse varie en fonction du recrutement des centres (âge, phénotype, histoire familiale). Dans un tiers des cas, un variant de signification incertaine nécessite le déclenchement d'examens complémentaires (étude familiale, validation fonctionnelle, agrégation de cas). Ce progrès technique est à l'origine à la fois d'une amélioration du diagnostic et de l'éclosion de nouvelles questions.

Pièce jointe : Poster_UPSUD_Neuropathies peripheriques_FILNEMUS_v2Clean DA.docx

#20043 : La bikunine : un nouveau biomarqueur sanguin des linkéropathies

Auteurs :

Nikolett SZABO (1), Soraya SAKHI (1), Johanne DUBAIL (2), Walid HAOUARI (3), Thierry DUPRE (1, 4), Sandrine VUILLAUMIER-BARROT (1, 4), MICHOT Caroline (2), Céline HUBER (2), Katell PEOC'H (1), Nathalie SETA (1), Valérie CORMIER-DAIRE (2), ARNAUD BRUNEEL (1, 3)

1. Service de Biochimie Métabolique et Cellulaire, AP-HP Hôpital Bichat, Paris, France
2. INSERM 1163 Institut Imagine, Paris, France, INSERM, Paris, France
3. INSERM UMR 1193 équipe 4, INSERM, Chatenay-Malabry, France
4. INSERMU1149, Paris, France, INSERM, Paris, France

Mots clefs : bikunine, linkéropathies, protéoglycanes, biomarqueur, chondrodysplasie

Résumé :**Introduction**

La bikunine est un protéoglycane circulant synthétisé par le foie. Elle porte une chaîne glycosaminoglycane (GAG) de type chondroïtine sulfate (CS) formée d'un tétra-saccharide (GlcA-Gal-Gal-Xyl-O-Ser) commun à tous les protéoglycanes, suivi de 15 +/- 3 motifs di-saccharidiques (-GalNAc-GlcA-). Les linkéropathies sont des maladies génétiques rares correspondant essentiellement à des déficits des enzymes responsables de la synthèse du tétra-saccharide (xylosyltransferases : XYLT1 ou XYLT2 ; galactosyltransferases : B4GALT7 et B3GALT6; glucuronyltransferase : B3GAT3) avec un impact sur la synthèse de la plupart des protéoglycanes. Cliniquement, les linkéropathies se manifestent par des signes ostéo-articulaires (ostéopénie avec fractures, luxations, synostose, cyphoscoliose, retard de croissance) associés à un retard de développement. Des cardiopathies ont également été décrites. Actuellement, le diagnostic des linkéropathies repose sur la présentation clinique et est confirmé par les analyses génétiques. Nous montrons ici que les linkéropathies sont à l'origine de la présence de formes anormales de la bikunine sanguine pouvant être utilisées comme des nouveaux biomarqueurs de ces maladies.

Matériel et Méthodes

Plasmas/sérums de patients témoins (n=23) et de patients avec linkéropathie diagnostiqués par séquençage Sanger : B4GALT7 (n=2) ; B3GALT6 (n=1) ; B3GAT3 (n=1) ; CHSY1 (n=1). Papiers Guthrie de patients témoins (n=5). Détection des différentes formes de la bikunine circulante par Western-blot après électrophorèse PAGE-SDS et électrophorèse bidimensionnelle (2D).

Résultats

L'analyse des échantillons témoins a permis de distinguer une large bande protéique (~37 kDa) correspondant à la bikunine portant une chaîne CS et une fine bande correspondant à la bikunine libre (~ 25 kDa). Chez les patients atteints de linkéropathie, les profils ont montré la présence de formes anormales de la bikunine (25-27 kDa), en accord avec l'existence d'un blocage enzymatique au niveau des différentes étapes précoces de la synthèse de la chaîne CS. Bien qu'encore limités à un faible nombre de patients, ces profils présentent d'ores-et-déjà un intérêt pour un dépistage rapide et facile des linkéropathies. Par ailleurs, l'analyse par électrophorèse 2D des différentes formes anormales a montré des profils très spécifiques permettant de distinguer, voire de cibler les différentes mutations causales envisagées.

Conclusion

Nous montrons que les isoformes de la bikunine sanguine sont des biomarqueurs apparemment très spécifiques des linkéropathies. Facilement réalisable à partir de quelques gouttes de sérum/plasma (voire d'un papier Guthrie), ce nouveau test biochimique devrait permettre de faciliter le dépistage et le diagnostic de ces maladies génétiques.

Pièce jointe : La bikunine abstract Nikolett Szabo Assises de génétique 2020.docx

#20238 : Réinitiation de la traduction protéique, mécanisme innovant à l'origine de phénotypes atténués chez des patients porteurs de mutations dans FASTKD2 et PEX10.

Auteurs :

MEHDI BENKIRANE (1), Claire Guissart (1), Lise Larrieu (1), Michel KOENIG (1)

1. Biologie Moléculaire IURC Pr KOENIG, IURC-CHU Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Réinitiation traduction;PEX10;FASTKD2;Ataxie

Résumé :

L'analyse NGS de mini exome chez des patients présentant une ataxie d'allure génétique a permis d'identifier des mutations bi alléliques avec décalage du cadre de lecture dans le gène *FASTKD2* pour une famille et *PEX10* pour une autre. Le cas index de la première famille, porteur homozygote de la mutation c.535delT dans le gène *FASTKD2* présentait à l'âge de 42 ans une ataxie spastique isolée et était toujours ambulante à 51 ans. L'autre patient porteur des mutations c.26dupC et c.874_875delCT dans le gène *PEX10*, n'a manifesté son atteinte neurologique qu'à 20 ans. Un phénomène de réinitiation de la traduction protéique sur une méthionine en aval du codon stop prématuré pourrait expliquer cette discordance phénotypique, puisqu'il autoriserait la synthèse des domaines conservés cruciaux au bon fonctionnement des ces protéines (RING domaine pour *PEX10* et FAST1 & 2 pour *FASTKD2*).

Récemment, d'autres patients porteurs de mutations avec décalage du cadre de lecture dans le gène *PEX10* et *FASTKD2* ont été décrits. Leur présentation clinique qui était également peu sévère pour une pathologie péroxysomale ou mitochondriale, conforterait notre hypothèse.

Pièce jointe : Abstract Assises.docx

#20183 : Des variants « perte de fonction » dans ARHGEF9 sont responsables d'une déficience intellectuelle avec ou sans épilepsie dominante liée à l'X.

Auteurs :

Leïla Ghesb (1), Thomas Besnard (1, 2), Mathilde Nizon (1), Eva Trochu (1), Gaëlle Landeau-Trottier (1), Christel Thauvin-Robinet (3, 4), Christine Coubes (5), Cyril Mignot (6, 7), Boris Keren (7), Stéphane Béziau (1, 2), Benjamin Cogné (1, 2)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du Développement de l'Interrégion Est, CHU Dijon-Bourgogne , Dijon, France
4. Inserm UMR 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », , Université de Bourgogne, Dijon, France
5. Département de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
6. INSERM, U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Universités, Paris, France
7. Service de Génétique clinique et Médicale, CHU Paris, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : ARHGEF9, déficience intellectuelle, transmission liée à l'X

Résumé :

Le gène *ARHGEF9* a déjà été impliqué chez des patients atteints de déficience intellectuelle (DI) liée au chromosome X avec ou sans épilepsie. La plupart des individus atteints rapportés sont des garçons, avec cependant une dizaine de filles décrites. Jusqu'à présent, des variants nucléotidiques (10 faux-sens dont 6 hérités d'une mère asymptomatique, 1 non-sens, 1 d'épissage) et 3 délétions complètes du gène (toutes *de novo*) ont été identifiées chez les garçons, tandis que chez les filles atteintes, seuls des variants structuraux *de novo* ont été rapportés (5 délétions, 1 inversion paracentrique, 2 translocations X-autosome et 2 délétions intragéniques). Environ la moitié (6/10) des filles atteintes présentaient un biais d'inactivation du chromosome X (ICX). L'hypothèse avancée était alors celle d'un mode de transmission récessif lié à l'X (RLX).

Nous rapportons trois nouveaux variants (« perte de fonction ») dans *ARHGEF9* (NM_015185.2): un variant synonyme *de novo* affectant l'épissage (c.1056G > A, p.(Lys352=)) chez une fille atteinte de DI avec épilepsie, un variant non-sens chez une autre fille atteinte de DI isolée (c.865C > T, p.(Arg289*)) hérité de son père asymptomatique en mosaïque (24%), et un variant non-sens *de novo* chez un garçon (c.899G > A; p.(Trp300*)) atteint d'encéphalopathie épileptique. Une analyse de l'ARN a révélé que le variant synonyme, qui substitue le dernier nucléotide de l'exon, induit un saut de l'exon 7. Les deux filles de cette étude présentaient une ICX aléatoire.

Nous suggérons donc que les variants faux-sens sont responsables d'une DI récessive liée à l'X affectant les garçons, tandis que les variants « perte de fonction » sont responsables d'une DI dominante liée à l'X affectant les garçons et les filles avec ou sans biais d'ICX.

#20144 : Exploration de familles de paraplégie spastique par exome : identification de nouveaux gènes ?

Auteurs :

Jean-Madeleine De Saint Agathe (1), Bophara Kol (2), Laurène Tissier (2), Marie-Lorraine Monin (1), Diane Doummar (3), Cécile Freihuber (3), Alexandra Durr (4), Sophie Julia (5), Sandra Mercier (6), Cyril Goizet (7), Giovanni Stevanin (8), Eric Leguern (2), Guillaume Banneau (4)

1. Département de génétique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
2. Département de génétique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GH Sorbonne Université, Hôpital Trousseau, PARIS, France
4. Fédération de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Service de génétique médicale, CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Service de Neurogénétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
8. 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 : exome, paraplégies spastiques

Résumé :

Les paraplégies spastiques héréditaires (PSH) sont des maladies neurologiques rares, phénotypiquement et génétiquement très hétérogènes, avec une prévalence estimée à 5/100 000 hab. en Europe. Ces pathologies se caractérisent principalement par la présence d'un syndrome pyramidal progressif et d'une spasticité des membres inférieurs dans les formes « pures ». Les formes « complexes » sont 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 de 60 gènes.

Nous avons récemment exploré 5 familles comportant plusieurs apparentés atteints de PSH. Une famille composée d'un simple trio (parents + enfants) a également été explorée. Cinq familles présentaient un arbre généalogique compatible avec une transmission autosomique récessive, et une famille avec une transmission dominante. Ces 6 familles avaient au préalable bénéficié d'un panel de 65 gènes disponible en diagnostic, sans toutefois retrouver d'anomalie pathogène. Après analyse des données de l'exome, un variant faux-sens hétérozygote est retenu dans un gène candidat, *TRIM13*, dans une famille présentant 5 atteints de PSH pure sur 2 générations. D'autres variants dans ce gène sont recherchés dans des exomes pratiqués dans une large cohorte de recherche. Un variant non-sens homozygote est également retenu dans un second gène candidat, *RNF170*, dans une famille consanguine composée d'une fratrie avec 4 membres atteints de PSH pure. Pour les 4 familles restantes, il n'a pas été possible d'identifier d'anomalies potentiellement pathologiques dans un gène d'intérêt.

De façon intéressante, les 2 gènes candidats retenus, *TRIM13* and *RNF170*, codent pour des E3 ubiquitine ligases localisées au niveau du réticulum endoplasmique et nécessaires dans l'adressage de protéines au protéasome. La protéine TRIM13 a été rapportée interagissant avec VCP, protéine codée par un gène dont des mutations ont précédemment été rapportées dans les paraplégies spastiques. Des interactions ont également été décrites entre RNF170 et les protéines ERLIN1 et ERLIN2, protéines codées par 2 gènes dont les mutations sont responsables de paraplégie spastique de type SPG62 et SPG18. De plus, une précédente étude a rapporté une mutation hétérozygote du gène *RNF170* chez 2 membres d'une même famille présentant une ataxie sensorielle dominante. Un mécanisme alternatif est ainsi suspecté pour ce gène : un gain de fonction conduisant à une ataxie sensorielle dominante, une perte de fonction à une paraplégie spastique récessive. Au final, ces résultats ont permis d'identifier 2 nouveaux gènes candidats liés aux paraplégies spastiques héréditaires et de confirmer le réticulum endoplasmique comme organelle cible dans cette pathologie.

#20584 : Syndrome Hypoglossie Hypodactylie : à propos d'un cas

Auteurs :

Hana Fredj (1), faouzi maazoul (1), sana gabteni (1), hela sassi (1), olfa rajhi (1), hana safraou (1), rym meddeb (1), lilia kraoua (1), ines ouertani (1), mediha trabelsi (1), ridha mrad (1), ridha mrad (1)

1. service des Maladies Congénitales et Héritaires , Hôpital Charles Nicole à Tunis,Tunisie, tunis, Tunisie

Mots clefs : syndrome d'hypoglossie hypodactylie, syndrome d'Hanhart, anomalie craniofaciale ,anomalies réductionnelles des membres, conseil génétique, problème éthique, diagnostic prénatal

Résumé :

Introduction: Le syndrome d'hypoglossie hypodactylie (#103300) est un syndrome malformatif très rare. Il associe une anomalie craniofaciale qui touche surtout la cavité buccale, la mandibule et des anomalies réductionnelles des membres. Ce syndrome a été décrit pour la première fois en 1932 puis individualisé par Hanhart en 1950. Son étiologie est encore indéterminée. Une origine vasculaire est évoquée: des microhémorragies au cours du développement, qui surviennent avec une plus grande probabilité sur les capillaires dans les régions du corps les plus distales, pourraient expliquer les lésions observées. De rares cas familiaux suggérant une hérédité autosomique récessive ont été rapportés.

But du travail: Nous présentons le cas d'un patient porteur du syndrome d'Hanhart qui consulte au service des Maladies Congénitales et Héritaires de l'Hôpital Charles Nicolle de Tunis pour un conseil génétique.

Observation: Il s'agit d'un patient de sexe masculin âgé de 35ans, issu de parents en bonne santé apparente, apparentés (coefficient de consanguinité1/64). Il a un frère et 3 sœurs bien portants. Sa conjointe est non apparentée et il a un enfant bien portant. Il consulte pour un conseil génétique.

L'interrogatoire ne retrouve pas des antécédents particuliers. La grossesse s'est déroulée normalement sans incidents. L'accouchement a eu lieu à terme par voie basse. Son développement psychomoteur et intellectuel est normal. Il a une diminution de l'acuité visuelle corrigée et une audition normale.

Le patient présente une hypoglossie, une ankylose glosso-palatine, une mal implantation dentaire, un microrétrognathisme et une malformation du pied gauche associant une hypoplasie du 1er orteil avec une absence unguéale, une syndactylie presque totale des 2èmes et 3èmes orteils.

Le bilan malformatif notamment cardiaque et rénal est normal. Son caryotype est 46,XY.

L'enquête génétique retrouve une cousine paternelle, âgée de 40 ans, ayant une petite taille et une anophtalmie unilatérale sans retard mental de cause indéterminée.

Devant ces éléments malformatifs, le diagnostic du syndrome d'Hanhart est retenu. Le conseil génétique était rassurant puisque la majorité des cas rapportés dans la littérature sont des cas isolés. Un suivi échographique axé sur la face, la cavité buccale et les membres est proposé en cas de nouvelle grossesse. Par ailleurs, un problème éthique se pose en cas d'un diagnostic prénatal de ce syndrome quant à l'arrêt ou non de la grossesse.

Conclusion : il est important de colliger tous les cas de syndrome de Hanhart décrits par les différents collègues dans le cadre d'un consortium dans le but de mieux cerner l'étiologie de ce syndrome très rare.

Pièce jointe : sd hypoglossie hypodactylie. final.docx

#20430 : Génétique et diagnostic moléculaire des téloméropathies

Auteurs :

Ibrahima BA (1, 2), Elodie Lainey (3), Patrick Revy (4), Claire Oudin (5), Christelle Ménard (5), Malika Chelbi (1), Sylvie Alglave (6), Cécile Fourrage (7), Karim Diallo (5), Aurélie Plessier (8), Laurent Gouya (9), Raphael Borie (10, 11), Vincent Cottin (12), Hilario Nunes (13), Flore Sicre De Fontbrune (14), Thierry Leblanc (15), Régis Peffault de Latour (16), Bruno Crestani (17, 2), Filière RESPIFIL (18), Filière MARIH (19), Catherine Boileau (5), CAROLINE KANNENGIESSER (20, 2)

1. génétique, hôpital Bichat, PARIS, France
2. U1152, INSERM, PARIS, France
3. hématologie biologie, hôpital Robert Debré, paris, France
4. U1163, Imagine, PARIS, France
5. génétique, hôpital Bichat, Paris, France
6. génétique, Hôpital Bichat, Paris, France
7. Plateforme Bioinformatique, Imagine, Paris, France
8. hépatologie, hôpital Beaujon, Clichy, France
9. Biochimie, hôpital Louis Mourier, Colombes, France
10. Pneumologie, Hôpital Bichat, Paris, France
11. U1152, INSERM, paris, France
12. Pneumologie, CHU Lyon, LYON, France
13. Pneumologie, Avicenne, BOBIGNY, France
14. Hématologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
15. Hématologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
16. Hématologie, Hôpital Sainty Louis, Paris, France
17. Pneumologie, Hôpital Bichat, paris, France
18. , Trousseau, PARIS, France
19. , Hôpital Saint Louis, PARIS, France
20. génétique, Hôpital Bichat, PARIS, France

Mots clefs : télomères, téloméropathie, aplasie médullaire, fibrose pulmonaire

Résumé :

On désigne par téloméropathie (« syndromes of telomeres shortening » ou « (short) telomere syndrome ») un ensemble d'atteintes présentées par les individus porteurs de mutations constitutionnelles dans un gène de la maintenance des télomères, le plus souvent associées à des télomères raccourcis mesurés en Flow-FISH. La dyskératose congénitale (DC) a été la première téloméropathie décrite avec la triade cutanée typique. Les téloméropathies s'expriment principalement au niveau hématologique (insuffisance médullaire de type aplasie, myélodysplasie, leucémie), ou macrocytose et/ou thrombopénie isolée, pulmonaire (fibroses pulmonaire monogénique dans un contexte familial, lors de l'association à d'autres atteintes ou à un âge de survenue précoce).

Le diagnostic moléculaire a été mis en place au sein du service de génétique de l'hôpital Bichat en 2008 en commençant par l'analyse des gènes *TERT* *TERC* pour les formes familiales de fibrose pulmonaire. A partir de 2012, un panel de séquençage nouvelle génération (NGS- Multiplicom) ciblait d'abord *TERT* *TERC*. Des panels élargis (Haloplex, Agilent ; Nimblegen, Roche) permettent de cibler le nombre croissant de gènes impliqués dans les téloméropathies (dont *TERT*, *TERC*, *DKC1*, *RTEL1*, *PARN*, *TINF2*, *NOP10*, *NHP2*, *ACD*, *NAF1*, *WRAP53*, *SHQ1*).

Le conseil génétique des téloméropathies présente quelques particularités. Il existe une transmission des télomères courts, indépendamment de la mutation, conduisant à une anticipation génétique et quelques phénocopies ont été décrites. Au cours de ces dernières années il a été montré pour plusieurs gènes des téloméropathies que les patients porteurs de mutations à l'état bi-allélique mais aussi mono-allélique sont à risque de développer une téloméropathie.

La présence d'une mutation modifie la prise en charge, particulièrement dans le contexte d'une greffe d'organe (moelle osseuse ou poumon). Le nombre de demande est croissant et plus de 5 000 prélèvements ont été reçus (cas index, second prélèvement, dépistage pré-symptomatique des apparentés). Le dépistage génétique a permis de confirmer la pénétrance incomplète et l'expressivité variable de ces maladies et de montrer que les téloméropathies ne sont pas si rare (plus de 300 familles mutées).

Ces cas de téloméropathies sont discutés au sein de réunions de concertation pluri-disciplinaire (RCP) : la RCP du centre de référence (CRMR) des Aplasies Médullaires bi mensuelle (Pr Peffault de La tour, Dr Sicre de Fontbrune, Leblanc, Hôpital Saint Louis) avec la filière MariH et la RCP Pneumo-Génétique mensuelle sur Bichat avec la filière RESPIFIL (Pr Crestani, Dr Borie, Pr Gouya). Il n'y a pas de thérapie ciblant le défaut de la voie des télomères. Un PHRC national (ANDROTELO ; Dr Sicre de Fontbrune, CRMR aplasies médullaires ; Dr Borie, CRMR maladies pulmonaires rares, Hôpital Bichat) est en cours portant sur la prise en charge avec des androgènes de 40 patients atteints de téloméropathie de recrutement hématologique et pulmonaire.

#20429 : L'analyse par exome d'un fœtus présentant une suspicion de hernie diaphragmatique en anténatal pose le diagnostic de syndrome d'akinésie fœtale avec hypoplasie pulmonaire.

Auteurs :

Aurélié Gouronc (1), Anne-Sophie Gassmann (2), Luc Marcellin (3), Brigitte Viville (2), Christophe Philippe (4), Elise Schaefer (5)

1. service de génétique médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, strasbourg, France
2. service de gynécologie obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, strasbourg, France
3. service d'anatomopathologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, strasbourg, France
4. boratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, Plateau Technique de Biologie, Centre Hospitalo-Universitaire Dijon-Bourgogne, F-21079, Dijon, France
5. Service de Génétique Médicale, Hopitaux Universitaires de Strasbourg, strasbourg, France

Mots clefs : diagnostic prénatal; arthrogrypose; akinésie foetale; gène MUSK

Résumé :

Le diagnostic de hernie diaphragmatique est un diagnostic difficile en période anténatale, fait dans 60% des cas environ. La mise en évidence d'images échographiques suggérant ce diagnostic fait poser la question des diagnostics différentiels et de l'origine sous-jacente, syndromique ou non. La mise en évidence de signes associés peut orienter le diagnostic et le pronostic. Un bilan génétique est proposé mais sa rentabilité est faible.

Nous rapportons ici l'observation d'un fœtus pour lequel a été porté le diagnostic de hernie diaphragmatique associé à des pieds bots et un hydramnios à l'échographie anténatale. Le caryotype ainsi que l'analyse chromosomique par puce à ADN réalisées en prénatal n'ont pas identifié d'anomalie. L'autopsie n'a pas retrouvé la hernie diaphragmatique mais a révélé la présence d'une hypoplasie pulmonaire qui, associée à la présence de pieds bots, a réorienté le diagnostic vers une maladie neuromusculaire. Un exome a été réalisé et a mis en évidence deux mutations dans le gène *MUSK* impliqué dans le syndrome d'akinésie fœtale mais aussi dans une forme moins sévère viable, le syndrome de myasthénie congénitale, permettant ainsi de donner un conseil génétique fiable au couple.

Notre cas illustre la difficulté du diagnostic échographique anténatal de hernie diaphragmatique et l'importance de l'examen foetopathologique pour orienter les investigations génétiques et valider les résultats obtenus.

#20586 : Dysplasie oculo-dento-digitale à propos d'une forme familiale

Auteurs :

Manel Guirat (1), Rim Meddeb (1), Madiha Trabelsi (1), Fawzi Maazoul (1), Ridha M'rad (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, , tunis, Tunisie

Mots clefs : Dysplasie oculo-dento-digitale, GJA1, Dymorphie faciale, syndactylie

Résumé :

Introduction : La Dysplasie oculo-dento-digitale (ODDD) est une maladie génétique rare, autosomique dominante, avec une pénétrance complète et une grande variabilité phénotypique intra- et interfamiliale. Elle est caractérisée par des anomalies craniofaciales, oculaires, dentaires et des extrémités. Elle résulte de mutations hétérozygotes du gène *GJA1* codant pour une protéine de jonction, la connexine 43.

But : étude clinique de la dysplasie Oculo-Dento-Digitale à travers 6 individus appartenant à une même famille tunisienne.

Observation : Le syndrome ODD était présent sur 3 générations successives (P1 -P6). Il a touché aussi bien les garçons que les filles. Tous les individus présentaient un développement psychomoteur et un intellectuel normal ; une dysmorphie faciale associant des fentes palpébrales étroites, une microphthalmie, une microcornée, un nez étroit, des naines hypoplasiques et une columelle saillante ; une syndactylie de type 3 avec une camptodactylie ; une difficulté à la marche et une myopie à l'examen ophtalmologique.

Les anomalies dentaires à type de dystrophie dentaire, des caries et de perte précoce de dents étaient notées chez 4 patients (P1 -P4). 5 cas (P2 -P6) présentaient une raréfaction des cheveux et des sourcils et 3 cas (P2, P3 et P4) ont eu une hyperkératose palmoplantaire.

Les signes neurologiques associant une parésie unilatérale du membre inférieur et une vessie neurogène étaient décrits chez 4 patients (P1 -P4).

L'échographie cardiaque et l'examen oto-rhino-laryngologique, réalisés chez 4 individus (P1 -P4), étaient normaux. Le bilan radiologique de P4 a montré une fusion des dernières phalanges des 3^{ème}, 4^{ème} et 5^{ème} doigts et l'imagerie par résonnance magnétique cérébro-médullaire a objectivé des anomalies de signal de la substance blanche surtout au niveau des capsules internes et des lobes occipitaux avec un canal cervical étroit aggravé par une saillie disco-ostéophytique médiane en C5-C6. Les caryotypes de P4 et P5 étaient normaux.

Conclusion : la présence de la triade oculo-dento-digitale permet de poser le diagnostic clinique de ce syndrome. Une confirmation moléculaire est possible dans le but de donner un conseil génétique adéquat à la famille. Une prise en charge multidisciplinaire est recommandée afin d'éviter les complications neurologiques, dentaire et ophtalmologiques, à l'origine d'une altération du pronostic fonctionnel.

Pièce jointe : abstract ODD.docx

#20156 : Implication des miR-376a-3p et miR-376b-3p dans la Progeria de Hutchinson-Gilford

Auteurs :

Diane FRANKEL (1), Valerie DELECOURT (2), Elva-María NOVOA-DEL-TORO (2), Jérôme D ROBIN (2), Sophie PERRIN (3), Catherine BARTOLI (2), Kilian MAZALEYRAT (2), Frederique MAGDINIER (2), Anaïs BAUDOT (2), Nicolas LEVY (4), Elise KASPI (1), Patrice ROLL (1)

1. Aix Marseille Univ, APHM, INSERM, MMG, Hôpital la Timone, Service de Biologie Cellulaire, 13385 Marseille, France, INSERM/AMU U1251, MARSEILLE, France
2. Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France, INSERM/AMU U1251, MARSEILLE, France
3. ProGeLife, 13385 Marseille, France, INSERM/AMU U1251, MARSEILLE, France
4. Aix Marseille Univ, APHM, INSERM, MMG, Hôpital la Timone, Département de Génétique Médicale, 13385 Marseille, France, INSERM/AMU U1251, MARSEILLE, France

Mots clefs : lamines, microARN, Progeria, vieillissement, autophagie, sénescence, miR-376

Résumé :

La Progeria de Hutchinson-Gilford (Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS) est une maladie génétique rare caractérisée par un vieillissement précoce et accéléré aboutissant au décès des patients vers l'âge de 14 ans. Elle est due, dans la majorité des cas, à une mutation *de novo* autosomique dominante dans l'exon 11 du gène *LMNA* (p.G608G) responsable de la synthèse d'une protéine lamine A délétée et toxique appelée progérine. Cette protéine s'accumule *in vivo* dans le noyau des cellules qui l'expriment et génère, de manière dose-dépendante, des anomalies nucléaires à la fois morphologiques et fonctionnelles, conduisant à une sénescence cellulaire prématurée, en lien avec le vieillissement prématuré de ces patients. Le remodelage de la chromatine associé entraîne des modifications de l'expression génique, notamment des dérégulations des microARNs (miARNs). Les miARNs sont de petits ARNs non-codants d'une vingtaine de nucléotides régulant l'expression de gènes cibles. Nous avons analysé l'expression des miARNs dans des fibroblastes dermiques HGPS, à différents passages, en comparant à des fibroblastes témoins. Nous avons identifié 14 miARNs dérégulés (8 surexprimés et 6 sous-exprimés). Parmi les 8 miARNs surexprimés, 7 sont localisés dans un cluster de miARNs au sein de la région chromosomique 14q32.2-14q32.3. En utilisant de la FISH 3D et de l'immunoprécipitation de la chromatine (ChiP), nous avons démontré que la surexpression de ces miARNs était due au remodelage de la chromatine de ce locus dans les fibroblastes HGPS. De plus, nous avons démontré grâce à la transfection d'oligonucléotides antisens ciblant l'exon 10 et 11 du gène *LMNA*, que la progérine était responsable de ce remodelage. Parmi les miARNs surexprimés, nous avons choisi d'en étudier deux d'une même famille, le miR-376a-3p et le miR-376b-3p, qui partagent une même séquence 'seed', induisant probablement des effets biologiques similaires. Dans les fibroblastes témoins, nous avons montré que la surexpression de ces miARNs diminuait la prolifération en modulant le cycle cellulaire, et induisait une sénescence prématurée. Ces effets pourraient être liés à l'inhibition directe par ces miARNs de CDK2 (Cycline-dependent kinase 2), impliquée dans la régulation du cycle cellulaire lors de la transition de la phase G1 à la phase S. Ces 2 miARNs ont été décrits comme des inhibiteurs de l'autophagie *via* l'inhibition d'acteurs clés de ce processus, Beclin-1, ATG4C et ATG5. Dans les fibroblastes HGPS, nous avons montré que l'inhibition de ces miARNs par des antimirs augmentait l'autophagie, conduisant à une clairance de la progérine.

En ciblant ces processus clés liés au vieillissement, ces deux miARNs pourraient ainsi jouer un rôle majeur dans la physiopathologie de la Progeria. La compréhension des mécanismes impliqués représente une étape indispensable pour identifier de nouvelles approches thérapeutiques dans cette maladie au pronostic sombre.

[Article soumis à la revue 'Aging Cell']

Pièce jointe : Résumé Assises_PR.docx

#19974 : Infertilité masculine, tératospermie et voie de signalisation de l'acide rétinoïque

Auteurs :

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Oldez kaabi (2), Sonda Kammoun (2), Saloua Ben Amor (2), Fatma Abid (3), Samir Aloulou (4), Sourour Falleh (4), Kays Chaker (2), Hadil Chaari (4), Balkiss Abdelmoula (2), Hédi Ben Ameer (5), Asma Kaabi (6), Moez Hédi Ben Ayed (4), Hamdi Yahia (4), Asma Yaich (4), Mustapha Ben Aziza (2), Walid Smaoui (2)

1. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research , Sfax, Tunisie
2. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Sfax, Tunisie
3. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Mahdia, Tunisie
4. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Gabes, Tunisie
5. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Gafsa, Tunisie
6. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Acide rétinoïque, infertilité, tératospermie

Résumé :

Introduction : La spermatogenèse est un processus hautement régulé à un rythme constant. L'acide rétinoïque (AR), qui est un métabolite actif de la vitamine A, est une molécule de signalisation vitale impliquée dans le développement des cellules germinales et dans l'entrée correcte dans la méiose. STRA8 (stimulated by retinoic acid gene 8) localisé en 7q33 a été identifié comme un gène cible de la voie RA. Celle-ci régule directement son expression via des récepteurs d'hormone nucléaire spécifiques. **Matériel et Méthodes :** Dans cette étude bibliographique, une recherche approfondie de la littérature concernant le gène STRA8 a été réalisée à l'aide des bases de données Google Scholar, Medline et PubMed, à la recherche d'études de recherche et d'applications cliniques concernant le gène STRA8 chez les hommes et les femmes ayant des troubles de la reproduction. Les données extraites ont été analysées et résumées. **Résultats :** Le gène STRA8 est encore un gène mal exploré chez l'homme, bien que sa fonction dans la voie de signalisation développementale fondamentale de l'AR soit bien documentée et que son rôle dans la régulation et le déroulement de la spermatogenèse et de l'ovogenèse soit aussi bien étudié chez la souris et d'autres espèces. De rares études portant sur les polymorphismes rs1026914, rs17168319 et rs17168337 ont rapporté une association entre le variant : rs10269148 et les altérations quantitatives de la spermatogenèse : azoospermie et oligospermie. **Conclusion :** Le gène STRA8 code pour une protéine cytoplasmique qui semble nécessaire pour préparer l'entrée en méiose des cellules germinales souches femelles et mâles. Chez la souris, Stra8 est exprimé dans les cellules pré-méiotiques. Son expression dans les testicules n'est détectée pour la 1^{ère} fois que quelques jours après la naissance (l'âge de la puberté chez la souris). La dégradation de l'AR dans les testicules fœtaux par l'action de CYP26B1 empêchera la transcription du gène Stra8 dans les cellules souches, tandis que le traitement de testicules fœtaux par le kétoconazole induit l'expression de ce gène. L'invalidation homozygote de Stra8 conduit à une infertilité des individus mâles avec des gonades plus petites. Etant donné, le rôle de l'acide rétinoïque dans la fertilité notamment masculine et le rôle de STRA8 ainsi que d'autres gènes associés dans la cascade d'expression, il est recommandé selon les résultats de notre étude de mener des études de criblage aussi bien structural que transcriptionnel chez les hommes tératospermiques et les hommes ayant donné naissance à des polymarformations fœtales appartenant au spectre des troubles du développement de la voie AR ou rétinoopathies.

#20291 : Evaluation de 4 algorithmes de prédiction d'épissage permettant une annotation automatique dans un contexte NGS diagnostique

Auteurs :

Elodie LEJEUNE (1), Pascale RICHARD (2), Corinne METAY (2), Flavie ADER (2), Cécile SAINT-MARTIN (1), Céline LEDEUIL (2), Magalie LODIN (2), Valérie ALLAMAND (3), Valérie JOBIC (2), Boris KEREN (1), Alix DE BECDELIEVRE (2), Christine BELLANE-CHANTELLOT (1), Julien BURATTI (1)

1. Département de génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Inserm UMRS 974, Institut de Myologie, Paris, France

Mots clefs : épissage, NGS, algorithmes de prédiction

Résumé :

L'interprétation des variants est une étape critique dans l'identification d'un diagnostic en génétique moléculaire.

Parmi ces variants, ceux suspectés d'altérer l'épissage, en dehors des sites canoniques, présentent des difficultés spécifiques d'analyse.

Les tests de laboratoire permettant d'étudier l'épissage sur l'ARN sont coûteux et chronophages, il est donc actuellement irréaliste de les pratiquer pour tous les variants identifiés en séquençage haut débit (NGS). L'utilisation d'outils de prédiction *in silico* est donc nécessaire afin de sélectionner de façon économique et rapide les variants d'épissage les plus convaincants avant de les soumettre à une validation expérimentale.

Ces outils sont très nombreux mais souvent basés sur une interface qui ne permet de faire qu'une seule requête à la fois. Il est donc impossible de les utiliser de façon systématique dans le contexte du NGS où le nombre de variants à analyser est très important.

Par conséquent, nous avons sélectionné 4 algorithmes qui permettent une annotation automatique des variants ainsi qu'une intégration simple dans une chaîne d'analyse bioinformatique : **MaxEntScan** (2003), **dbscsnv_ada** (2014), **SpliceAI** (2019) et **SPiP** (2019).

Afin de les évaluer, nous avons collecté au sein du Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique de l'hôpital Pitié-Salpêtrière 44 variants suspectés d'altérer l'épissage qui ont été testés expérimentalement.

Pour 30 d'entre eux, l'effet sur l'épissage a été démontré sur l'ARN et pour 14 d'entre eux, aucun effet n'a pu être retrouvé sur l'ARN.

Tous ces variants ont été annotés par au moins un algorithme, mais seuls 23 ont été annotés par les 4.

Le nombre de variants annotés par outil est : MaxEntScan 29, dbscsnv_ada 25, SpliceAI 42, SPiP 43.

Cette différence s'explique en partie par le fait que MaxEntScan et dbscsnv_ada, dans leur mode d'annotation automatique, ne sont pas capables d'analyser les indels.

Pour les variants dont une altération de l'épissage est démontrée expérimentalement, cet effet a été prédit correctement dans les cas suivants : MaxEntScan 21/21, dbscsnv_ada 17/19, SpliceAI 28/29, SPiP 26/29.

Pour les variants dont une altération de l'épissage n'a pas pu être démontrée expérimentalement, aucun effet n'a été prédit dans les cas suivants : MaxEntScan 6/8, dbscsnv_ada 5/6, SpliceAI 12/13, SPiP 9/14.

Pour conclure, nous recommandons l'utilisation des algorithmes les plus récents, SPiP et SpliceAI, car leurs performances semblent équivalentes à MaxEntScan et dbscsnv_ada, mais ils apportent une plus-value non négligeable par l'annotation d'une plus grande proportion de variants. Toutefois, aucun de ces outils n'a permis une annotation correcte de 100% des variants. Leur association dans les pipelines d'analyse peut donc avoir un intérêt.

#20422 : Identification of a VHL gene mutation in a Moroccan family with Von Hippel Lindau syndrome

Auteurs :

Mohamed Ahakoud (1), Youssef Yaden (2), Oussama Kettani (1), badreddine el makhzen (3), Said Trhanint (1), Ihsane El Otmani (1), Hanane Sayel (1), Meriame Abbassi (1), Karim Ouldim (1, 4), Laila Bouguenouch (1, 5)

1. Unité de Génétique médicale et Oncogénétique, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
2. Service d'endocrinologie – Diabétologie – Nutrition, CHU Mohammed VI, oujda, Maroc
3. Unité de génétique médicale et oncogénétique, CHU Hassan II, Fez, 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 : Von Hippel-Lindau syndrome, Von Hippel-Lindau gene, mutation, gene, genetics

Résumé :

Von Hippel-Lindau (VHL) syndrome is an autosomal dominant neoplastic disorder. The VHL tumor suppressor (VHL) gene has previously been identified to represent the causative gene of VHL.

Previous studies have demonstrated that > 506 different mutations in VHL are associated with VHL syndrome.

The aim of the present study was to determine the VHL gene mutation present in a VHL syndrome pedigree and to investigate the pathogenesis of the mutant protein.

Briefly, a family suffering from VHL syndrome in a Moroccan population was recruited, and a missense mutation (c.422dupA;p.Asn141LysfsX23) was revealed to be present within the VHL gene in the proband.

Furthermore, Sanger sequencing revealed two carriers of the mutation within the family.

The results of the present study also demonstrated a mutation in VHL associated with the VHL syndrome phenotype, which may be of future therapeutic benefit for the diagnosis of VHL syndrome.

These results may also be relevant to further studies aiming to investigate the molecular pathogenesis of VHL syndrome.

Pièce jointe : VHL.docx

#20512 : Syndrome MIDAS: un nouveau cas présentant une des plus petites délétions chromosomiques emportant le gène HCCS.**Auteurs :**

Anouk Chaillou (1), Elise Boudry (2), Vasily Smirnov (3), Sylvie Manouvrier (1), Catherine Vincent-Delorme (1)

1. Service de génétique clinique, CHU de Lille, Lille, France

2. Service de cytogénomique des déficiences intellectuelles et des anomalies du développement., CHU de Lille, Lille, France

3. Ophtalmologie, CHU de Lille, Lille, France

Mots clefs : MIDAS, Xp22.2, HCCS, ophtalmologie, mitochondriopathie

Résumé :

Le syndrome de Microphthalmie avec défauts linéaires cutanés (OMIM #309801), aussi appelé syndrome MIDAS (pour microphthalmia, dermal aplasia, and sclerocornea) est une pathologie dominante liée à l'X avec une variabilité d'expression inter et intra-familiale pour les femmes atteintes et habituellement létale pour les garçons atteints. Cliniquement, on retrouve comme signes majeurs: une microphthalmie ou anophtalmie unilatérale ou bilatérale et des lésions cutanées de la face et du cou observées à la naissance et de régression spontanée. Par ailleurs, peuvent être associés, d'autres signes mineurs ophtalmologiques, des anomalies cérébrales, cardiaques, un retard de développement ou une hernie diaphragmatique. Cette pathologie est une neurocristopathie, résultant d'une anomalie de la migration ou de la prolifération des crêtes neurales, ce qui explique les organes impliqués et le trajet des lésions cutanées selon les lignes de blaschko.

Des variants hétérozygotes perte de fonction des gènes *COX7B*, *HCCS* ou *NDUFB11* sont responsables de la pathologie. Ces trois gènes situés sur le chromosome X codent des protéines nécessaires au fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Concernant les altérations du gène *HCCS*, la plupart des cas rapportés sont de larges délétions cytogénétiquement visibles impliquant la région Xp22.2 avec une région minimale critique centrée sur *HCCS*. Contrairement à la présentation classique des mitochondriopathies, révélées par une défaillance multiviscérale post-natale après un intervalle libre, les signes du syndrome MIDAS sont présents dès la naissance.

Ici, nous présentons le cas d'une jeune patiente, premier enfant d'un couple non apparenté née au décours d'une grossesse marquée par la découverte d'une artère ombilicale unique. A sa naissance, à terme et eutrophe, des altérations cornéennes et une microphthalmie sont diagnostiquées d'emblée. A ses 6 mois, elle est hospitalisée pour cassure staturo-pondérale et ralentissement de la courbe du périmètre crânien. Elle présente par ailleurs un bon développement psychomoteur. Le bilan métabolique et malformatif alors réalisé est normal. Aucun autre élément dysmorphique ni aucune lésion cutanée n'est alors rapporté. Ce n'est qu'ultérieurement, grâce aux photos prises par les parents en maternité que des lésions cutanées au niveau du sillon naso-génien sont observées.

Devant la suspicion d'anomalie de Peters, associée à la décélération du périmètre crânien, une analyse chromosomique par puce à ADN est prescrite. Celle-ci retrouve une délétion hétérozygote interstitielle en Xp22.2 d'une taille de 139 à 266kb (Agilent 60K,) *de novo* qui emporte *a minima* les exons 1 à 4 du gène *HCCS*. Ce variant perte de fonction, est pathogène en lien avec la symptomatologie retrouvée chez la patiente.

Nous décrivons un nouveau cas présentant un syndrome MIDAS et l'une des plus petites délétions Xp22.2 rapportées dans les bases de données impliquant le gène *HCCS*.

Pièce jointe : MIDAS.pdf

#20319 : Identification d'un nouveau gène de déficience intellectuelle : *sema6b***Auteurs :**

Amélie Cordovado (1), Médéric Jeanne (2, 1), Anne Sophie Denommé-Pichon (3), Boris Keren (4), Lance Rodan (5), Kimberly Aldinger (6), Kery Ramsey (7), Vahid Bahrambeigi (8), Wendy Mitchell (9), Jillian R Ozmore (10), Leslie Granger (11), Richard Redon (12), Stéphane Béziau (13), Frédéric Laumonier (1), Annick Toutain (2, 1), Marie-Laure Vuillaume Winter (2, 1)

1. UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Tours, France
2. Service de génétique, CHU de Tours, Tours, France
3. Service de génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
4. Service de génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Division of Genetics and Genomics, Department of Neurology Boston Children's Hospital, Boston, Etats-Unis
6. Center for integrative brain, Seattle Children's Research Institute, Seattle, Etats-Unis
7. , TGen's Center for Rare Childhood Disorders, Phoenix, Etats-Unis
8. , Greenwood Genetic Center, Greenwood, Etats-Unis
9. , Children's Hospital Los Angeles, Los Angeles, Etats-Unis
10. , Dartmouth-Hitchcock Medical Center, Lebanon, Etats-Unis
11. , Randall Children's Hospital, Portland, Etats-Unis
12. INSERM, CNRS, l'Institut du thorax, Université de Nantes, Nantes, France
13. Service de génétique, CHU Nantes, Nantes, France

Mots clefs : Déficience Intellectuelle, sémaphorine 6B, études fonctionnelles, séquençage à haut débit d'exomes, guidage axonal, neurodéveloppement

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) est un trouble neuro-développemental fréquent touchant 1 à 3% de la population et d'origine majoritairement génétique. Par séquençage à haut débit d'exome chez des patients atteints de DI sévère puis appel à collaboration internationale par GeneMatcher, le gène *SEMA6B* a été identifié comme un bon candidat pour la DI. Huit variations *de novo* (2 faux-sens, 2 frame-shift et 4 non-sens dont un récurrent) ont ainsi été identifiées chez 9 patients non apparentés atteints de déficience intellectuelle sévère à modérée sans dysmorphie reconnaissable ni malformation, ni anomalies significatives à l'IRM cérébrale. Les patients avaient un langage limité à quelques mots ou absent, des troubles de motricité globale et de motricité fine, des stéréotypies et une épilepsie pour 6 d'entre eux. Le gène *SEMA6B* code la protéine sémaphorine 6B, une protéine chimiorépulsive inhibant la croissance axonale lors du développement du système nerveux central. Afin de démontrer l'implication de ce gène dans un phénotype neurodéveloppemental, nous avons initié des études fonctionnelles en générant des constructions plasmidiques contenant la forme sauvage ou mutée du gène *sema6b* (cDNA murin). Ces constructions ont été surexprimées dans des lignées cellulaires (HEK293T) puis dans des cultures primaires de neurones hippocampiques. Dans un premier temps, nous avons évalué l'impact de ces mutations sur la stabilité et la localisation subcellulaire de la protéine par Western Blot dans les cellules HEK293T et par immunocytochimie dans les cellules HEK293T et les cultures neuronales. Les conséquences induites par les variations du gène *sema6b* sur la morphogenèse et la synaptogenèse sont également en cours d'évaluation via l'étude de différents paramètres neuronaux tels que la morphologie, l'arborisation dendritique ou encore la densité synaptique dans les cultures de neurones après analyse en microscopie confocale. Les résultats préliminaires ne montrent pas d'impact des différentes variations sur la stabilité et la localisation subcellulaire de la protéine que ce soit dans les lignées cellulaires HEK293T ou dans les neurones. En revanche, les variations tronquantes semblent altérer la morphologie neuronale. En effet, l'arborisation neuronale semble moins développée avec moins de prolongements dendritiques et d'épines dendritiques. Ces résultats préliminaires suggèrent que l'expression d'une protéine tronquée SEMA6B pourrait altérer la morphogenèse neuronale. La poursuite de ces études fonctionnelles devrait nous permettre de statuer sur la pathogénicité de ces variations et plus largement de caractériser le rôle de la sémaphorine 6B dans la physiopathologie de la DI.

Pièce jointe : abstract S6B Assises Génétiques 2020 - Cordovado Amélie.docx

#19994 : Microduplication 3p21.2p21.1 et déficience intellectuelle : (à propos d'un cas)

Auteurs :

Fatima Zahra OUTTALEB (1), Ghizlane JABRANE (1), Nadia SERBATI (1), Hind DEHBI (2)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Casablanca, Maroc

2. Laboratoire de Génétique Médicale, Laboratoire de Pathologie cellulaire et Moléculaire. , CHU Ibn Rochd de Casablanca, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Université Hassan II, Casablanca, Maroc

Mots clefs : microduplication 3p21.2p21.1, déficience intellectuelle, l'analyse chromosomique sur puce à ADN.

Résumé :

Introduction :

Les déficiences intellectuelles d'origine génétique représentent la moitié des cas de retard mental. Différentes microduplications ou trisomies partielles du bras court du chromosome 3 ont été rapportées dans la littérature, associées à des degrés variables de déficience intellectuelle et de malformations, qui dépendent de la taille de la région dupliquée.

L'objectif de cette étude est de rappeler l'intérêt des investigations génétiques dans l'exploration d'un retard mental, et de l'importance de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), en cas déficience intellectuelle, avec une étude cytogénétique conventionnelle normale.

Patient et méthodes :

Nous rapportons l'observation médicale d'une patiente suivie en consultation de génétique médicale depuis 2017, pour une déficience intellectuelle, associée à une microduplication du bras court du chromosome 3.

Résultats et discussion:

C'est une patiente âgée de 10 ans au moment du diagnostic, qui présente des signes de déficience intellectuelle depuis l'âge de 6 ans, faits de difficultés d'apprentissage scolaire avec redoublements, sans autres signes associés, notamment pas de troubles du comportement ou du langage, ni de régression psychomotrice.

L'examen clinique retrouve une patiente consciente, en bon état général, un retard staturo-pondéral à moins une déviation standard, une dysmorphie faciale; épicanthus, racine du nez large, avec un strabisme convergent bilatéral sous correction, sans autres signes cliniques, notamment pas de signes neurologiques, de mouvements anormaux, ni de troubles du langage.

Les explorations neurologiques, notamment la tomодensitométrie et l'imagerie par résonance magnétique cérébrales sont revenues normales, ainsi que l'électro-encéphalogramme, qui a montré un tracé de veille sans anomalies. Par ailleurs, les bilans thyroïdien, ophtalmologique et auditive étaient normaux.

Le diagnostic de retard mental d'origine génétique a été retenu, grâce à l'ACPA, qui a mis en évidence la présence d'une duplication de 2Mb en 3p21.2p21.1 (position génomique 51,962,497-53,965,106), non mise en évidence sur le caryotype constitutionnel à résolution de 400 bandes.

L'évaluation clinique des patients présentant un retard mental est une étape importante de l'enquête étiologique, afin de rechercher des signes cliniques de dysmorphie ou de malformation, orientant vers un syndrome génétique particulier. L'étude du caryotype constitutionnel permet de retenir un diagnostic, en cas d'anomalie chromosomique de nombre ou de structure. Et grâce à l'ACPA, qui est une approche pan-génomique et de haute résolution, il est possible de détecter 10 à 15 % d'anomalies sub-microscopiques, non visibles sur le caryotype.

A notre connaissance, il s'agit de la première description de cette microduplication 3p21.2p21.1. Et vu le tableau clinique que présente la patiente, cette duplication de 2Mb pourrait probablement être pathologique. Un conseil génétique avec ACPA chez les parents sont prévus.

Pièce jointe : 3A 3P.docx

#20352 : Récurrence dans une fratrie d'un syndrome de Kleefstra liée à une mutation en mosaïque du gène EHMT1 héritée paternelle**Auteurs :**

Florence JOBIC (1), Emilie LACOT-LERICHE (1, 2), Sara COSTANTINI (1), Amélie PITON (3), Florence AMRAM (1), Guillaume JEDRASZAK (4), Gilles MORIN (5)

1. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
2. CRP-CPO EA 7273, Université Picardie Jules Verne, Amiens, France
3. Laboratoire de diagnostic génétique des HUS, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
4. Laboratoire de Génétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
5. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France

Mots clefs : Syndrome de Kleefstra, EHMT1, mosaïque, mutation, récurrence

Résumé :

Le syndrome de Kleefstra (SK) est une maladie génétique rare caractérisée par une déficience intellectuelle, une hypotonie infantile, un retard sévère du langage expressif, une dysmorphie faciale caractéristique, des malformations congénitales (OMIM #610253). Le SK est causé dans plus de 85% des cas par une microdélétion subtélomérique de la région 9q34.3 emportant le gène *EHMT1* (Euchromatic Histone-Lysine N-Méthyltransférase 1). Dans les cas restants, il découle d'une mutation ponctuelle de ce gène. Le SK est de transmission autosomique dominante et survient le plus souvent de novo.

Nous rapportons l'observation d'une famille dont deux des trois enfants sont atteints d'un SK. Le garçon, âgé de 18 ans, second de la fratrie, présentait des difficultés plus importantes avec l'association d'un retard psychomoteur, d'un retard de langage, de troubles du sommeil, de troubles du spectre autisme, d'une énurésie primaire, d'une anhédonie et d'une dysmorphie faciale. Sa jeune sœur, âgée de 16 ans, présentait une dysmorphie faciale comparable à celle de son frère, un retard global des acquisitions psychomotrices, une énurésie primaire, des comportements auto et hétéro agressifs, mais une autonomie beaucoup plus importante et l'absence de troubles du sommeil.

Le bilan initial, comprenant un bilan métabolique de débrouillage, X-Fragile, caryotype et analyse chromosomique sur puce à ADN, était négatif. Le large panel Déficience Intellectuelle (556 gènes) de Strasbourg a permis d'identifier une mutation ponctuelle du gène *EHMT1* chez chacun des deux enfants : c.380T>G / p.(Leu 127*). Cette mutation n'a jamais été rapportée dans la littérature à ce jour. L'enquête parentale a permis d'identifier la mutation chez le père des deux enfants à l'état de mosaïque, avec un taux dans le sang inférieur à 20%. Le père n'a pas de dysmorphie faciale évocatrice de SK, n'a pas présenté de retard psychomoteur et s'est intégré professionnellement après l'obtention d'un CAP.

Cette observation souligne deux points importants. D'une part, des récurrences de syndromes autosomiques dominants peuvent survenir en cas de faibles mosaïques parentales, même lorsque les parents paraissent asymptomatiques. D'autre part, dans un syndrome habituellement microdélétionnel, il y a un intérêt à poursuivre les analyses moléculaires lorsque l'analyse chromosomique sur puce à ADN est sans anomalie.

Pièce jointe : Assises-2020-Kleefstra-ServiceGénétiqueClinique-CHU_Amiens-Picardie.docx

#20264 : MINPP1 prevents intracellular accumulation of the cation chelator inositol hexakisphosphate and is mutated in Pontocerebellar Hypoplasia**Auteurs :**

Karthyayani Rajamani (1), Ekin Ucuncu (2), Vincent Cantagrel (1)

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

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

Mots clefs : Pontocerebellar Hypoplasia, Inositol Metabolism, MINPP1, Calcium Homeostasis

Résumé :

Pontocerebellar hypoplasia (PCH) is a group of rare neurodegenerative disorders characterized by hypoplasia of the cerebellum and pons, often with a prenatal onset. In this study, we describe a distinct type of PCH with a typical basal ganglia involvement, as observed from neuroimaging. Initially, we identified five patients with PCH, from four independent families, and displaying bi-allelic recessive mutations in the multiple inositol polyphosphate phosphatase 1 (*MINPP1*) gene. MINPP1 plays an important role in the inositol phosphates (IPs) metabolism where it mainly metabolizes inositol hexakisphosphate (IP₆) to lower IPs. To check the pathogenicity of the identified *MINPP1* variants, we developed a knockout HEK293T model with overexpression constructs for the corresponding mutations. Such an approach allowed us to assess the deleterious effects of the identified mutations on proper protein function. Further, we used patient-derived and genome edited *MINPP1* mutant induced pluripotent stem cells (iPSCs) to study the underlying cellular defect. Upon neural induction, both cell lines failed to properly differentiate into Tuj1-positive neurons, suggesting a key role of MINPP1 in early neuronal differentiation. To demonstrate the metabolic defects, we quantified cellular inositol phosphate levels in HEK293T, fibroblasts, iPSCs, and differentiating neurons. We observed that MINPP1 deficiency led to an intracellular imbalance of the IP metabolism with an accumulation of IP₆, specifically during neural differentiation. Interestingly, we also observed free divalent cation levels to be highly deregulated in the *MINPP1* mutant HEK293T cells. Considering the strong impact of *MINPP1* mutations on cellular IP₆ levels, and the known chelator properties of this molecule, we hypothesized that the MINPP1 defect could have consequences on intracellular cation homeostasis. This work identified a new PCH gene and uncovered a critical role for IP₆ in the regulation of human brain development and homeostasis.

#20564 : Syndrome de Cockayne : A propos d'une série de 19 patients tunisiens.

Auteurs :

sana gabteni (1), Mediha Trabelsi (1), ridha mrad (1), rim meddeb (1), Ines ouarteni (1), Lilia Kraoua (1), faouzi maazoul (1), hana Safraou (1), ichraf Kraoua (2), Amel Ben chehida (3), Sonia Ben Hammouda (4), Nadège calmels (5), Sonia abdelhak (6)

1. service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital charles nicolle, tunis, Tunisie
2. neuropédiatrie, hôpital la Rabta, tunis, Tunisie
3. pédiatrie, hôpital la Rabta, tunis, Tunisie
4. service de gynécologie, hôpital charles nicolle, tunis, Tunisie
5. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), , Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, starsbourg, France
6. laboratoire de génétique, institut Pasteur, tunis, Tunisie

Mots clefs : syndrome de Cokayne, Tunisie

Résumé :**Introduction :**

Le syndrome de Cockayne (SC) est une maladie multisystémique progressive. Sa prévalence est estimée à 1/200 000 naissances. Il est caractérisé essentiellement par un retard de croissance, une dysmorphie faciale caractéristique, une microcéphalie, un retard mental, des troubles neurologiques, une photosensibilité et des anomalies oculaires et auditives.

Devant un hétérogénéité clinique important, des critères diagnostiques ont été établis. Le SC est subdivisé en 3 groupes selon la sévérité et l'âge d'apparition des manifestations : SC de type I ou classique, SC de type II ou sévère et SC de type III ou modéré.

Le SC, de transmission autosomique récessif, est dû à des mutations touchant deux gènes majeurs impliqués dans la réparation de l'ADN: ERCC6 (OMIM 133540) et ERCC8 (OMIM 216400).

L'objectif de notre travail est de décrire les différents aspects cliniques du syndrome de Cockayne dans une cohorte tunisienne.

Patients et méthodes :

Nous rapportons l'étude clinique d'une série de 19 patients tunisiens suivis au service de maladies congénitales et héréditaires à l'Hôpital Charles Nicolle de Tunis pour syndrome de Cockayne.

Résultats :

Il s'agit de 19 patients issus de 17 familles non apparentées. 16/19 patients étaient issus d'un mariage consanguin. Il s'agit de 14 cas sporadiques et de 5 cas familiaux.

13 /19 avaient un SC type I et 6/19 avaient un SC type II. Les critères majeurs à savoir le retard psychomoteur, le retard de croissance et la microcéphalie étaient présents chez tous les cas index.

La dysmorphie faciale associant une énophtalmie, un nez pointu et des oreilles grandes et décollées était également constante. Des anomalies oculaires à type de cataracte et / ou de rétinite pigmentaire étaient présentes chez 9/19 patients. 13/19 cas avaient une photosensibilité cutanée et 10/19 cas avaient une surdité de perception.

L'étude moléculaire n'a pu être faite que chez deux patients permettant de confirmer le diagnostic et de proposer un diagnostic prénatal. Ce DPN a révélé un fœtus sain pour une famille et un fœtus atteint pour la deuxième famille aboutissant à une IMG.

Conclusion :

Le SC est une maladie progressivement évolutive avec un large spectre clinique. Son diagnostic est essentiellement clinique mais la confirmation moléculaire reste indispensable afin d'orienter le conseil génétique et de réaliser un diagnostic prénatal.

#20302 : L'impact des délétions des gènes GSTM1 et GSTT1 sur l'expression clinique de la mucoviscidose

Auteurs :

Sondess HADJ FREDJ (1), Sondess HADJ FREDJ (1), Chaima SAHLI (1), Olfa Ben Said (2), Rym DABBOUBI (3), Taieb MESSAOUD (4)

- 1- Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de biochimie, Hopital d'enfants de Tunis, tunis, Tunisie
3. Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire , Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie
4. 1- Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Tinis, Tunisie

Mots clefs : Mucoviscidose, GSTM1, GSTT1, variabilité clinique

Résumé :

L'extrême variabilité clinique observée chez les patients atteints de la mucoviscidose suggère le rôle des gènes modificateurs sur l'expression clinique de cette pathologie. Parmi ces gènes, le glutathion S-transférase (GSH) associé au système oxydant. Nous nous sommes intéressés dans le présent travail à l'étude de l'implication de deux gènes de la famille de GSH, Mu 1 (GSTM1) et Theta 1 (GSTT1), sur la variabilité clinique de la mucoviscidose. L'étude génétique a été menée par PCR multiplexe afin de détecter la délétion et la présence des gènes analysés chez 81 patients mucoviscidosiques Tunisiens et 80 témoins sains. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide de la version 20.0 du logiciel SPSS.

La distribution génotypique de la délétion GSTT1 montre une différence significative entre les patients et les témoins (50,6 vs 17,5%, $p < 0,05$, $X=19,62$). Par ailleurs, une association entre la délétion GSTT1 et l'iléus méconial a été notée ($p = 0,029$, $X = 4,72$, $OR = 5,55 [1,05-29,32]$). Une association a été également rapportée entre la délétion GSTM1 et l'atteinte mixte pulmonaire et digestive ($p=0,03$, $X=4,61$, $OR= 0,19 [0,03-0,96]$). Ces résultats suggèrent que les délétions des gènes GSTT1 et GSTM1 sont impliquées dans la variabilité de l'expression clinique de la mucoviscidose. De plus, la délétion GSTT1 semble être un facteur de risque pour le développement d'un iléus méconial. L'identification des gènes modificateurs susceptibles de moduler l'expression clinique de la mucoviscidose permettrait une prise en charge prédictive et préventive de cette maladie.

Pièce jointe : Résumé assises de génétique 2020.docx

#20049 : Exomes ciblés des Maladies du Centre National de Référence des Maladies Rares (CNRMR) du Métabolisme du Calcium et du Phosphate du Kremlin Bicêtre.

Auteurs :

Bruno Francou (1, 2), Anya Rothenbuhler (3), Mélissa N'Débi (4), Christophe Habib (4), Alexis Proust (1), Peter Kamenicky (5, 2), Jérôme Bouligand (1, 2), Anne Guiochon-Mantel (1, 2), Agnès Linglart (3, 4)

1. Génétique Pharmacogénétique et Hormonologie, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
2. UMR S 1185 Inserm et Faculté de Médecine Université Paris Sud Paris-Saclay, Inserm, Le Kremlin Bicêtre, France
3. Endocrinologie Pédiatrique, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
4. Plateforme d'Expertise Paris Sud Maladies Rares, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
5. Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France

Mots clefs : Calcium, Phosphate, Métabolisme, Rachitisme, NGS, PHEX, parathyroïdie, IPPSD, PHP

Résumé :

Introduction

Les maladies rares du métabolisme phosphocalcique sont, pour la plupart, des maladies génétiques peu ou mal connues qui entraînent une anomalie de la calcémie ou de la phosphatémie (hyperparathyroïdie, hypoparathyroïdie, pseudohypoparathyroïdie et rachitismes).

Patients, Matériels et méthodes

Nous avons étudié 130 patients cas index par une approche de séquençage nouvelle génération ciblé sur un panel de 40 gènes. Chaque dossier a été discuté en réunion de concertation pluridisciplinaire entre les biologistes moléculaires et les cliniciens. Les variants génétiques d'intérêt retenus ont été vérifiés par séquençage Sanger et une enquête familiale a été proposée.

Résultats

Nous avons identifié les mutations causatrices dans 46 % des cas. Parmi ces cas 20% sont des mutations de GNAS, 30% sont des mutations de PHEX et 50% sont des mutations des autres gènes du panel.

Nous avons également mis en évidence des variants de signification incertaine (Classe III) dans 20% des cas. Une étude familiale est alors nécessaire pour permettre leur reclassement comme variants bénins ou délétères. Il s'agit essentiellement de faux sens et de variants d'épissage.

Les RCP ont permis de retenir les variants génétiques d'intérêt, proposer d'autres examens biologiques (moléculaires, hormonologiques, imagerie...), d'effectuer une analyse de ségrégation familiale, de détecter les autres cas dans la famille et discuter de leur suivi médical, d'assurer le conseil génétique, d'identifier les familles candidats à des approches pangénomique. Parallèlement nous avons développé un formulaire de description phénotypique standardisé et une base de données cliniques et génétiques (PythieVar).

Conclusion

Le panel de gènes explorés par séquençage nouvelle génération démontre une très grande efficacité (entre 2/3 à 3/4 d'élucidation génétique) dans les 2 principales indications (IPPSD et hypophosphatémie) représentant la moitié du recrutement du CNRMR de Bicêtre.

Dans 20 % des cas la mise en évidence de variant de signification incertaine nécessite le déclenchement d'examen complémentaires (Etude familiale, validation fonctionnelle, agrégation de cas).

Dans certains cas ces analyses permettent de compléter les connaissances scientifiques et médicales sur les relations génotypes/phénotypes, sévérité et pénétrance de la maladie dans la famille et les modes de transmission de gènes très peu décrits.

Pièce jointe : Poster_UPSUD_MaladiesPhCa_OSCAR_clean.docx

#20366 : Fibrose pulmonaire et pathogénicité de la mutation p.Val178Met de SFTPA1/SFTPA2

Auteurs :

Nadia Nathan (1), Afifaa Butt (1), Valérie Nau (2), Raphaël Borie (3), Bruno Crestani (3), Anne-Laure Chene (4), Tifenn Desroziers (5), Mélanie Héry (5), Emilie Filhol Blin (1), Florence Dastot le Moal (2), Philippe Duquesnoy (2), Bruno Copin (6), Annick Clement (1), Serge Amselem (2), Marie Legendre (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, CHU Nantes, Nantes, France
5. Unité Inserm UMR_S933 Maladies génétiques d'expression pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Service de Génétique Moléculaire et UMR-S933, Inserm et APHP Hôpital Trousseau, Paris, France

Mots clefs : Surfactant, fibrose pulmonaire, adénocarcinome, génétique moléculaire

Résumé :

Introduction

Les mutations de *SFTPA1* et *SFTPA2*, 2 gènes hautement homologues, sont associées à des fibroses pulmonaires de l'enfant et de l'adulte ainsi qu'à des adénocarcinomes pulmonaires de l'adulte. Seules quelques mutations ont été décrites, dont la mutation faux-sens c.532G>A p.(Val178Met) ou V178M, mais sans étude fonctionnelle attestant sa pathogénicité. Après l'identification de cette mutation à la fois dans les gènes *SFTPA1* (1 cas) et *SFTPA2* (2 cas indépendants), le but de ce travail était d'étudier les conséquences fonctionnelles de la mutation V178M sur les protéines SP-A1 et SP-A2.

Matériel et méthodes

La pathogénicité de la mutation V178M a d'abord été évaluée *in silico* par l'étude de la conservation, et de la modélisation protéique à l'aide de l'outil Modeller à partir de la structure cristallographique de la protéine SP-A du rat (cristal 3PAR, PDB). Dans un second temps, la production et la sécrétion des protéines SP-A1 et SP-A2 normales et mutées ont été étudiées en utilisant un vecteur d'expression transfecté dans des cellules HEK293T et A549. La production et la sécrétion des deux protéines a été évaluée par western blot (WB) à partir des lysats cellulaires et des surnageants de cultures. Enfin, le stress du réticulum endoplasmique (RE) et la dégradation protéique ont été étudiés pour SP-A2 respectivement par mesure de l'expression de BiP (marqueur du stress du RE) par WB et par traitement au MG-132 (inhibiteur du protéasome) des cellules HEK293T.

Résultats

La mutation V178M est décrite dans la base de données de variations GnomAD à une fréquence très faible : 1/250994 allèles contrôle pour *SFTPA1* et 3/250974 pour *SFTPA2*. Elle concerne un acide aminé du domaine de reconnaissance des carbohydrates (CRD) de la protéine SP-A très conservé au cours de l'évolution des espèces et entre SP-A1 et SP-A2. Le remplacement de la Valine 178 par une Méthionine ne semble pas modifier la conformation protéique de SP-A1 ou SP-A2 mais altère la charge électrostatique de surface du CRD. Elle ne semble pas susceptible d'altérer l'épissage de *SFTPA1* ou de *SFTPA2*. L'étude de l'expression *in vitro* indique que la mutation n'altère pas la production des protéines SP-A1/SP-A2 mais empêche leur sécrétion. Elle ne semble pas entraîner d'augmentation de l'expression de BiP. La quantité intra-cellulaire de la protéine SP-A2 mutée est augmentée par le MG-132 comparativement au WT, ce qui est en faveur de sa dégradation par le protéasome.

Discussion et conclusion

Ce travail démontre la pathogénicité de la mutation V178M de *SFTPA1* et *SFTPA2* qui i) concerne un acide aminé très conservé du domaine CRD de SP-A1 et SP-A2, ii) modifie la charge électrostatique de surface du CRD, iii) altère la sécrétion de SP-A1 et SP-A2, et iv) induit une dégradation de SP-A2 par la voie du protéasome. Cette étude conforte son implication dans les fibroses pulmonaires et la nécessité d'un conseil génétique dans le cadre de la fibrose pulmonaire et du risque accru d'adénocarcinome.

#20011 : Une glycogénose à ne pas omettre

Auteurs :

Meriem DJEDDOU (1), Nadia GAGI (1), Aziz AMRANE (1), Amine MASSEN (1), Lyece YARGUI (1), Meriem DJEDDOU (1)

1. , CHU Mustapha Alger, alger, Algérie

Mots clefs : Surcharge Glycogénique hépatique, musculaire, hypoglycémie, hépatomégalie, faiblesse musculaire, BIFID UVULA, Galactose.

Résumé :

Les Surcharges Glycogéniques ou Glycogénoses sont un groupe hétérogène des erreurs innées du métabolisme des glucides, nous rapportons le cas de l'enfant Hamza, âgé de 5ans, sans ATCD familiaux. Il nous a été parvenu devant des signes d'appel (Hypoglycémie, faiblesse musculaire et Hépatomégalie) faisant évoquée une surcharge glycogénique.

Notre démarche diagnostique a consisté en un bilan de routine qui a révélé des variations fortement associées à une glycogénose à la fois hépatique et musculaire. Le dosage du glycogène intraleucocytaire revenu normal, n'exclut pas une surcharge au niveau d'autres tissus. Les épreuves de charges dynamiques montrent aucune réponse à la charge du Glucagon, et une bonne tolérance au Galactose. Suite à une recherche bibliographique intense et l'analyse associés des examens biochimiques : Seules deux glyogénoses sont franchement hépatiques et Musculaires. Cliniquement, on peut faire la différence entre les deux glycogénoses par la présence d'un signe clinique pathognomique retrouvé dans 95 % des déficits en Phosphoglucomutase en l'occurrence Glycogénose type 14. Il s'agit d'une surcharge glycogénique au niveau de la luette que les anglosaxones appellent BIFID Uvula. La supplémentation en produits contenant du galactose, a contribué à la réduction de la faiblesse musculaire, normalisation des transaminases hépatiques et rareté des hypoglycémies.

#19873 : Identification d'une forme rare et létale de polymicrogyrie syndromique avec calcifications artérielles méningées liée aux variants homozygotes de ATP1A2**Auteurs :**

Nicolas Chatron (1, 2), Sara Cabet (3), Eudeline Alix (1), Annie Buenerd (4), Phillip Cox (5), Laurent Guibaud (3, 6), Audrey Labalme (1), Peter Marks (7), Deborah Osio (7), Audrey Putoux (1, 2), Damien Sanlaville (1, 2), Gaetan Lesca (1, 2), Alexandre Vasiljevic (8)

1. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. équipe GENDEV, CRNL, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
3. Service d'Imagerie pédiatrique et fœtale, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Service d'anatomopathologie, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. Service d'Anatomopathologie, Birmingham Women's and Children's Hospital NHSFT, Birmingham, Royaume Uni
6. Centre de compétence des malformations vasculaires superficielles, filière FAVA-Multi et Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
7. Service de génétique, Birmingham Women's and Children's Hospital NHSFT, Birmingham, Royaume Uni
8. Institut de pathologie multi-sites des Hospices Civils de Lyon, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Mots clefs : polymicrogyrie, ATP1A2, malformations cérébrales, calcifications vasculaires méningées

Résumé :

La polymicrogyrie est une malformation corticale définie par un plissement excessif du cortex aboutissant à la formation de gyri trop nombreux et peu profonds. Elle témoigne de la survenue *in utero* d'un événement extrinsèque (vasculaire ou infectieux) ou d'une anomalie génétique perturbant le neurodéveloppement en particulier aux stades tardifs de la migration neuronale et de la corticogenèse. Plus de 40 gènes responsables de polymicrogyrie ont été découverts grâce aux progrès des techniques génomiques parmi lesquels les gènes impliqués dans les troubles du peroxisome, les tubulinopathies ou les altérations de la voie de PIK3-AKT. Notre travail dévoile une nouvelle entité monogénique, liée à des variants tronquants homozygotes du gène *ATP1A2*, marquée par une forme extrêmement sévère et particulière de polymicrogyrie syndromique.

Nous rapportons les observations de deux fœtus et deux nouveaux-nés, issus de deux familles de nationalités différentes, porteurs d'un syndrome malformatif complexe de transmission autosomique récessive létal dans les premières heures de vie. L'atteinte prédominait à l'étage encéphalique avec une microcéphalie sévère, un défaut d'operculation des vallées sylviennes et une polymicrogyrie diffuse détectés en anténatal par échographie et IRM fœtales. L'autopsie réalisée dans trois cas a confirmé ces anomalies et complété le tableau par la mise en évidence d'une nécrose partielle des noyaux gris centraux avec calcifications secondaires, d'une dysplasie dento-olivaire, d'une agénésie des faisceaux pyramidaux et de calcifications méningées artérielles caractéristiques. Ces dernières, de part leur topographie singulière, nous ont suggéré un diagnostic génétique commun aux deux familles. Cette hypothèse a été confirmée par le séquençage d'exome qui a révélé des variants homozygotes non-sens du gène *ATP1A2* chez les cas atteints, puis par l'étude de leur ségrégation familiale. Une analyse complémentaire par immunohistochimie et immunoréactivité sur échantillons de cortex et de zone intermédiaire nous a permis de vérifier l'absence complète d'expression génique de *ATP1A2* chez deux cas atteints, contrairement aux contrôles. *ATP1A2* code pour l'isoforme alpha-2 de la Na^+/K^+ ATPase et, jusqu'en 2019, n'a été rapporté en pathologie humaine que dans des troubles neurologiques autosomiques dominants sans anomalie structurelle tels que les migraines familiales avec aura hémiplégique (OMIM # 602481) et les hémiplegies épisodiques de l'enfant (OMIM # 104290).

Notre travail élargit donc le spectre phénotypique des variants pathogènes de *ATP1A2* en décrivant les données neuropathologiques caractéristiques de la forme clinique la plus sévère du spectre et souligne, en pathologie humaine, la possibilité de plusieurs modes de transmission pour un même gène.

#19939 : Validation de méthode de la recherche par NGS des CNV en génétique constitutionnelle

Auteurs :

Imene Chentli (1), Angéline Legros (2), Alexandre Atkinson (1), Thibaut Lavolé (1), Etienne Muller (1), Sophie Krieger (1, 3), Arnaud Dufour (4), Nicolas Goardon (1), Agathe Ricou (1), Olivia Bruet (2), Céline Quesnelle (2), Chankannira San (2), Robin Fouillet (2), Laurent Castéra (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. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
3. Université, Caen-Normandie, Caen, France
4. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, Centre Francois Baclesse, Caen, France

Mots clefs : CNV, NGS, ISO15189, validation de méthode

Résumé :

Le diagnostic moléculaire des prédispositions au cancer du sein et de l'ovaire est réalisé par séquençage à haut débit (NGS) d'un panel de gènes. Il repose sur la détection des SNV, des Indels et des CNV. A l'heure actuelle, il n'existe ni consensus ni recommandations sur les méthodes d'utilisation des logiciels de détection des CNV en génétique constitutionnelle. Depuis 2012, au laboratoire, la détection des CNV a été menée avec l'analyse combinée de trois logiciels (CNVseq, CNVkit, OncoCNV) chez plus de 15000 cas index et complétée par confirmation MLPA. L'analyse combinée de ces trois logiciels montrait 100% de sensibilité avec les témoins utilisés à chaque série avec une bonne spécificité. Les faux positifs présentaient souvent une discordance entre ces trois logiciels. Nous avons évalué et validé (ISO15189) un 4ème outil, DECoN, dans l'objectif de remplacer ces trois logiciels par un logiciel unique. Son originalité réside dans la définition d'un set de référence propre à chaque échantillon analysé, ce qui apporterait plus de robustesse et maximiserait la détection de CNV y compris pour des délétions hétérozygotes et de petite taille.

Les résultats de DECoN seul ont été comparés aux résultats cumulés des trois outils utilisés en routine chez 1419 échantillons (incluant 70 CNV qualifiés par MLPA). Ont été étudiés le temps moyen normalisé d'analyse d'une série et la performance analytique des outils (nombre de vrais positifs et faux positifs).

DECoN se montre plus rapide avec un temps moyen de réalisation de 28 min pour une série de 57 échantillons. 100 % des CNV connus ont été retrouvés par DECoN et l'analyse combinatoire. De plus, le nombre de CNV détectés par DECoN était inférieur à celui de l'analyse combinatoire, laissant présager une spécificité meilleure de DECoN (la spécificité de la détection des CNV par NGS étant celle *in fine* celle de la MLPA validée indépendamment). Pour alimenter le dossier de validation de méthode, nous avons testé la robustesse de DECoN et évalué les seuils minima moyens de profondeur de couverture et les écarts maximums entre les échantillons dans une série. Nous avons défini ces seuils par sous-échantillonnages bioinformatiques (*downsampling*) successifs jusqu'à l'apparition de faux négatifs et augmentation de faux positifs. Le *downsampling* (de 95% > 500x à 95% > 30x) a été réalisé sur une série homogène de 57 échantillons puis sur 3 échantillons (porteurs ou non de CNV) au sein de la série non sous-échantillonnée.

Au final, DECoN a montré des critères suffisants à la validation de méthode. Nous avons donc validé l'utilisation et l'intégration de DECoN dans les pipelines diagnostiques en génétique constitutionnelle. De plus, il permet une analyse unique optimisant les étapes post-analytiques et limitant le nombre de MLPA de contrôle à réaliser. Il participe donc à la réduction des délais de rendu des résultats dans un contexte d'augmentation d'activité en oncogénétique dans le respect des obligations normatives.

Pièce jointe : CNV_Last.docx

#20546 : Intérêt de la réalisation du caryotype devant la mise en évidence d'anes hyperéchogènes isolées en diagnostic anténatal. Analyse rétrospective d'une cohorte Brestoise et revue de la littérature.

Auteurs :

Charlotte Caille (1), Mathilde Pacault (2), Genevieve Lefort (1), Severine Audebert-Bellanger (2), Cédric Le Marechal (2), Claude Ferec (2), Anne-helene Saliou (3)

1. Service de génétique médicale, CHRU de Nancy, Nancy, France
2. Service de génétique médicale, CHRU de Brest, Brest, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Brest, Brest, France

Mots clefs : anes hyperéchogènes isolées; Mucoviscidose, diagnostic prénatal

Résumé :

Introduction : L'hyperéchogénicité de l'intestin grêle (HEI) peut-être le témoin d'une pathologie fœtale. Les deux principales anomalies génétiques retrouvées sont la trisomie 21 et la mucoviscidose. Avec l'avènement du dépistage de la trisomie 21 fœtale sur ADN libre circulant dans le sang maternel réalisé chez toutes les femmes ayant un risque supérieur à 1/1000, et au vu des données bibliographiques récentes, le bénéfice du caryotype fœtal devant une HEI isolée semble diminué par rapport au risque lié au prélèvement invasif.

Matériels et Méthodes : Nous avons réalisé une étude rétrospective monocentrique incluant les patientes ayant eu une HEI de grade ≥ 2 confirmée en échographie de référence, associée à une revue de littérature.

Résultats : Aucune anomalie chromosomique n'a été retrouvée chez les 74 fœtus inclus présentant une HEI isolée. Ces résultats concordent avec les données de notre revue de la littérature. Nous avons noté un nombre élevé de diagnostics de mucoviscidose (8%) pouvant être expliqué par l'incidence plus élevée de porteurs sains de mutations dans le gène CFTR dans notre population d'étude.

Conclusion : Le risque d'anomalie chromosomique n'étant pas supérieur au risque de complications lié au geste invasif, il paraît envisageable de ne plus réaliser de caryotype fœtal en systématique devant une HEI isolée.

Pièce jointe : Intérêt de la réalisation du caryotype devant la mise en évidence d.pdf

#19896 : Recherche de facteurs génétiques augmentant la radiosusceptibilité cutané dans la maladie de Hodgkin

Auteurs :

Henri MARGOT (1), Pierre MACQUERE (1), Louis LEBRETON (1), Bernadette GASTALDELLO (1), Nicolas SEVENET (1), Michel LONGY (1)

1. Service d'oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France, Bordeaux, France

Mots clefs : Exome, Radiosensibilité, Radiosusceptibilité, Hodgkin, Carcinomes baso-cellulaires.

Résumé :

La radiosusceptibilité est le risque individuel de développer un cancer radio-induit. Les cancers secondaires suivant une maladie de Hodgkin sont fréquent, mais certains patients montrent une radiosusceptibilité plus importante. C'est l'analyse génétique de patients traités par radiothérapie pour médulloblastome ayant développé des carcinomes basocellulaires dans le champ d'irradiation qui a permis de mettre en évidence le syndrome de Gorlin avec l'inactivation du gène PTCH1. 6 patients avec maladie de Hodgkin ont développé de multiples carcinomes basocellulaire, de façon précoce dans le champ d'irradiation de leur lymphome. Leurs ADN constitutionnels a été séquencé en exome pour tenter de trouver une explication monogénique à leur phénotype commun, dans un raisonnement analogique à celui ayant abouti à la découverte du syndrome de Gorlin. 50 variants tronquant et absent des bases de données ont été identifiés. Cependant aucun des variants n'étaient localisés dans le même gène chez au moins deux patients, ce qui empêchait d'utiliser un critère de répétition pour la validation de leurs implications dans le phénotype. Cependant une étude de la fonction de chacun des gènes retrouvés a mis en évidence 4 variants d'intérêt. Deux sont les deux sous-unités d'une même enzyme du cycle de Krebs, la succinate ligase (*SUCLG1* et *SUCLA2*) et deux sont impliqués dans la réparation de l'ADN (*POLQ* et *RAD1*). Ces deux catégories de gènes englobent des gènes également connus pour leurs implications dans la prédisposition héréditaire au cancer, justifiant leur sélection dans notre étude. En conclusion, aucun variant commun n'a pu être détecté entre les 6 patients. Cependant 4 variants indépendants pourraient expliquer la radiosusceptibilité observée dans notre étude. Pour conclure à une causalité, plusieurs arguments ont été recherchés. Dans la littérature, on retrouve notamment une implication de *POLQ* dans la survenue de carcinomes basocellulaires sur modèle murin. Une seconde phase de notre recherche a consisté à identifier d'autres patients présentant un variant tronquant du même gène avec le même phénotype, soit par le criblage génique de patients avec carcinome basocellulaires multiples, soit par l'investigation du phénotype des patients décrits dans la littérature avec des variants tronquants de l'un de ces quatre gènes, sans succès. Une troisième phase fonctionnelle se poursuit à l'aide de lignées cellulaires immortalisées par infection à l'EBV à partir de lymphocytes des patients. Des tests de réparation de l'ADN révélés par anti γ -H2AX ainsi que des chromatographies des dérivés du cycle de Krebs sont réalisés sur ce modèle, afin de montrer une radiosusceptibilité accrue comparée aux contrôles.

#20534 : Identification d'une nouvelle mutation au niveau du gène TBX1 chez 6 patients Tunisiens non apparentés ayant le syndrome de DiGeorge**Auteurs :**

Malek Bouassida (1), Amel Jaouadi (2), Fatma Abdelhedi (3), Nourhène Gharbi (1), Fatma Mejdoub (1), Lobna Maalej (1), Ikhlas Ben Ayed (1), Neila Belguith (1), Hassen Kamoun (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Mots clefs : syndrome de DiGeorge, délétion 22q11.2, cardiopathie congénitale, FISH, Gène TBX1

Résumé :

Le syndrome de DiGeorge est un syndrome microdélétionnel de la région 22q11.2, caractérisé par un spectre phénotypique très large pouvant aller d'un phénotype sévère à des formes atténuées. Il a été suggéré que cette variabilité phénotypique pourrait être expliquée par la présence de CNVs chez les patients porteurs des délétions. Plusieurs gènes candidats situés dans ce locus ont été identifiés dont le principal est *TBX1*. Des mutations à l'état hétérozygote au niveau de *TBX1* sont associés également au phénotype du syndrome de DiGeorge.

Nous avons réalisé une étude clinique et génétique chez 20 patients non apparentés présentant un phénotype évocateur du syndrome de DiGeorge. L'analyse cytogénétique a été basée sur la recherche des délétions typiques par FISH. Par ailleurs, l'analyse par ACPA n'a pas pu être réalisée. Les patients pour lesquels aucune anomalie cytogénétique n'a été identifiée ont bénéficié d'un séquençage du gène *TBX1*.

L'analyse par FISH a révélé une délétion de novo chez 2 patients. Les patients pour lesquels aucune anomalie cytogénétique n'a été mise en évidence ont bénéficié du séquençage de tout le gène *TBX1*. L'analyse moléculaire de *TBX1* montre une nouvelle mutation c.569C > A à l'état hétérozygote, au niveau de l'exon 5 chez 6 patients non apparentés. Cette variation est responsable au niveau protéique de la substitution d'une proline en position 190, acide aminé très conservé au cours de l'évolution, par une Glutamine(p.P190Q). Les études in silico ainsi que l'absence de cette variation chez 50 témoins d'origine tunisienne suggèrent que cette mutation aurait un effet délétère sur la fonction de la protéine Tbx1.

Pièce jointe : Nouvelle mutation de TBX1_ASSISES 2020_final.docx

#20467 : Syndrome de Walker-Warburg : à propos d'un cas

Auteurs :

Héla Sassi (1), Yasmina Elaribi (1), Imen Rejeb (1), Houweyda Jilani (1), Syrine Hizem (1), Ons Azzabi (2), Anissa Ben Amor (3), Johannes Lemke (4), Lamia Ben Jemaa (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, Tunis, Tunisie
2. service de pédiatrie , Hôpital Mongi Slim, Tunis, Tunisie
3. Service de gynécologie-Obstétrique, Hôpital Mongi Slim, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire de génétique humaine, Institut de génétique humaine, Leipzig, Allemagne

Mots clefs : Syndrome de Walker-Warburg, POMT1, mutation

Résumé :

Le syndrome de Walker-Warburg (SWW) est une maladie génétique rare avec une incidence de 1-2/100000 naissances vivantes. Il associe une dystrophie musculaire congénitale (DMC), une atteinte cérébrale (hydrocéphalie) et des anomalies oculaires. Il est la forme la plus sévère des DMC. La plupart des enfants décèdent avant l'âge de trois ans. Il appartient au groupe des anomalies de la O-mannosylation considérée comme responsable de syndromes malformatifs impliquant le cerveau, les yeux et le muscle (SWW, Fukuyama, Muscle-Eye-Brain disease et déficit secondaire en mérosine 2). Il est transmis selon le mode autosomique récessif. Des mutations du gène *POMT1*, codant pour une O-mannosyltransferase ont été retrouvées chez 20 % des patients diagnostiqués cliniquement SWW.

Nous rapportons le cas d'un enfant né à terme. Il était le premier enfant d'un couple en bonne santé, apparentés de deuxième degré et aux antécédents de trois fausses-couches et d'une interruption médicale de grossesse à la 24^e semaine d'aménorrhée sur signes échographiques (hydrocéphalie bilatérale). Une hydrocéphalie majeure a été découverte en anténatal mais la grossesse a été poursuivie. Notre patient a présenté à la naissance une hypotonie généralisée, une macrocéphalie (41 cm), une dysmorphie faciale (bosses frontales, hypoplasie de l'étage moyen, narines antéversées, microphthalmie), un micropénis et un hypospadias. Le caryotype standard était normal. Nous avons réalisé une whole exome sequencing qui a mis en évidence la mutation c.427+2insA à l'état homozygote au niveau du gène *POMT1*. Les parents étaient porteurs de cette variation à l'état hétérozygote. Cette variation entraîne un saut de l'exon 5 lors de l'épissage. Ces résultats indiquent que la mutation c.427+2insA est responsable de SWW chez notre patient. L'enfant est décédé à l'âge de un an dans un tableau d'insuffisance respiratoire.

Le SWW est une maladie extrêmement grave. L'étude moléculaire permet non seulement de confirmer le diagnostic mais surtout de proposer un diagnostic prénatal aux familles à haut de risque et d'interrompre la grossesse avant l'apparition des signes échographiques.

#20225 : Les modifications intracellulaires au cours d'une encéphalopathie épileptique précoce (EEP) liée à KCNQ2 peuvent-elles être responsables de la rémission des crises d'épilepsie ?**Auteurs :**

Lucile Brun (1), Iman Noufir (1), Cécile Ravix (1), Christophe Chevillard (2), Pauline Brochet (2), Nicolas Lenfant (1), Mathieu Milh (3), Jean-Christophe Roux (1), Laurent Villard (1)

1. , Aix-Marseille univ, INSERM, U1251, MMG, Marseille, France

2. , Aix-Marseille univ, INSERM, U1090, TAGC, Marseille, France

3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital d'Enfants de La Timone, AP-HM, Marseille, France, Aix-Marseille univ, INSERM, U1251, MMG, Marseille, France

Mots clefs : KCNQ2, RNA-seq, épilepsies, encéphalopathies

Résumé :

Les encéphalopathies épileptiques précoces (EEP) sont des syndromes épileptiques rares et pharmacorésistants. Elles sont caractérisées par des crises d'épilepsie associées à une rapide détérioration motrice et cognitive. Il existe des causes génétiques aux EEP. La cause la plus fréquente est la présence de variants pathogènes dans le gène *KCNQ2*. Ce gène code pour une sous-unité Kv7.2 des canaux potassiques qui contrôlent l'excitabilité neuronale. Nous avons créé en 2016 le premier modèle murin *knock-in* qui reproduit un variant pathogène identifié chez 8 patients atteints d'une forme typique d'EEP. Nous avons montré depuis qu'il s'agit d'un bon modèle de la pathologie. Comme chez les patients atteints d'EEP, la souris modèle présente des crises d'épilepsie précoces, une rémission des crises après plusieurs semaines de vie et des déficits neurologiques importants. La rémission des crises est encore inexpliquée, une des hypothèses proposées par l'équipe est la compensation de l'effet du variant pathogène par une modulation d'expression d'autres gènes dans le cerveau. Une analyse par *RNAseq* du cortex préfrontal des souris modèles a été réalisée afin d'identifier des modifications transcriptionnelles. Nous montrons que les récepteurs D1 et D2 de la dopamine, les gènes *Gdnf*, *Thbs1* ou encore *Oxt* sont significativement dérégulés dans le cerveau des animaux modèles à différents stades de la pathologie et discutons la place que ces dérégulations pourraient avoir dans l'évolution du phénotype épileptique. De nouvelles analyses sur d'autres animaux sont en cours afin de confirmer ces premiers résultats ainsi que des analyses sur des neurones corticaux dérivés d'iPS de patients. Une analyse protéomique sera réalisée avec ces mêmes échantillons. A terme, nous espérons mieux comprendre la physiopathologie des EEP liées à *KCNQ2* afin de proposer de nouvelles pistes thérapeutiques.

#20537 : Encéphalopathie épileptique et ataxie congénitale non progressive liées aux mutations bi-alléliques de BRAT1 : description de 39 nouveaux patients et revue de la littérature**Auteurs :**

Geoffroy Delplancq (1), Stéphanie Valence (2), Reza Maroofian (3), Deborah Morris-Rosendahl (4, 5), Gökhan Yigit (6), Beate Albrecht (7), Bernd Wollnik (6), Siddharth Srivastava (8), Marlène Rio (9), Enza Maria Valente (10, 11), Choi Murim (12, 13), Chae Jong-Hee (13), Audrey Putoux (14), Gaetan Lesca (15), Christelle Rougeot-Jung (16), Sylvie Odent (17), Laurent Pasquier (17), Elise Brischoux-Boucher (1), Cyril Migot (18), Rauan Kaiyrzhanov (19), Henry Houlden (19), Vincenzo Salpietro (19, 20), Marlène Doco-Fenzy (21), Lynette Penney (22), Alfredo Brusco (23), Marion Gerard (24), Fowzan Sami Alkuraya (25), Christine Coubes (26), Valerie Delague (27), Lionel Van Maldergem (1), Lydie Burglen (28), Juliette Piard (1)

1. Centre de génétique humaine, CHU de Besançon, Université de Franche-Comté, Besançon, France
2. Service de Neuropédiatrie, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
3. Genetics Research Centre, Molecular and Clinical Sciences Institute, St George's University of London, Cranmer Terrace, Londres, Royaume Uni
4. Institute of Human Genetics, Albert-Ludwigs University of Freiburg Medical Centre, Freiburg, Allemagne
5. Clinical Genetics and Genomics, Royal Brompton and Harefield NHS Foundation Trust and NHLI, Imperial College, Londres, Royaume Uni
6. Département de Medical Genetics, University of Cologne, Cologne, Allemagne
7. Institute of Human Genetics, University Clinic Essen, Essen, Allemagne
8. Department of Neurology, Boston Children's Hospital, Boston, Massachusetts, Etats-Unis
9. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
10. Department of Molecular Medicine, University of Pavia, Pavia, Italie
11. Neurogenetics Unit, IRCCS Santa Lucia Foundation, Rome, Italie
12. Department of Biomedical Sciences, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Corée du Sud
13. Department of Pediatrics, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Corée du Sud
14. Service de Génétique - Unité de génétique clinique, Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, Bron, France
15. Service de Génétique - Unité de génétique clinique, Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
16. Département de neuropédiatrie, CRMR déficience intellectuelle de cause rare, Centre de compétence malformations et maladies congénitales du cervelet, CHU de Lyon, Lyon, France
17. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
18. Département de Génétique & Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, GH Pitié-Salpêtrière, APHP Sorbonne Université, Paris, France
19. Department of Neuromuscular Diseases, UCL Institute of Neurology, Queen Square, Londres, Royaume Uni
20. Pediatric Neurology and Muscular Diseases Unit, IRCCS Istituto "Giannina Gaslini", 16147, Genoa, Italie
21. Service de Génétique, CHU de Reims, Reims, France
22. Division of Medical Genetics, Department of Pediatrics, IWK Health Centre, 5850/5980 University Ave, PO Box 9700, Halifax, Canada
23. Department of Medical Sciences, University of Turin, Turin, Italie
24. Service de Génétique, CHU de Caen, CHR Clémenceau, Caen, France
25. Department of Genetics, King Faisal Specialist Hospital and Research Center, Riyadh, Arabie saoudite
26. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, CHU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve Montpellier, Montpellier, France
27. Inserm, MMG, U 1251, Aix Marseille Univ, Marseille, France
28. Département de Génétique, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Mots clefs : BRAT1, encéphalopathie épileptique, épilepsie, ataxie congénitale non progressive, rigidité, hypo-atrophie cérébelleuse

Résumé :

L'encéphalopathie épileptique néonatale avec rigidité et décès précoce (MIM #614498) décrite en 2012 par Puffenberger dans la communauté amish est caractérisée par une hypertonie sévère, une épilepsie pharmaco-résistante et une léthalité avant l'âge de 2 ans dans la majorité des cas. Il s'agit d'une affection récessive autosomique liée aux mutations de *BRAT1* (*BRCA-associated ATM activator 1* gene ; MIM #614506). Vingt-quatre patients ont été rapportés dans la littérature depuis la description initiale. À côté de ce tableau sévère progressif, une forme plus modérée a été décrite chez neuf patients (MIM # 618056). Celle-ci se caractérise par une ataxie congénitale non progressive, avec ou sans épilepsie et atrophie cérébelleuse.

Grâce à une collaboration internationale, nous rapportons 39 patients supplémentaires issus de 32 familles différentes, dont 13 consanguines, avec mutations bi-alléliques de *BRAT1*. Vingt-deux d'entre eux sont atteints de la forme non progressive (22/39 ; 56%). Le tableau clinique est marqué par des troubles du langage de sévérité variable (17/19 ; 89%) et une absence d'acquisition de la marche autonome dans 67% des cas (14/21). L'examen clinique retrouve des paramètres de croissance staturaux-pondéraux normaux y compris le périmètre crânien (17/20 ; 85%), une hypotonie (12/16 ; 75%) et une ataxie (17/22 ; 77%). L'épilepsie est rare (3/22 ; 14%). L'IRM cérébrale montre une hypo-atrophie cérébelleuse dans 95% des cas (21/22) parfois associée à une atrophie cérébrale (13/20 ; 65%).

Dix-sept patients (17/39 ; 44%) sont atteints de la forme dite léthale caractérisée par une absence complète de la moindre acquisition psychomotrice, une microcéphalie progressive (moyenne : -3.3 DS) et une épilepsie. Les crises débutent le plus souvent avant l'âge de 1 an (16/17 ; 94% ; moyenne : 1,7 mois) et sont résistantes au traitement (15/17 ; 88%). Une hypertonie périphérique (rigidité) (14/16 ; 88%) est fréquemment notée. Le décès survient le plus souvent avant 2 ans (13/17 ; 76% ; moyenne : 5,5 mois). L'IRM cérébrale retrouve une atrophie cérébrale (9/15 ; 60%) parfois associée à une hypo-atrophie cérébelleuse progressive (4/15 ; 27%).

Au plan moléculaire, nous rapportons 35/78 (45%) variants tronquants, 28/78 (35%) variants faux sens, 2/78 (3%) variants synonymes et 13/78 (17%) délétions en phase de 3 acides aminés dont 22 variants non décrits dans la littérature. L'étude des corrélations phénotype-génotype montre

que la présence de deux variants tronquants est toujours associée à la forme léthale avec un décès dans les premiers mois de vie.

Au total, l'encéphalopathie liée les mutations bi-alléliques de *BRAT1* sont associées à un large spectre phénotypique, allant de l'encéphalopathie épileptique sévère progressive à un tableau d'ataxie congénitale non progressive.

Pièce jointe : Abstract BRAT1 - Assises Tours définitif.docx

#19969 : Profil cytogénétique et moléculaire du myélome multiple : 1ere série Marocaine

Auteurs :

hasna hamdaoui (1), Hossain Mossafa (2), oumaïma Benlarroubia (3), Karim Ouldim (2, 4), hind Dehbi (5), Fatima Chegdani (6)

1. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital cheikh khalifa, faculté des sciences Ain Chock, université Hassan II , Casablanca, casablanca, Maroc
2. Pôle cytogénétique, Laboratoire National de référence, Casablanca, Maroc
3. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital cheikh khalifa, casablanca, Maroc
4. , Université Mohammed VI des Sciences de la Santé, Casablanca, Maroc
5. laboratoire de genetique medicale CHU casablanca, laboratoire de pathologie cytologie moleculaire, faculte de medecine de casablanca, universite Hassan II, casablanca, Maroc
6. , Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc

Mots clefs : FISH, myelome multiple,

Résumé :**Introduction**

Le myélome multiple (MM) est une néoplasie B caractérisée par la prolifération d'un clone de cellules plasmocytaires malignes qui s'accumulent dans la moelle osseuse. L'étude cytogénétique au cours du myélome multiple est un paramètre pronostique majeur, sa réalisation reste difficile, d'une part vu le faible index mitotique des cellules myélomateuses en culture et d'autre part vu la "dilution" des plasmocytes tumoraux dans les échantillons médullaires par agrégation des plasmocytes médullaires tumoraux en colonies cellulaires. L'utilisation de l'hybridation in situ fluorescente (FISH) est un complément nécessaire à l'évaluation cytogénétique d'un MM puisqu'elle permet de détecter des microremaniements cytogénétiques. Elle nécessite obligatoirement un tri sélectif des plasmocytes pour enrichir des préparations interphasiques.

Patients et Méthodes :

Nous rapportons dans ce travail une étude prospective réalisée du juin 2016 au Décembre 2018, portant sur 92 patients adressés au service de cytogénétique du Laboratoire National de Référence, Casablanca. Notre méthodologie a consisté d'abord en un tri sélectif des plasmocytes (technologie Milteny) suivi de la FISH à la recherche des anomalies chromosomiques suivantes : la t(4 ;14) la del(17p) , le gain de 1q ou la perte de 1p, en utilisant les sondes suivantes : IGH/FGFR3 double fusion vysis, TP53/CEP 17 FISH Probe, vysis et 1p36/1q25 FISH Probe, vysis . En parallèle un caryotype standard a été réalisé directement sur la moelle.

Résultats :

On a une prédominance masculine avec 49 hommes (53%) et 43 femmes (47%) dont la médiane d'âge est 50 ans. Parmi les 92 patients, 88 ont bénéficié de l'analyse moléculaire FISH tandis que 46 patients seulement ont bénéficié d'un caryotype standard vu l'absence de sa demande. Les résultats du caryotype ont montré une fréquence de (22%) des anomalies chromosomiques clonales complexes. Les caryotypes complexes avec des anomalies chromosomiques de nombre et de structure comportent 6 cas d'hyperdiploidie ($47 < n < 52$) (60%) ce qui représente l'anomalie de nombre la plus fréquente dans la série, suivie de 3 cas d'hypodiploidie (< 45 chromosomes) (30%) et 1 cas diploïde (10%). Ainsi, le diagnostic moléculaire par FISH a permis de mettre en évidence des anomalies chromosomiques dans 49% des cas (43/88), qui sont réparties comme suit : 13 cas de la translocation t(4;14) ce qui représente (15%), suivi de l'amplification du bras long du chromosome 1 (1q) chez 12 cas (14%), puis la délétion du bras court du chromosome 17 (del17p) dans 10 cas (11%), en outre 9 cas de réarrangement du locus IGH ont été retrouvés (10%).

Conclusion :

Nous rapportons à travers ce travail de notre service la première expérience marocaine dans la prise en charge multidisciplinaire du myélome multiple.

Nos résultats sont en accord avec ceux précédemment publiés concernant la fréquence des anomalies récurrentes.

#20484 : Estimation des odds-ratios dans les études d'association avec le génome entier basées sur le modèle logistique mixte

Auteurs :

Jacqueline Milet (1), Hervé Perdry (2)

1. MERIT - IRD, Université Paris 5, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Inserm CESP, Université Paris Saclay, Villejuif, France

Mots clefs : GWAS, modèle logistique mixte, odds-ratio

Résumé :

Dans les études d'association avec le génome entier, l'utilisation de modèles mixtes basés sur une matrice d'apparement génomique (Genomic Relationship Matrix, ou GRM), s'est imposée comme la méthode de choix pour la prise en compte de la présence éventuelle d'une structure de population. L'inconvénient des modèles mixtes est la lourdeur des calculs associés. Si dans le cas des phénotypes quantitatifs, des astuces d'implémentation permettent d'alléger les calculs (Lippert et coll, 2011), dans le cas des phénotypes binaires (études cas/témoins) analysés par un modèle logistique mixte, seul le test du score est facilement réalisable (Chen et coll, 2016).

Cependant il est souvent souhaitable d'obtenir une estimation de l'effet (odds ratio) de l'ensemble des variants étudiés, ce que ne permet pas le test du score. Il faut alors utiliser des méthodes basées sur des approximations (telle que disponible, par exemple, dans SAIGE, Zhou et coll 2018).

Nous avons étudié le comportement de deux méthodes permettant d'obtenir une estimation de cet effet, basées sur des approximations différentes : l'une est analogue à celle utilisée dans SAIGE ; l'autre consiste à estimer les effets individuels (fixes et aléatoires) dans un modèle logistique mixte qui n'inclut pas les SNP, et à ensuite estimer les effets associés à ceux-ci en incluant les effets individuels dans un modèle logistique, sous forme d'un offset.

Pour ce faire, nous avons réalisé des simulations basées sur des données génomiques issues d'une étude GWAS (Milet et coll, 2019), ainsi que sur des données simulées par un modèle de coalescence avec structure spatiale (Hudson 2002). Ces deux méthodes sont implémentées dans le package R *milorGWAS*, disponible sur github (basé sur le package *gaston*, Dandine et coll 2016). Nous comparons également ces méthodes avec la solution plus classique qui consiste à incorporer les premières composantes principales génomiques dans un modèle logistique (sans effet aléatoires).

Les bonnes performances de la méthode basée sur les offsets permettent d'envisager d'utiliser cette heuristique simple pour d'autres modèles non-linéaires..

Références.

- Chen et coll. (2016) Control for population structure and relatedness for binary traits in genetic association studies via logistic mixed models. *Am. J. Hum. Genet.*
- Dandine et coll. (2017) Genome-Wide Data Manipulation, Association Analysis and Heritability Estimates in R with Gaston 1.5. *Hum. Hered.*
- Hudson. (2002). Generating samples under a Wright-Fisher neutral model of genetic variation. *Bioinformatics.*
- Lippert et coll. (2011) FaST linear mixed models for genome-wide association studies. *Nat. Methods.*
- Milet et coll. (2019) First genome-wide association study of non-severe malaria in two birth cohorts in Benin. *Hum. Genet.* To appear.
- Zhou et coll. (2018) Efficiently controlling for case-control imbalance and sample relatedness in large-scale genetic association studies. *Nat. Genet.*

#20270 : Analyse d'une cohorte de patients présentant des épisodes d'ataxie : 25 % des mutations identifiées sont situées en dehors des gènes classiques des ataxies épisodiques

Auteurs :

Florence Riant (1), Manuelle Kossorotoff (2), Giovanni Castelnuovo (3), Caroline Tilikete (4), Audrey Riquet (5), Jean Christophe Cuvellier (6), Chloé Quelin (7), Bénédicte Heron (8), Cécilia Marelli (9), Franck Rejou (9), Christine Ioos (10), Gérard Besson (11), Camille Giron (12), Jessica Hadjhadj (13), Elisabeth Tournier-Lasserre (14)

1. Génétique Moléculaire Neurovasculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
2. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker, Paris, France
3. Neurologie, Hôpital Carémieu, Nîmes, France
4. Service de Neurologie, Hôpital Neurologique et Neurochirurgical Pierre Wertheimer, Lyon, France
5. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Roger Salengro, Lille, France
6. Neuropédiatrie, Hôpital Roger Salengro, Lille, France
7. Service de Génétique, Hôpital Sud Anne de Bretagne, Rennes, France
8. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
9. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
10. Service de Pédiatrie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France
11. Service de Neurologie, Hôpital Albert Michallon, Grenoble, France
12. Service de Neurologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
13. Génétique Moléculaire Neurovasculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
14. Génétique Moléculaire Neurovasculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France

Mots clefs : ataxie épisodique, CACNA1A, KCNA1, PRRT2, FGF14, GLUT1, ATP1A3

Résumé :

Les ataxies épisodiques héréditaires constituent un groupe d'affections neurologiques rares dont la transmission est autosomique dominante. Elles se manifestent sous forme de crises paroxystiques affectant l'équilibre et la coordination. Les épisodes peuvent être déclenchés par différents stimuli, ils durent de quelques secondes à plusieurs heures, voire plusieurs jours. Les premières manifestations cliniques ont le plus souvent lieu dans l'enfance ou l'adolescence. Les types 1 et 2 (EA1, EA2) sont bien connus sur le plan clinique et sur le plan génétique. L'EA1 est caractérisée par des épisodes courts et la présence de myokimies; le gène responsable KCNA1 code pour le canal potassique Kv1.1. L'EA2 se manifeste par des épisodes plus longs et est fréquemment associée à un nystagmus, un syndrome cérébelleux et une atrophie vermineuse; le gène responsable CACNA1A code pour le canal calcique Cav2.1. Les autres types d'EA (EA3 à EA8) ont été décrits dans très peu de familles et seuls les gènes des types 5, 6 et 8 ont été identifiés, respectivement CACNB4, SLC1A3 et UBR4. Des mutations de gènes en cause dans d'autres pathologies peuvent aussi être à l'origine d'épisodes d'ataxie, soit du fait d'une association de symptômes, soit du fait d'une présentation atypique.

Etude réalisée : Nous avons mis en place un panel ciblant les gènes connus des ataxies épisodiques et des gènes pour lesquels des manifestations épisodiques d'ataxie ont été rapportées chez des patients mutés. Le panel comprend les gènes CACNA1A, KCNA1, CACNB4, SLC1A3, FGF14, PRRT2, SLC2A1, ATP1A3, UBR4, SCN2A, SCN8A.

Résultats : 572 patients non apparentés avec suspicion d'ataxie épisodique ont été analysés entre 2015 et 2019. Une anomalie pathogène ou probablement pathogène a été identifiée chez 73 patients : 64 variants ponctuels et 9 grands réarrangements. 55 variants ont été détectés dans les gènes CACNA1A (53) et KCNA1 (2). Les autres variants ont été identifiés dans PRRT2 (6 patients), SLC2A1 (6 patients), FGF14 (3 patients), ATP1A3 (2 patients), SCN8A (1 patient). Les grands réarrangements concernaient les gènes CACNA1A (3 patients), PRRT2 (4 patients) et FGF14 (2 patients).

Conclusion : Le gène le plus fréquemment muté chez les patients envoyés pour suspicion d'ataxie épisodique était CACNA1A. 18 patients (25%) étaient porteurs d'une mutation dans un gène associé à une autre pathologie : FGF14 (SCA27), SLC2A1 (GLUT1), ATP1A3 (AHC/RDP), PRRT2 (PKD), SCN8A (EIEE). La présentation clinique chez ces patients était généralement moins sévère que la symptomatologie habituellement associée aux mutations de ces gènes hormis pour les patients PRRT2 pour qui la

présentation était plus sévère ; 2 des patients mutés PRRT2 étaient hétérozygotes composites et 2 étaient porteurs d'une grande délétion. Il est important de rechercher les grands réarrangements, en particulier pour les gènes FGF14 et PRRT2 qui présentent assez souvent ce type de mutation.

#20451 : Caractérisation fonctionnelle d'un variant de la région 5'UTR du gène de l'ornithine transcarbamylase

Auteurs :

Manel Guirat (1), Stéphanie Gobin (1), Mayse Magen (1), Rio Marlène (2), Jean-Baptiste Arnoux (3), Caroline Michot (2), Pascale Delonlay (3), Marie Simon (1), Julie Steffann (1), Jean-Paul Bonnefont (1)

1. Service de génétique moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Service de génétique clinique, Institut Imagine, Paris, France
3. Service des maladies métaboliques, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : Gène OTC, Variant, Région 5'UTR, ARN messager

Résumé :

L'ornithine transcarbamylase (OTC) est une enzyme du cycle de l'urée qui catalyse la formation de citrulline à partir d'ornithine et de carbamylphosphate. Des mutations du gène *OTC* sont responsables d'hyperammoniémie néonatale ou plus tardive chez les garçons hémizygotes, et d'un phénotype très hétérogène chez les filles hétérozygotes. Environ 500 mutations dans le gène *OTC* ont été rapportées dans la littérature. Dans 90% des cas il s'agit de mutations ponctuelles situées dans les régions codantes et les jonctions exon-intron et dans les cas restants de larges remaniements à type de délétion ou de duplication affectant une partie ou la totalité du gène. Dans quelques rares cas, aucune mutation pathogène ne peut être mise en évidence.

Nous rapportons le cas d'une patiente chez laquelle le diagnostic de déficit en OTC a été porté à l'âge de 2 ans devant des épisodes de vomissements avec cytolysé hépatique et une hyperammoniémie. L'évolution était marquée par un état stable sous régime et traitement. L'étude du gène *OTC* par séquençage Sanger, MLPA à la recherche de délétion / duplication, puis séquençage haut débit incluant tous les gènes du cycle de l'urée n'a permis d'identifier que le variant c.-142G > A à l'état hétérozygote dans la région 5'UTR du gène *OTC*, quelques dizaines de nucléotides en aval du site d'initiation de la transcription. Ce variant est survenu *de novo* chez notre patiente. Afin d'évaluer son effet sur l'expression génique, une étude complémentaire du transcrit a été entreprise à partir d'ARN extrait des fibroblastes de la patiente. Nos résultats montrent que le variant n'est pas retrouvé sur l'ARN, suggérant soit une instabilité des ARNm mutés, soit une diminution de l'expression du gène comme cela vient d'être montré par une autre équipe par l'utilisation d'un gène rapporteur.

Ces résultats soulignent l'importance de poursuivre la recherche de variations de séquence par l'étude des régions régulatrices des gènes chez les patients sans mutation identifiée.

Pièce jointe : résumé assises 2020-OTC.docx

#20378 : Les mutations du gène CDH23 sont responsables de surdité isolée et de surdité syndromique dans la population Algérienne**Auteurs :**

SAMIA ABDI (1), Mohamed Makrelouf (2), Crystel Bonnet (3), Yahia Rous (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 : CDH23, DFNB12, Usher, exome, mutations

Résumé :

Le gene CDH23 est localisé au niveau du bras long du chromosome 10. Il code pour une superfamille de proteines d'adhésion cellulaire calcium dependantes localisées au niveau de l'oreille interne et la rétine appelées famille des Cadherine23. Celles-ci ont un role important dans la transduction m cano lectrique et photoélectrique des signaux sonores et photons.

Les mutations de ce gene sont à l'origine de surdité neurosensorielle qui represente un grand probleme de santé publique puisqu'il entrave l'acquisition du langage des enfants atteints.

Selon l'isoforme atteinte, certaines mutations entrainent l'installation de surdité isolée (DFNB12) et d'autres sont responsables de surdité syndromique en l'occurrence le syndrome de Usher de type1(USH1D). Notre travail a porté sur la recherche de l'origine genetique des surdités hereditaires en Algérie afin de rechercher et d'identifier les loci et les mutations propres à notre population, ce qui nous permettra de venir en aide aux familles atteintes en leur offrant un conseil genetique. Pour cela une centaine de familles algeriennes ayant au moins un enfant atteint de surdité neurosensorielle congénitale est recrutée au niveau du service ORL du CHU dde Blida entre 2011 et 2014. L'etude moléculaire a été faite à l'institut de la vision à Paris par le sequencage de l'exome sur de l'ADN extrait par la méthode au "salting out" au niveau du laboratoire de biochimie genetique du CHU Babeloued   Alger. Plusieurs mutations du gene CDH23 ont été retrouvées chez nos familles dont la plupart sont responsables de syndrome de Usher de type 1 chez des enfants sourds presentant des signes de retinite pigmentaire mais une nouvelle mutation hétérozygote composite C.3794T > C (p.Ile1265Thr) + C.9799C > T (p.Arg3267Cys) a été retrouvée chez un enfant issu d'un mariage consanguin et atteint de surdité profonde isolée.

#19762 : Etude du polymorphisme de la région HVSI de l'ADN mitochondrial dans quatre populations Berbérophones de l'Algérie.

Auteurs :

Hocine Badache (1), Sarra Elkamel (1), Sami Boussetta (1), Nessrine Ben Salem (1), Houssein Khodjet Ikhil (2), Lotfi Cherni (3)

1. , Université de Tunis El Manar, Tunis, Tunisie

2. , Qatar University, Department of Health Sciences, Doha, Qatar

3. , Institut supérieur de biotechnologie de Monastir, Monastir, Tunisie

Mots clefs : Algérie, Nord Afrique, Berbères, ADNmt, HVSI

Résumé :

Dans le présent travail nous nous sommes intéressés à l'étude de la structure génétique d'une population berbérophone provienne du Nord-est algérien. Nous avons séquencé la région HVSI de l'ADN mitochondrial chez 152 sujets non apparentés originaires de quatre régions (40 de Batna, 35 de Khenchela, 42 de Tébessa et 35 de Bejaia), les séquences obtenues ont fait l'objet de diverses analyses statistiques et bio-informatiques.

Les populations étudiées présentent une importante diversité des lignages mitochondriaux, avec une prédominance des lignages Eurasiatiques suivie par les lignages Sub-Saharienne. L'apport moyen oriental montre une absence des haplogroupes mitochondriaux R0 et J1b spécifiques de la péninsule Arabe à Bejaia tandis qu'ils sont fréquents à Batna, Khanchela et Tebessa. Comparativement aux populations mondiales, L'analyse multidimensionnelle (MDS) montre un regroupement des populations étudiées aux populations Nord Africaines et leur rapprochement avec les moyens orientaux des et l'éloignements des populations subsahariennes.

Intégrée avec les résultats antérieurs, notre étude montre la complexité de l'histoire du peuplement de l'Algérie et confirme l'aspect en mosaïque des populations Nord Africaines.

Pièce jointe : Congrès génétique.docx

#20553 : Corrélation génotype phénotype dans le Syndrome de Li-Fraumeni: à propos de deux familles

Auteurs :

sana gabteni (1), rim meddeb (1), M Cherif (2), C Nasr (2), Mediha Trabelsi (1), ridha mrad (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital charles nicolle, tunis, Tunisie
2. Service de radiothérapie, institut Salah Azaiez, tunis, Tunisie

Mots clefs : syndrome de Li-Fraumeni, génotype, phénotype, mutation

Résumé :

Introduction

Le syndrome de Li-Fraumeni (SLF) est une affection rare de prédisposition à de multiples cancers. Il est caractérisé par un large spectre tumoral associant essentiellement : cancer du sein, ostéosarcome, sarcome des tissus mous, tumeurs cérébrales et carcinome corticosurrenalien.

Il s'agit d'une maladie autosomique dominante à haute pénétrance due à une mutation germinale du gène TP53 codant pour un suppresseur de tumeurs. Ce gène est impliqué dans 75% des familles répondant aux critères classiques du SLF.

Objectif :

Etablir une corrélation génotype phénotype dans le SLF à travers deux familles chez qui une mutation du gène TP53 a été détectée.

Patients et méthodes :

Les cas index (P1) et (P2) ont été adressés à la consultation d'oncogénétique pour suspicion de SLF. Une enquête génétique et une étude moléculaire du gène TP53 ont été réalisées.

Observations :

P1 est une patiente qui a développé, à l'âge de 27 ans, un cancer du sein bilatéral. Il s'agit d'un carcinome canalaire infiltrant de grade SBRII du coté gauche ainsi qu'un foyer carcinomateux intra canalaire du coté droit. L'enquête génétique retrouve la notion de cancers multiples dans la branche maternelle à savoir : un cancer du colon chez la mère, un cancer du sein chez 5 cousines maternelles, un cancer du cerveau chez 3 tantes maternelles et un oncle maternel, un sarcome chez un cousin maternel et une hémopathie chez un autre cousin. L'étude génétique a permis d'identifier une mutation délétère (c.742C>T) au niveau de l'exon 7 à l'état hétérozygote.

P2 nous a été adressée à l'âge de 39 ans. Elle a comme antécédent personnel un ostéosarcome du membre inférieur droit développé à l'âge de 14 ans pour lequel elle a été opérée. A l'âge de 35 ans, elle a eu un carcinome lobulaire du sein droit traité par une chimiothérapie néo-adjuvante, une mastectomie et une radiothérapie. Neuf mois après, elle a présenté un carcinome épidermoïde de l'œsophage bien différencié qui a été traité par oesophagectomie sub-totale.

Par ailleurs, l'enquête génétique a retrouvé des antécédents de cancer du sein au niveau de la branche paternelle chez une tante et un oncle découverts à 42 ans et 65 ans respectivement.

L'étude du gène TP53 a permis l'identification d'une mutation délétère (c.159G>A) au niveau de l'exon 4 à l'état hétérozygote.

Un conseil génétique a été délivré aux deux familles.

Conclusion :

Le syndrome de Li-Fraumeni est caractérisé par une très grande variabilité clinique intra et interfamiliale avec une corrélation génotype phénotype bien établie. La confirmation moléculaire de ce syndrome permet de dépister les familles à risque élevé, de donner un conseil génétique adéquat et de proposer des mesures de surveillance.

#19976 : La médecine genrée et l'épigénétique dans les programmes des études médicales : Etat des lieux

Auteurs :

Balkiss Abdelmoula (1), Nawel Abdellaoui (1), Fatma Abid (2), Mustapha Ben Aziza (1), Oldez kaabi (1), Kays Chaker (1), Takoua Sammouda (1), Wided Ltaif (3), Samir Aloulou (3), Akram Sbai (3), Rim Louati (1), Amir Karra (1), Nouha Abdelmoula Bouayed (4)

1. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Sfax, Tunisie
2. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Mahdia, Tunisie
3. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Gabes, Tunisie
4. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research , Sfax, Tunisie

Mots clefs : sexe, genre, épigénome, études médicales, médecine genrée

Résumé :

Intégrer le concept de genre dans la médecine aurait pour objectif ultime la lutte contre les inégalités et les discriminations qui touchent les hommes et les femmes dans tous les domaines de la santé depuis la santé reproductive et sexuelle à la santé mentale. Depuis des années, la médecine évolue pour intégrer la question du genre dans les pratiques et les thématiques de recherche mais aussi dans le parcours des études médicales. Dans ce travail, nous menons une étude bibliographique concernant l'état actuel de la mise en œuvre de la médecine du genre dans l'éducation médicale dans les universités afin de comparer les stratégies d'intégration et d'évaluer les retombées d'une telle stratégie. La méthodologie consistait à effectuer une revue webographique puis de mener une analyse de la documentation. Cette analyse a montré que la médecine du genre a été intégrée dans la majorité des universités occidentales en étant ancrée dans leurs programmes. C'est aussi le cas de notre faculté de Médecine de Sfax en Tunisie au niveau de la quelle deux unités d'enseignement optionnel dans le cadre de la réforme des études médicales de 2018 ont été mis en place pour les étudiants de médecine de première et deuxième années. Cependant, il existe de nombreuses lacunes dans les programmes existants ainsi que des failles dans les stratégies mises en œuvre pour incorporer le contenu adéquat de la médecine genrée. Ces stratégies apparaissent très différentes dans les différentes universités et plus ou moins durables. De plus, en dépit de preuves selon lesquelles le sexe et le genre sont des facteurs essentiels de la prestation et de la pratique de la médecine, il n'existe pas de normes et de critères uniformes pour un programme unifié. Le groupe de travail sur la santé des femmes et des hommes aux états unies d'Amérique fournit des efforts continus pour créer une nouvelle bibliothèque de ressources numériques contenant du matériel spécifique au sexe et au genre à adopter et à adapter à l'éducation médicale et à la pratique clinique (<http://www.sgwhc.org>). L'intégration des thèmes relatifs au sexe et au genre ne doit pas être considérée comme se substituant à d'autres contenus «essentiels»et devrait plutôt être considérée comme essentielle pour mieux préparer les futurs médecins à fournir des soins médicaux réellement sexo-spécifiques et personnalisés. De plus, de l'élaboration de normes et de critères uniformes, des évaluations standardisées doivent être mises en place pour vérifier de manière adéquate les connaissances et les compétences. L'objectif ultime de l'intégration systématique de la médecine genrée basée sur les nouvelles connaissances notamment les concepts de l'incorporation biologique du social et de l'épigénétique dans le programme des études médicales serait de permettre aux futurs médecins de disposer des connaissances et des compétences appropriées d'une médecine équitable et d'une médecine personnalisée.

#19907 : Caractérisation et quantification des troubles de la parole dans la maladie de Huntington : identification de marqueurs acoustiques**Auteurs :**

Sonia FRAISSE (1), Cécile FOUGERON (2), Cyril GOIZET (1), Danielle LAFOUCRIERE (1), Anne-Catherine BACHOUD-LEVI (3)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
2. Laboratoire de Phonétique et Phonologie, UMR 7018 CNRS/U, Sorbonne Nouvelle, Paris, France
3. Service de Neurologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

Mots clefs : Maladie de Huntington- Dysarthrie- Performance motrice- Description- Quantification- Marqueurs acoustiques

Résumé :

La maladie de Huntington (mdH) est une affection neurodégénérative du système nerveux central qui provoque, chez des sujets de 40 ans en moyenne, des troubles moteurs, cognitifs et psychiatriques et conduit au décès après une vingtaine d'années d'évolution des troubles. La prévalence de cette maladie génétique, de transmission autosomique dominante, est d'environ 5 cas pour 100 000 individus. En France, elle concerne 18 000 personnes : 6000 ont déjà des symptômes et 12 000 sont porteuses du gène muté mais encore asymptomatiques. Il n'existe pas de traitement préventif ni curatif de la maladie à ce jour. La prise en charge des patients repose sur des traitements symptomatiques rééducatifs (orthophonie, kinésithérapie), pharmacologiques et la mise en place d'un cadre médicosocial approprié.

Les troubles d'exécution motrice de la parole (troubles dysarthriques) sont présents dès le stade précoce de la maladie et s'aggravent progressivement, menant à terme à l'inintelligibilité du malade. Ces troubles pénalisent particulièrement l'autonomie du patient en détériorant ses capacités de communication ; ils constituent un handicap majeur avec retrait social, perte d'estime de soi et isolement, toujours vécus très douloureusement par les patients et leur entourage.

Cette dysarthrie a été très peu étudiée, ce qui rend sa prise en charge orthophonique non codifiée. Selon la classification de Darley (1975), la plus utilisée par les orthophonistes et les neurologues, les troubles de la parole observés dans la mdH sont englobés dans le groupe hétérogène des dysarthries hyperkinétiques, dont les contours et propriétés sont mal définis.

Ce projet vise à identifier et quantifier les dimensions de parole déviantes dans la dysarthrie associée à la mdH.

Actuellement, l'étude de la parole dans les maladies neurodégénératives ne repose plus uniquement sur des évaluations perceptives et les avancées en phonétique clinique ont permis de cibler les analyses acoustiques sur des critères objectifs et pertinents pour la pathologie, en fonction des langues étudiées.

Nous utiliserons, en complément d'un bilan perceptif, un protocole d'évaluation informatisé de la parole développé pour la langue française (MonPaGe, Fougeron et al, 2016) ; ce dernier permettra, à partir des productions enregistrées de 150 malades aux stades présymptomatique et déclaré de la maladie, une description quantitative et qualitative des troubles dysarthriques basée sur des jugements perceptifs ciblés et des mesures acoustiques semi-automatisées. A l'issue du projet, nous serons en mesure de caractériser et de quantifier précisément et objectivement les critères de parole déviants et de proposer un set de marqueurs acoustiques destinés au suivi de l'évolution de la maladie ; ces marqueurs pourront être utilisés pour le diagnostic précoce et pour l'évaluation de traitements lors de futurs essais cliniques.

Pièce jointe : Abstract Assises.docx

#19806 : Séquençage NGS ciblé, retour d'expérience sur l'utilisation d'un panel de 53 gènes.

Auteurs :

Alexandra LESPAGNOL (1), Florent DENOUEAL (1), Amyra ALIOUAT (1), Florence BURTIN (2), Sebastien HENNO (2), Nathalie RIOUX LECLERCQ (2), Marie de TAYRAC (1, 3), Marie-Dominique GALIBERT (1, 3)

1. Service de Génétique Moléculaire et Genomique Médicale, CHU Rennes, Rennes, France
2. Service d'Anatomie et cytologie pathologiques, CHU Rennes, Rennes, France
3. , Université de Rennes, CNRS UMR 6290 Institut de Génétique et Développement de Rennes, Rennes, France

Mots clefs : theranostique, ngs, somatique, tumeurs, ffpe

Résumé :

Les inhibiteurs de PARP sont une nouvelle classe de molécules prometteuse en oncologie. Le bénéfice dans le traitement des cancers de l'ovaire chez les patientes porteuses de mutations BRCA1 et BRCA2 est avéré. Aujourd'hui, ces molécules ouvrent de réelles perspectives à long terme, pour le traitement des cancers du sein, de la prostate et du pancréas. Afin de répondre à cet enjeu thérapeutique, la mise en œuvre d'un workflow fiable et automatisé est indispensable pour assurer cette nouvelle activité pour les laboratoires de génétique.

Pour cette mise en place, nous avons évalué le panel « Solid Tumor Advanta » développé par Fluidigm. Après extraction de l'ADN des blocs inclus en FFPE, une stratégie d'enrichissement par amplification multiplexe est réalisée en répliat sur les échantillons en utilisant la plateforme Juno (Fluidigm). Le séquençage est réalisé sur NextSeq (Illumina) sur flowcells MidOutput en paired-end 150 pb. L'analyse bio-informatique est automatisée et packagée dans le logiciel « Sardine » développé par le laboratoire. L'intégration de bases de connaissances permet la hiérarchisation des variants. Les résultats sont visualisés sur une interface d'aide à la validation.

Au total, 205 analyses sur 160 tumeurs de l'ovaire différentes ont été séquencées pour 53 gènes incluant les gènes *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C*, *RAD51D*, *PTEN*, *TP53*...et les régions des gènes *EGFR*, *BRAF*, *KRAS*, *NRAS*, *PIK3CA*.... 11 séries ont été séquencées contenant chacune jusqu'à 22 échantillons et deux ADN contrôles permettant de tester et de valider la production ainsi que l'analyse informatique. La profondeur de séquençage des régions codantes des gènes *BRCA1*, *BRCA2*, *RAD51C*, *RAD51D* et *PALB2* est supérieure à 200X. Une altération délétère sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2* a été mise en évidence pour 14% des tumeurs, ce qui est cohérent avec les données de la littérature. L'analyse des données de séquençage a permis de mettre en évidence des altérations activatrices ou délétères sur 14 autres gènes *AKT1*, *CDKN2A*, *JAK3*, *KRAS*, *NF1*, *NRAS*, *PIK3CA*, *PTEN*, *RAD51D*, *RB1*, *RICTOR*, *STK11*, *TP53* et *VHL*. Enfin, l'analyse n'a pas été contributive pour 15% des échantillons (quantité d'ADN 2% ; pourcentage de cellules tumorales 4% ; qualité du prélèvement 9%).

Nous avons mis en place une méthode de production et d'analyse sur de l'ADN FFPE dégradé dont l'implémentation permet un rendu avec un délai moyen d'une semaine. L'automatisation du procédé (production des bibliothèques, analyse des données de séquençage et hiérarchisation des variants) réduit le temps humain et sécurise le diagnostic. Cette analyse s'inscrit dans une prise en charge globale en oncologie et oncogénétique pour la prise en charge individuelle et familiale.

Pièce jointe : Lespagnol Alexandra ngs.docx

#20167 : Déficience intellectuelle liée au gène CUL4B et Système Ubiquitine-Protéasome.

Auteurs :

Wallid Deb (1, 2), Thomas Besnard (1, 2), Frédéric Ebstein (3), Mathilde Lefebvre (4, 5), Benjamin Cogne (1, 2), Sophie Nambot (6, 7), Maja Hempel (8), Davor Lessel (8), Dong Li (9), Laura Fuqua (10), Virginie Vignard (2), Martin Dominique (11), Consortium CUL4B (1), Christel Thauvin-Robinet (12, 7), Laurence Faivre (12, 7), Marie Vincent (1), Bertrand Isidor (1), Stéphane Béziau (1, 2), Sébastien Küry (2)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de Génétique Médicale,, L'institut du thorax, CHU Nantes, Nantes, France
3. Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie,, University of Greifswald, Greifswald, Allemagne
4. Génétique des Anomalies du Développement,, Inserm UMR 1231 GAD, , Dijon, France
5. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre de Génétique,, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
6. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, , INSERM UMR1231, Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
7. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Est,, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
8. Institute of Human Genetics, , University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Allemagne
9. Center for Applied Genomics, , The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
10. , Lineagen, Salt Lake City,, Etats-Unis
11. Unité de Génétique, CHU Le Mans, Le Mans, France
12. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, , INSERM UMR1231, Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France

Mots clefs : Déficience Intellectuelle liée à l'X, Système Ubiquitine-Proteasome, CUL4B, Neurodéveloppement

Résumé :

Introduction. Le syndrome de Cabezas (MIM #300354) lié aux variants pathogènes dans *CUL4B* associe une déficience intellectuelle avec un retard de langage important, une petite taille, un hypogonadisme, des traits morphologiques particuliers, et des signes neurologiques tels que des tremblements, des troubles de l'équilibre ou une épilepsie. Une grande variabilité phénotypique est constatée dans ce syndrome, confirmée par la description de nouveaux cas. *CUL4B* code pour une protéine d'échafaudage permettant une activité Ubiquitine-ligase E3 au sein du système Ubiquitine-Protéasome (UPS). Notre but était de décrire les caractéristiques cliniques de 22 nouveaux patients affectés par le syndrome de Cabezas, ainsi que d'étudier leurs profils de fonction protéasomale.

Matériel et Méthodes. Nous avons recueilli 22 patients issus de 21 familles, porteurs de variants pathogènes hémizygotes dans *CUL4B*. L'identification de variants *CUL4B* a principalement été réalisée par séquençage d'exome, en l'absence de signes initiaux spécifiques permettant d'orienter le diagnostic. L'étude des lymphocytes T de patients obtenus à partir de prélèvements sanguins a permis l'évaluation du profil d'activité protéasomale pouvant être affectés par la dysfonction de cette ubiquitine ligase.

Résultats. Nous avons retrouvé une majorité de variants hérités d'une mère saine ainsi que 3 occurrences *de novo*. Les patients présentent tous une déficience intellectuelle de sévérité variable, marquée par un retard de langage sévère ainsi qu'un retard à la marche. Des anomalies à l'imagerie cérébrale ont été retrouvées chez 12/22 patients, dont 5 montrent des anomalies de signal de la substance blanche. Nous avons observé plus fréquemment que dans les autres séries des troubles du spectre autistique (7/22). Les autres signes habituellement décrits (tremblement, ataxie etc.) ont été également retrouvés. L'activité protéasomale est plus élevée chez les patients que chez les contrôles pour les familles testées.

Discussion. Bien que le gène *CUL4B* ait été impliqué dans le syndrome de Cabezas en 2007, il persiste des difficultés diagnostiques devant la grande variabilité d'expression et la présentation qui peut s'avérer peu spécifique. La description de séries de patients de plus grande envergure peut ainsi permettre un élargissement du spectre phénotypique. Enfin, la description de processus cellulaires anormaux, comme la fonction protéasomale dans cette étude, pourrait permettre d'expliquer une partie de cette variabilité, étant donné l'hétérogénéité familiale et individuelle des machineries cellulaires.

#20318 : S100A16, un nouveau gène impliqué dans la Fibrose Pulmonaire Idiopathique de l'adulte ?

Auteurs :

Ibrahima Ba (1, 2), Madeleine Jaillet (2), Aurélie Cazes (3, 2), Emmanuelle Ollivier (4), Raphael Borie (5, 2), Catherine Boileau (1), Martine Raynaud-Gaubert (6), Bruno Crestani (5, 2), Caroline Kannengiesser (1, 2)

1. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Bichat - APHP, PARIS, France
2. UMR 1152 Physiopathologie et Epidémiologie des Maladies Respiratoires, Faculté de médecine Bichat, PARIS, France
3. Service d'anatomo-pathologie, Hôpital Bichat - APHP, PARIS, France
4. Bioinformatique, Institut Imagine, PARIS, France
5. Service de Pneumologie A, Hôpital Bichat - APHP, PARIS, France
6. Service de Pneumologie, APHM, Marseille, France

Mots clefs : pneumologie ; fibrose pulmonaire idiopathique ; WES

Résumé :

Les fibroses pulmonaires (FP) sont des maladies sévères de cause variable, souvent inconnue, caractérisées par la destruction de l'architecture pulmonaire. Dans 20% des cas, les fibroses ont un caractère familial suggérant une cause génétique suivant un modèle de transmission autosomique dominant à pénétrance incomplète et expressivité variable. Les gènes des fibroses pulmonaires familiales de l'adulte sont associés le plus souvent à la maintenance des télomères, et plus rarement au métabolisme du surfactant ou à la voie de l'IFN-I. Actuellement, environ 70% des fibroses familiales demeurent inexplicables sur le plan génétique et d'autres voies majeures sont certainement impliquées.

Par une approche de séquençage d'exome, nous avons retenu dans une famille consanguine de fibrose pulmonaire d'origine Maltaise non expliquée par une anomalie de la maintenance des télomères, le gène *S100A16* comme nouveau candidat. Le cas index ainsi que sa sœur présentent une fibrose pulmonaire idiopathique isolée de type fibroélastose pleuro-parenchymateuse de survenue relativement précoce sans diminution significative de la taille des télomères. Les critères de sélection du variant génétique ont été les suivants :

- Homozygotie du variant selon l'hypothèse de transmission autosomique récessive du fait de la consanguinité de cette famille
- Fréquence très rare du variant (< 0.001) dans les bases de données publiques (gnomAD) et dans notre base d'analyse (Polyweb d'Imagine)
- Caractère pathogène du variant identifié : mutation non-sens conduisant à un codon stop prématuré dès le 2ème codon d'initiation
- Ségrégation familiale du variant concordant avec le phénotype des individus (2:2)

La présence du variant pathogène a été confirmé par séquençage Sanger sur sang total ainsi que sur fibroblastes. Le gène identifié code une protéine appartenant à la grande famille des protéines S100A récemment impliquées dans les fibroses pulmonaires (Al-Mutairy EA et al., 2019) dont l'un des membre, S100A13, possède une activité anti-fibrosante en régulant la sécrétion de FGF1 (Shimbori A et al., 2016). Les analyses de Western-Blot et d'Immuno-Histo-Chimie ont révélé une perte totale de l'expression protéique de S100A16 dans les cellules épithéliales et endothéliales pulmonaires sans modification du taux d'ARNm en comparaison des témoins. Les données de l'étude en single-cell d'une database publique montre une expression différente de la protéine dans les poumons fibrotiques comparativement aux poumons sains.

Des tests fonctionnels sur modèle murin nous permettrons d'élucider les mécanismes physiopathologiques à l'origine de la fibrose chez les patients mutés S100A16 et d'approfondir les processus physiologiques dépendants de S100A16. L'identification de nouvelles voies impliquées dans la fibrose pulmonaire pourrait permettre de définir de nouvelles cibles thérapeutiques afin de proposer une médecine personnalisée aux patients malades.

#20202 : Disomie uniparentale du chromosome 11 révélée par Séquençage Haut Débit d'un panel de gènes.

Auteurs :

Cécile Saint-Martin (1), Sophie Jacqueminet (2), Christelle Vauray (1), Isabelle Marey (1), Boris Keren (1), Christine Bellanné-Chantelot (1)

1. Département de Génétique, AP-HP Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Sorbonne Université, Paris, France
2. Département de Diabétologie, AP-HP Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Sorbonne Université, Paris, France

Mots clefs : Disomie uniparentale, Séquençage Haut Débit, NGS

Résumé :

Contexte : Ces dernières années ont été le témoin d'une révolution dans les technologies de séquençage, abandonnant progressivement les approches séquentielles gène par gène au profit de l'analyse simultanée d'un nombre multiple de gènes. Outre le bénéfice primaire de cette approche qui augmente naturellement le taux diagnostique, les données acquises sur les variants fréquents (SNP) et notamment sur leurs fractions alléliques (VAF) permettent parfois de déceler des altérations moléculaires singulières non diagnostiquées par séquençage Sanger. En effet cette méthode historique n'étudiait qu'une séquence ciblée qui ne pouvait comporter que très peu de SNP et par ailleurs elle ne pouvait renseigner sur l'aspect quantitatif de ces génotypes.

Objectifs : Tirer profit de l'importante source de données disponibles via le séquençage en parallèle de sept gènes afin de détecter des événements moléculaires indétectables par simple séquençage Sanger.

Méthodes : Une patiente présentant une alternance d'hypo- et d'hyperglycémies a été analysée par séquençage en parallèle d'un panel d'amplicons impliqués dans le diabète monogénique et l'hyperinsulinisme congénital. Le diabète avait été diagnostiqué à 22 mois, la patiente était insulino-dépendante et aucune histoire familiale de diabète n'était rapportée. La patiente présentait également des signes neuropsychiatriques et une épilepsie.

Résultats : Parmi les 7 gènes inclus dans le panel, 3 sont localisés sur le chromosome 11p15 : *ABCC8*, *KCNJ11* et *INS*. Étonnamment pour cette patiente, tous les SNPs hétérozygotes de ces gènes (n=5) présentaient un ratio allélique déséquilibré d'environ 30/70%. Ce déséquilibre a été confirmé par séquençage Sanger, excluant ainsi un biais lié au séquençage haut débit. Une analyse MLPA a permis d'exclure une variation du nombre de copies d'*ABCC8*. Nous avons par la suite réalisé une analyse de SNP (puce avec une résolution de 100 kb) sur cette patiente et sa mère. Cette étude a permis de mettre en évidence une disomie uniparentale (DUP) segmentaire de 30 Mb en mosaïque sur le chromosome 11 (arr[hg19] 11p15.5p14.1(198,510-30,435,585)x2 htz~hmz), probablement d'origine paternelle. Grâce à cette analyse de SNP, une large délétion a également été identifiée (arr[hg19] 15q13.2q13.3(30,611,102-32,833,659)x1), comprenant le gène *CHRNA7* et donc responsable du phénotype épileptique hérité.

Conclusions : Malgré l'absence d'étiologie pour le diabète de cette patiente, il est intéressant de noter qu'elle présente une DUP dans une région proche d'un locus soumis à empreinte. Un variant pathogène pourrait être présent dans une région intronique ou régulatrice sur le chromosome paternel. Ce cas souligne les bénéfices de l'analyse simultanée de nombreux gènes et l'importance d'être attentifs dans l'analyse des données NGS aux fractions alléliques des variants fréquents.

#20125 : Interprétation des données du séquençage à haut débit : Quelles difficultés ?

Auteurs :

Ahlem Achour (1), Houweyda Jilani (2), Imen Rejeb (3), Molka Sebai (3), Syrine Hizem (3), Yasmina Elaribi (3), Tamara Koopman (4), Claudia Ruivenkamp (4), Frank Baas (4), Lamia Ben Jemaa (3)

1. Maladies Congénitales et Héréditaires , Hôpital Mongi Slim , La Marsa, Tunis, Tunisie
2. Maladies congénitales et héréditaires , CHU Mongi Slim La Marsa, Tunis, Tunisie
3. Maladies Congénitales et Héréditaires , Hôpital Mongi Slim , La Marsa, La Marsa, Tunisie
4. Laboratoire de diagnostic génomique (LDGA), Leiden university medical center (LUMC), Leiden, Pays-Bas

Mots clefs : Séquençage à haut débit, Déficience intellectuelle

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) représente un motif de consultation fréquent en génétique clinique. Sa prévalence est de l'ordre de 1% à 3%. Elle est très hétérogène sur le plan phénotypique et génétique. Plus de 3000 gènes ont été impliqués. Ainsi, leur diagnostic étiologique par les méthodes de séquençage de routine est difficile et coûteux.

L'avènement des méthodes de séquençage à haut débit (NGS) a été d'un grand apport dans le diagnostic des maladies génétiques hétérogènes, telle que la DI. En revanche, l'interprétation des données représente un challenge quotien vu la quantité de datas générées.

Le but de ce travail est de souligner les difficultés de l'interprétation des variants identifiés par NGS à travers l'observation d'un patient tunisien qui présente une DI syndromique et chez qui une étude par panel de gènes a été réalisée.

Il s'agit d'un garçon âgé de 8 ans adressé à notre consultation pour DI et microcéphalie congénitale. Son développement psychomoteur était retardé. L'examen physique a montré une microcéphalie (PC = -2,4 DS), une marche ataxique et une dysmorphie faciale (fentes palpébrales en bas et en dehors, ectropion, grandes oreilles décollées, philtrum marqué, lèvre supérieure fine). L'examen ophtalmologique a objectivé une apraxie oculomotrice.

L'imagerie cérébrale et le caryotype sanguin étaient normaux. L'étude par panel de gènes (3000 gènes rapportées dans la DI) a identifié quatre candidats : (KCNT1): c.2962A>G HTZ, (MED13L):c.1211A>G HTZ, (SMARCA4): c.3619 G>A HTZ et (KAT6A):c.3994C>A HTZ. La mutation c.2962A>G du gène KCNT1 (p.Met988Val) était retrouvée dans la base de données des populations (gnomAD) avec une fréquence de 0.0004. L'acide aminé était modérément conservé. L'effet de cette mutation était délétère dans 2/5 programmes de prédiction (PhyloP, MutationTaster, SIFT, Polyphen2, AlignGVGD). Le variant c.1211A>G du gène MED13L (p.Glu 404Gly) n'était pas retrouvé dans les bases de données des populations. L'acide aminé était hautement conservé. Cette mutation était délétère dans 2/5 programmes de prédiction. Le variant c.3619 G>A du gène SMARCA4 (p.Val1207Ile) était retrouvé dans la base de données des populations (gnomAD) avec une fréquence de 0.00039. L'acide aminé était hautement conservé. Cette mutation était délétère dans 2/5 programmes de prédiction. Le variant c.3994C>A du gène KAT6A (p.Leu1332Ile) n'était pas retrouvé dans les bases de données des populations. L'acide aminé était faiblement conservé. Cette mutation n'était délétère dans aucun programme de prédiction.

Ces données associées aux données bibliographiques ne suffisent pas pour retenir l'un de ces candidats. Ces derniers ont été classés comme variants de signification inconnue. Seule l'étude fonctionnelle permettrait de conclure quant à la pathogénicité de ces mutations. Ceci souligne la difficulté de l'interprétation des données de NGS dans les maladies génétiques en particulier la DI.

#20556 : Etude d'un nouveau gène prédisposant aux cancers du rein familiaux impliqué dans l'autophagie

Auteurs :

Florine Adolphe (1), Sophie Ferlicot (2), Virginie Verkarre (3), Flore Renaud (1), Sophie Couvé (1), Pauline Garnier (1), Betty Gardie (4), Stéphane Richard (5), Sophie Gad (1)

1. EPHE et INSERM U1186, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France
4. EPHE et UMR Inserm U892 / CNRS 6299, Institut de Recherche Thérapeutique, CRCNA, Nantes, France
5. EPHE et INSERM U1186, et Réseau National pour Cancers Rares de l'adulte PREDIR, AP-HP/INCa, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Mots clefs : cancer du rein familial, NGS, mutation, autophagie

Résumé :

Avec 15.300 nouveaux cas diagnostiqués et 5.500 décès chaque année, le cancer du rein à cellules rénales (CCR) est le sixième cancer le plus fréquent chez l'adulte en France. Environ 30% des patients présentent des métastases au diagnostic. Les types histologiques majoritaires sont les carcinomes rénaux à cellules claires (75%), les carcinomes papillaires de type 1 et 2 (10-15%) et les carcinomes chromophobes (5%). Plusieurs facteurs de risques prédisposent aux CCR : tabac, obésité, certaines expositions professionnelles, hypertension artérielle et prédisposition génétique. Les prédispositions sont estimées à 6-8% de l'ensemble des CCR mais leur étude est d'un intérêt capital tant au plan clinique que fondamental.

Les formes familiales des cancers rénaux se transmettent selon le mode autosomique dominant. Il existe une douzaine de gènes de prédisposition au CCR 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.

Nous nous sommes intéressés à une famille atypique, comprenant 3 cas atteints de tumeurs du rein de types histologiques différents : un carcinome à cellules claires de type papillaire, un carcinome papillaire de type oncocytaire et un angiomyolipome. Cette famille ne présentant pas de mutation germinale dans les gènes de prédisposition connus au CCR, nous avons recherché le gène en cause par un séquençage de l'exome. Nous avons identifié une mutation de type décalage du cadre de lecture (entraînant un stop prématuré) dans le gène *NBR1* (*Neighbor of BRCA1 Gene 1*). Il s'agit d'un récepteur cargo 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. La dérégulation de l'autophagie est impliquée dans de multiples maladies, et particulièrement dans les CCR avec l'activation des voies HIF et mTOR, régulateurs majeurs de l'autophagie.

Nous avons initié l'étude de l'activité de *NBR1* sauvage et mutée sur la prolifération cellulaire dans des lignées rénales. Nos résultats suggèrent que la protéine mutée induit une augmentation de la prolifération dans certaines lignées par rapport à la protéine sauvage. Notre hypothèse serait que la protéine *NBR1* mutée, qui est tronquée, agirait comme un dominant-négatif.

Nous espérons confirmer l'identification de *NBR1* comme nouveau gène de prédisposition au CCR. Notre étude permettra aussi de caractériser les liens entre cancer du rein familial et autophagie.

Pièce jointe : AdolpheF Abstract Assises Tours 2019 soumis.pdf

#20412 : Nouvelle mutation du gène Col4A3 chez une patiente atteinte d'un syndrome d'Alport

Auteurs :

Mariem El Younsi (1), Rahma Mkaouar (2), Sana Skouri (3), Hana Fredj (4), Héra Sassi (5), Tahar Gargah (6), Faouzi Maazoul (7), Médiha Trabelsi (8), ridha M'rad (9, 1)

1. Laboratoire de génétique Humaine. LR99ES10, Faculté de médecine de Tunis. Université Tunis El Manar ,1007,Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique LR11IPT05, Institut Pasteur de Tunis., Tunis, Tunisie
3. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle Tunis. , Tunis, Tunisie
4. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
5. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle Tunis., Tunis, Tunisie
6. Service de néphropédiatrie, Hôpital Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
7. Service des maladies congénitales et héréditaires., Hôpital Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
8. Service des maladies congénitales et héréditaires. , Hôpital Charles Nicolle Tunis. , Tunis, Tunisie
9. Service des maladies congénitales et héréditaires., EPS Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie

Mots clefs : syndrome d'Alport, Insuffisance rénale, NGS, Col4A3,

Résumé :

Le syndrome d'Alport, est une maladie héréditaire, hétérogène aussi bien sur le plan clinique que génétique. Elle est définie par l'association d'une néphropathie glomérulaire avec une hématurie évoluant vers l'insuffisance rénale terminale (IRT), d'une atteinte oculaire et d'une surdité de perception. La prévalence est estimée à 1/50 000. Plus de 80% des cas sont dus à des mutations du gène COL4A5, localisé en Xq22. Dans 15% des cas il s'agit d'une forme autosomique récessive par mutation des s gènes COL4A3 et COL4A4. Le diagnostic de la maladie repose sur l'histoire familiale, les symptômes cliniques et les résultats de la biopsie rénale en microscopie électronique. L'étude de la fixation d'anticorps dirigés contre les chaînes alpha 3, alpha 4 et alpha 5 du collagène IV au niveau du rein et de la peau permettent également de porter le diagnostic. Le séquençage NGS représente une technique précise pour le diagnostic moléculaire de maladies hétérogènes et dont les gènes comportent plus d'une cinquantaine d'exon par gène comme c'est le cas des gènes Col4A3, 4,5.

Nous rapportons dans ce travail le résultat d'une étude NGS réalisée chez une patiente atteinte d'un syndrome d'Alport.

Cette analyse nous a permis de confirmer le diagnostic en mettant en évidence une nouvelle mutation à l'état homozygote au niveau de l'exon 48 du gène Col4A3.

Nous discutons dans ce travail le phénotype clinique retrouvé chez notre patiente, la pertinence du séquençage de nouvelle génération dans l'approche diagnostique du syndrome et son apport dans le dépistage de la maladie en cascade ainsi que le conseil génétique à donner.

#20349 : Syndrome de Marfan ou Ectopie bilatérale des cristallins isolée ? Apport de l'analyse d'un panel « Marfan et apparentés » de 34 gènes.

Auteurs :

Guillaume Rolland (1), Aurélie Plancke (1), Bertrand Chesneau (1, 2), Patrick COLLIGNON (3), Philippe KHAU VAN KIEN (1)

1. Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
2. Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
3. Génétique Médicale, CHI Toulon La Seyne-sur-Mer, Toulon, France

Mots clefs : Marfan, Ectopie cristalinienne, ADAMTSL4

Résumé :

Nous rapportons le cas d'un patient sans antécédent familial notable présentant une ectopie bilatérale des cristallins, un *habitus marfanoïde* avec un score systémique limite de 6/20 (Loeys et al, 2010): taille de 187cm pour une envergure de 200cm, une thorax plat sans scoliose, un signe du poignet sans signe du pouce, des pieds plats sans valgus calcanéen, un faciès suggestif de syndrome de Marfan (dolichocéphalie, énophtalmie, fentes palpébrales en bas et en dehors, palais haut et arché), une spondylolyse de L5 sans spondylolisthesis et une possible ectasie durale (largeur du sac dural en S1 > à L4 sur l'IRM), une hyperlaxité discrète ; l'échocardiographie étant normale (pas de dilatation de la racine aortique, ni d'anomalie des valves cardiaques).

L'analyse en NGS d'un premier panel de 15 gènes (dont *FBN1*) impliqués dans le syndrome de Marfan et les syndromes apparentés était négative. L'application d'un panel élargi à 35 gènes a permis d'identifier la mutation récurrente NM_001288608.1(*ADAMTSL4*):c.767_786del (ou p.Gln256Profs*38) à l'état homozygote. Cette découverte permet le diagnostic différentiel d'un syndrome de Marfan en faveur d'une ectopie cristalinienne autosomique récessive en rapport avec le gène *ADAMTSL4* [MIM#225100], dont le pronostic (notamment aortique) et le conseil génétique sont totalement différents.

Pièce jointe : ADAMTSL4.docx

#19991 : Délétion interstitielle 13q et rétinoblastome héréditaire : à propos d'un cas marocain et revue de littérature**Auteurs :**

Fatima Zahra OUTTALEB (1), Ghizlane JABRANE (1), Nadia SERBATI (1), Hind DEHBI (2)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Génétique Médicale, Laboratoire de Pathologie cellulaire et Moléculaire. , CHU Ibn Rochd de Casablanca, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Université Hassan II, Casablanca, Maroc

Mots clefs : rétinoblastome, délétion interstitielle 13q, conseil génétique.

Résumé :**Introduction :**

Le rétinoblastome est la tumeur maligne oculaire la plus fréquente chez l'enfant. Son incidence est de 1/15 000 à 1/20 000 naissances, avec un sex-ratio de 1,5/1. Le rétinoblastome, dans sa forme héréditaire, est un syndrome de prédisposition génétique au cancer. Le gène RB1, gène suppresseur de tumeur, se localise en 13q1.4.

L'objectif de cette étude est de rappeler l'intérêt de l'étude cytogénétique, de l'enquête familiale et du conseil génétique dans la prise en charge des patients atteints de rétinoblastome.

Patient et méthodes :

Nous rapportons l'observation médicale d'une patiente suivie au CHU Ibn Rochd de Casablanca depuis 2015, pour un rétinoblastome bilatéral, associé à un syndrome de délétion 13q.

Résultats et discussion:

C'est une patiente âgée de 5 ans et demi, suivie au service de génétique médicale pour un retard du développement psychomoteur, associé à une dysmorphie faciale. L'étude cytogénétique a objectivé la présence d'une délétion interstitielle du bras long du chromosome 13 : 46,XX,del(13)(q14q24). Un conseil génétique, avec étude du caryotype des parents sont prévus, notamment à la recherche d'une insertion équilibrée (insertion et délétion 13q14).

Par ailleurs, la patiente est suivie depuis l'âge de 9 mois au niveau du service d'ophtalmologie pédiatrique pour un rétinoblastome bilatéral, en rémission depuis trois ans, après une énucléation de l'œil gauche et un traitement conservateur de l'œil droit.

Le rétinoblastome est un modèle de développement tumoral par défaut d'anti-oncogène. Un sujet porteur d'une mutation constitutionnelle du gène RB1 présente un risque supérieur à 90 % de développer un rétinoblastome, et présente par ailleurs une prédisposition génétique à des tumeurs secondaires, d'où l'intérêt d'une surveillance régulière des patients au long cours.

Cette observation médicale montre l'intérêt de réaliser une étude cytogénétique en cas de diagnostic de rétinoblastome, notamment en cas de rétinoblastome bilatéral, ou associé à un retard mental ou un syndrome dysmorphique. Une surveillance du développement psychomoteur très étroite doit compléter le suivi ophtalmologique de ces patients, avec surveillance de l'apparition de tumeurs secondaires, et un conseil génétique systématique de ces familles.

Pièce jointe : 1 A RETINOBLASTOME.docx

#20562 : Du panel de gène à l'exome, evaluation de méthodes et validation diagnostique d'un laboratoire de génétique moléculaire.

Auteurs :

Henri Pégeot (1), Kevin Yaou (1), David Baux (1), Charles VAN GOETHEM (1), Raul JUNTAS MORALES (1), Corine THEZE (1), GUIGNARD Thomas (1), Olivier ARDOUIN (1), Boris KEREN (2), Mireille CLAUSTRÉS (1), Michel KOENIG (1), Mireille Cossée (1)

1. Institut Universitaire de Recherche Clinique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. UF de génomique du développement, CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France

Mots clefs : exomes, panel de gènes, NGS, maladies rares

Résumé :

Introduction - Depuis 2010, les laboratoires de génétique moléculaire ont progressivement adopté le séquençage nouvelle génération. Le séquençage de panel de gènes à façon a été en majorité choisi en raison de ses excellentes performances en termes de sensibilité analytique, de couverture et de coût. Récemment, plusieurs kits de capture d'exome ont été commercialisés et présentés avec des métriques analogues à celle des panels de gènes. Sommes-nous prêts à arrêter le séquençage en panel de gène et à passer à l'exome en diagnostic clinique ? Dans cette étude, nous avons évalué les performances de trois de ces kits de capture d'exome séquencés en 2x150 cycles : i) Roche MedExome ii) Agilent - SureSelect V7 (SSV7) ; iii) Agilent - Clinical Research Exome V2 (CREV2). D'autre part, le kit de Twist Bioscience - Human Core Exome (HCE) séquencé en 2x75 cycles a été inclus dans ce comparatif.

Méthodes - Une comparaison détaillée des données de séquençage normalisée a été réalisée sur des métriques de séquençage telles que la couverture des régions ciblées, les taux de duplicats PCR, l'uniformité de couverture ou encore le taux de GC. La capacité de ces kits à couvrir aux seuils de 15X, 30X, 50X et 100X pour un séquençage à 20, 40, 60, 80 millions de reads (M) a été évalué sur des panels de gènes neuromusculaire et neurosensoriel de notre laboratoire, sur près de 5000 gènes OMIM ainsi que sur les variants décrits pathogénique dans ClinVar.

Résultats - Pour un séquençage en 2x150 cycles, les kits MedExome et SSV7 permettent de couvrir à 30X plus de 99 % des régions OMIM, ClinVar et des panels de gènes testées à partir de 80 M alors que le CREV2 présentent des performances moindres. À effort de séquençage égal, le SSV7 présente la meilleure couverture sur son design et les performances légèrement inférieure du MedExome peuvent s'expliquer par un taux de duplicats PCR plus élevé.

Pour un séquençage en 2x75 cycles, soit deux fois moins de données de séquençage qu'en 2x150 cycles, le kit HCE permet d'atteindre une couverture de plus de 98 % à une profondeur de 30X à partir de 80 M sur les régions OMIM, ClinVar et des panels de gènes testées. De plus, ce kit de capture d'exome présente les meilleures performances en termes de duplicats PCR et de capture pour les régions riches et appauvries en GC.

Conclusion - À une profondeur de 30X, nous démontrons que les performances des kits d'exomes Twist Bioscience HCE, Roche MedExome et Agilent SSV7 conviennent à une utilisation en routine pour un laboratoire de génétique moléculaire. La technologie Twist Biosciences permet d'atteindre d'excellentes performances pour un effort de séquençage réduit. En raison de la plus grande taille de son design qui couvre notamment plus de régions non codantes, le kit CREV2 est moins adapté à un usage clinique de routine mais peut convenir pour des projets d'identification de nouvelles étiologies moléculaires pour une maladie au sein de régions non codantes.

Pièce jointe : H-Pegeot.docx

#20345 : Analyse d'exomes de 115 familles présentant une dégénérescence spinocérébelleuse.**Auteurs :**

Claire-Sophie Davoine (1, 2), Mélanie Papin (1, 2), Léna Guillot-Noël (1, 2), Giulia Coarelli (1), Ganapathivarma Saripella (3), Marie Coutelier (1, 2), Livia Parodi (1), Marie Biet (1), Elodie Petit (1), David Tregouet (3), Alexis Brice (1), Alexandra Durr (1), Giovanni Stevanin (1, 2)

1. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM), CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Ecole Pratique des Hautes Etudes (EPHE), Université de recherche PSL, Paris, France
3. Institut de Cardiométabolisme et de Nutrition (ICAN), CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : paraplégie spastique, ataxie cérébelleuse, exomes

Résumé :

Les dégénérescences spinocérébelleuses incluent les paraplégies spastiques héréditaires (HSP) et les ataxies cérébelleuses héréditaires. Ce sont des maladies neurodégénératives rares cliniquement hétérogènes présentant des signes cliniques chevauchant. Génétiquement, plus de 200 gènes peuvent être mutés. Malgré le grand nombre de gènes identifiés, environ 50% des patients ne présentent pas de mutation causale identifiée.

Afin d'identifier la mutation en cause et éventuellement de nouveaux gènes responsables de ces pathologies, nous avons séquencé les exomes de 233 patients issus de 115 familles de la cohorte SPATAX (78 patients atteints de HSP, soit 34 familles et 155 patients atteints d'ataxie cérébelleuse, soit 81 familles). Pour toutes ces familles, les principaux gènes connus avaient auparavant été exclus.

À l'heure actuelle, nous avons identifié de nouvelles mutations causales dans des gènes connus pour 42 familles, notamment ATM dans les ataxies récessives, ITPR1 dans les ataxies dominantes et HSPD1 et PNPLA6 dans HSP (qui n'avaient pas été testés avant l'étude dans ces familles). Dans 38 autres familles, 1 à 5 gènes candidats potentiels sont actuellement étudiés. Le taux de diagnostic potentiel est alors de 59% des familles maximum si tous les nouveaux gènes candidats sont pris en compte.

#20153 : Chevauchement clinique et physiopathologique entre les maladies de la réparation par excision de nucléotides et retard mental lié à DYRK1A**Auteurs :**

Imène BOUJELBENE (1, 2), Jérémie COURRAUD (2), Cathy OBRINGER (3), Christine FRANCANNET (4), Daphné LEHALLE (5), Shehla MOHAMMED (6), Clothilde ORMIERES (7), Marie VINCENT (8), Marjolaine WILLEMS (9), Vincent LAUGEL (10, 3), Amélie PITON (2, 1), Nadège CALMELS (11, 3)

1. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Unité de génétique moléculaire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Génétique et physiopathologie de maladies neurodéveloppementales et épileptogènes, IGBMC, Illkirch-Graffenstaden, France
3. Laboratoire de Génétique Médicale, U1112, Faculté de médecine de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service de génétique médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
5. Service de génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. South East Thames Regional Genetics Service, Guy's Hospital, London, Royaume Uni
7. Service de génétique clinique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
8. Service de génétique médicale, unité de génétique clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
9. Equipe Maladies Génétiques de l'Enfant et de l'Adulte, CHU de Montpellier, Paris, France
10. Service de Pédiatrie et Laboratoire de Génétique médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et Faculté de médecine de Strasbourg, Strasbourg, France
11. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Unité de génétique moléculaire, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : NER, réparation de l'ADN, Cockayne, trichothiodystrophie, DYRK1A, MRD7, chevauchement phénotypique

Résumé :

Les maladies de la réparation de l'ADN par excision de nucléotide (NER ou Nucleotide Excision Repair), comme par exemple le syndrome de Cockayne (CS) et la trichothiodystrophie (TTD), sont des pathologies très rares (respectivement 2,7 et 1, 2 cas par million de naissances vivantes), de transmission autosomique récessive, caractérisées par un retard de croissance, une microcéphalie, un retard psychomoteur, une atteinte neurologique et neurosensorielle et des anomalies de la peau et/ou des phanères. Les mutations ou délétions du gène *DYRK1A* sont responsables du syndrome retard mental dominant de type 7 (MRD7), associant une déficience intellectuelle (DI) avec retard sévère du langage, une microcéphalie, des traits dysmorphiques particuliers et des troubles de la marche. L'incidence globale des pertes de fonction de *DYRK1A* est évaluée entre 0,5 et 1% dans les cohortes de patients DI sélectionnés pour des explorations par séquençage haut débit.

Nous rapportons le cas de 6 patients initialement adressés à notre laboratoire pour suspicion de syndrome de Cockayne (n=5) ou trichothiodystrophie (n=1) en raison de signes cliniques évocateurs. Aucune variation pathogène dans les gènes de la voie NER n'a permis de confirmer ces diagnostics. Cependant, des analyses moléculaires complémentaires, par panel étendu de gènes impliqués dans le neurodéveloppement ou par exome, ont permis d'identifier chez ces patients des variations hétérozygotes *de novo* de type non-sens (n=2), délétion hors phase (n=1) ou insertion/délétion en phase (n=2) dans le gène *DYRK1A*. Le diagnostic de syndrome MRD7 est concordant avec les signes cliniques présentés par les six patients.

Le retard de développement avec déficience intellectuelle et retard de langage, la microcéphalie, l'énophtalmie et la cataracte constituent des symptômes fréquents et chevauchants entre CS, TTD et MRD7. Des anomalies oculaires (cataracte notamment), cutanées (eczéma) ou touchant les phanères (cheveux cassants) sont également visibles dans ces trois pathologies. Ces chevauchements phénotypiques expliquent les difficultés rencontrées par les cliniciens pour distinguer ces différentes entités. Le gène *DYRK1A* code pour la protéine kinase DYRK1A. En raison de la multiplicité des fonctions exercées par ses protéines cibles, DYRK1A est impliquée dans de nombreuses fonctions cellulaires telles que l'apoptose, la division cellulaire ou les fonctions synaptiques. De manière intéressante, des études d'expression menées sur des cellules de patients CS après irradiation aux UV ont indiqué une régulation négative de l'expression du gène *DYRK1A* (Kristensen, 2013 ; Epanchintsev, 2017). A l'inverse, nos études montrent que les cellules de patients MRD7 ne présentent pas de dérégulation significative des gènes de la voie NER. Le chevauchement clinique de ces pathologies pourrait donc reposer sur la dérégulation de voies cellulaires communes, les protéines de la voie NER intervenant en amont de DYRK1A dans ces mécanismes.

Pièce jointe : Abstract Assises_CalmelsN_DYRK1A_NER_191014.docx

#20034 : Panels NGS « fente palatine » et « fente labio-palatine » : retour d'expérience sur une cohorte de 250 patients**Auteurs :**

Véronique Pingault (1), Sylvain Poisson (1), Judite de Oliveira (2), Sylvain Hanein (3), Christine Bole (4), Patrick Nitschké (5), Cécile Fourrage (1), Anne Guimier (6), Clothilde Ormieres (6), Daphné Lehalle (7, 6), Marlène Rio (6), Valérie Cormier-Daire (6), Sandrine Marlin (8), Arnold Munnich (9), Tania Attié-Bitach (10), Arnaud Picard (11), Véronique Abadie (11), Stanislas Lyonnet (9), Julie Steffann (12), Jeanne Amiel (9)

1. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Necker, Paris, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Necker, Paris, France
3. Equipe de Génétique translationnelle, Institut Imagine, Paris, France
4. Plateforme de Génomique, Institut Imagine, Paris, France
5. Plateforme de Bioinformatique, Institut Imagine, Paris, France
6. Service de génétique médicale, Hôpital Necker, Paris, France
7. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares 'Anomalies du Développement' de l'Interrégion Est, Hôpital d'enfants, Dijon, France
8. Centre de référence Surdités génétiques, Hôpital Necker, Paris, France
9. Service de génétique, Hôpital Necker, Paris, France
10. Laboratoire d'embryologie moléculaire, Hôpital Necker, Paris, France
11. Centre de référence Syndromes de Pierre Robin et troubles de succion/déglutition congénitaux, Hôpital Necker, Paris, France
12. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Necker, Paris, France

Mots clefs : Fente palatine, fente labio-palatine, séquence de Pierre Robin, panel NGS

Résumé :**Introduction :**

Les malformations résultant d'une anomalie de migration, différenciation ou survie des lignages ou tissus dérivés des crêtes neurales sont classées sous le terme générique de Neurocristopathies simples ou complexes. Compte tenu de la demande de plusieurs centres de référence prenant en charge ces patients sur l'hôpital Necker (surdités génétiques, séquence de Pierre Robin, malformations rares de la face et de la cavité buccale, malformations ORL rares, malformations cardiaques, malformations ano-rectales), du nombre de patients suivis et de l'expressivité variable d'un grand nombre de ces pathologies, nous avons développé un test de diagnostic moléculaire haut débit dédié aux neurocristopathies. Nous rapportons ici les résultats de 4 ans d'utilisation des panels « fente palatine » et « fente labio-palatine », sur lesquels ont été testés plus de 250 cas index.

Méthodes :

L'outil diagnostique, appelé Crestine (MCNv1 puis MCNv2, pour Malformations Crêtes Neutrales), est basé sur une capture par hybridation (Targeted-NGS (SureSelect, Agilent)) suivi d'un séquençage sur HiSeq2500 puis sur NextSeq (Illumina), avec participation des plateformes génomiques et Bioinformatiques de l'institut Imagine. Les panels « fente palatine » et « fente labio-palatine » n'ont pas vocation à être exhaustifs pour les formes syndromiques, dont les gènes peuvent se trouver déjà sur d'autres panels diagnostiques du service de Biologie Moléculaire de Necker. Ils ont été élaborés principalement dans le but de couvrir les indications de fentes isolées ou qui peuvent apparaître pauci-symptomatiques chez les jeunes enfants. Quelques syndromes cliniquement reconnaissables et non couverts par les autres panels du site sont également inclus.

Résultats :

La profondeur moyenne de lecture est supérieure à 300X, pour une couverture à 30X presque complète. Depuis la mise en place de l'outil MCNv1 en septembre 2015, puis de MCNv2 en septembre 2017, 174 patients ont été passés sur le panel « fentes palatines », 80 sur le panel « fentes labio-palatines » et 5 patients sur les deux. Pour le panel « fentes palatines », environ 20% de mutations sont retrouvées, le plus souvent (mais pas uniquement) dans des formes syndromiques de fente palatine ou de séquence de Pierre Robin, parfois pauci-symptomatiques. Le pourcentage de détection de mutations du panel « fente labio-palatine » est inférieur (16%) et concerne des gènes de formes syndromiques. Il faut noter que les fentes labio-palatines isolées sporadiques ne sont généralement pas testées du fait du très faible taux de mutation rapporté dans cette indication. Enfin, bien que non strictement quantitative, la comparaison des taux de couverture des régions cibles, patient par patient et sur l'ensemble du run, a permis de détecter une délétion totale ou partielle d'un gène dans 4 cas.

Pièce jointe : Abstract FP_FLP Assises.docx

#19833 : Élargissement phénotypique des atteintes neurologiques dans les cutis laxa de type 3a

Auteurs :

Chloé Angelini (1)

1. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Cutis laxa, syndrome de de Bary, neurodéveloppement, ALDH18A1

Résumé :

Les cutis laxa représentent un groupe de pathologies à spectre varié, et ont pour dénominateur commun une peau abondante et hyperélastique avec des veines visibles. Ces pathologies sont causées par des défauts dans la synthèse de l'élastine, des anomalies de la matrice extracellulaire, et aussi des anomalies métaboliques. Les cutis laxa peuvent être acquis ou hérités. Les cutis laxa hérités sont des pathologies extrêmement rares et présentent des modes de transmission variés (autosomique dominant, autosomique récessif et lié à l'X). A ce jour, douze formes différentes de cutis laxa génétiques ont été décrites.

Les variants pathogéniques dans *ALDH18A1* sont responsables de cutis laxa de type IIIA de transmission autosomique récessive (OMIM#219150), de cutis laxa de type III de transmission autosomique dominante (OMIM#616603), mais également de paraplégie spastique de type 9A (OMIM#601162), autosomique dominante, et de type 9B (OMIM#616586), de transmission autosomique récessive. Il existe un chevauchement phénotypique entre ces quatre syndromes, avec des symptômes neurologiques variés.

Le cutis laxa de type IIIA (autosomique récessif) est une maladie génétique extrêmement rare, avec seulement seize patients décrits à ce jour dans la littérature. Le spectre clinique inclut une peau abondante et ridée, des anomalies squelettiques, des anomalies du neurodéveloppement, des opacités cornéennes et une cataracte, et dans certains cas des symptômes neurologiques sévères. Le cutis laxa de type III (autosomique dominant) est également caractérisé par les anomalies cutanées et ophtalmologiques susmentionnées, ainsi qu'un retard de croissance pré et post-natal, une déficience intellectuelle modérée, et chez certains patients une hypertonie musculaire, des anomalies visibles à l'IRM cérébrale telles que des vaisseaux intracrâniens tortueux, des hypersignaux de la substance blanche et une sténose du foramen magnum. Le phénotype semble globalement moins sévère que dans le cutis laxa de type IIIA, mais avec une atteinte neurologique plus marquée.

Nous décrivons ici un patient de 13 mois, avec un nouveau variant pathogénique dans *ALDH18A1*, présent à l'état homozygote. Ce patient présente un phénotype très sévère avec une atteinte neurologique marquée, proche de celles décrites dans les cutis laxa de type III. Cette description phénotypique et génotypique permet d'élargir le spectre associé aux variants pathogéniques d'*ALDH18A1*, jusqu'alors très peu décrits dans la littérature médicale.

Pièce jointe : Elargissement phénotypique des atteintes neurologiques dans les cutis laxa de type 3a.docx

#20511 : Variants de novo au sein de SOX6 responsables de troubles neurodéveloppementaux parfois associés à une craniosténose ou à des ostéochondromes**Auteurs :**

Jessica Yeager (1), Gijs Santen (2), Claudia Ruivenkamp (2), Saadet Andrews (3), Christel Depienne (4), Alma Kuechler (4), Barbara Mikat (4), Hermann-Josef Ludecke (4), Frédéric Bilan (5), Gwenael Le Guyader (5), Brigitte Gilbert-Dussardier (5), Boris Keren (6), Solveig Heide (6), Damien Haye (6), Hilde Van Esch (7), Liesbeth Keldermans (8), Damara Ortiz (9), Emily Lancaster (9), Andrew Wilkie (10), Kieran Pechter (11), Elizabeth Dechene (11), Eduardo Calpena (10), Giada Melistaccio (10), Foulds Nicola (10), Mohnish Suri (12), Amber Begtrup (10), Cara Forster (13), McDonald Marie (14), Teresa Santiago-Sim (13), Livija Medne (15), Bryan Krock (15), Julien Thevenon (16), Charles Coutton (16), Ales Maver (17), Gorazd Rudolf (17), Olivier Pichon (18), Mathilde Nizon (18), Benjamin Cogné (18), Bertrand Isidor (18), Dominique Martin-Coignard (19), Radka Stoeva (19), Veronique Lefebvre (1), Cedric Le Caignec (20)

1. Department of Surgery, Division of Orthopaedic Surgery, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis

2. Department of Clinical genetics, Leiden University, Leiden, Pays-Bas

3. Department of Clinical genetics, Sick kids, Toronto, Canada

4. Medical genetics department, Essen university, Essen, Allemagne

5. Medical genetics department, CHU, Poitiers, France

6. Medical genetics department, CHU, Paris, France

7. Medical genetics department, c, Leuven, Belgique

8. Medical genetics department, CHU, Leuven, Belgique

9. Medical genetics department, Hospital, Pittsburgh, Etats-Unis

10. Medical genetics department, Hospital, Oxford, Royaume Uni

11. Medical genetics department, Hospital, Philadelphia, Etats-Unis

12. Medical genetics department, Nottingham University Hospitals NHS Trust, Nottingham, Royaume Uni

13. Medical genetics department, GeneDx, Washington, Etats-Unis

14. Medical genetics department, Hospital, Durham, Etats-Unis

15. Medical genetics department, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis

16. Medical genetics department, CHU, Grenoble, France

17. Medical genetics department, Hospital, Slovénie, Slovénie

18. Medical genetics department, CHU, Nantes, France

19. Medical genetics department, Hospital, Le Mans, France

20. Medical genetics department, CHU, Toulouse, France

Mots clefs : craniosténose, déficience intellectuelle, développement, maladies osseuses

Résumé :

Le gène SOX6 appartient à la famille des gènes SOX comprenant un domaine HMG et codant des facteurs de transcription essentiels dans le contrôle de la différenciation cellulaire au cours du développement. Des variants au sein de plusieurs gènes de la famille SOX sont responsables de troubles neurodéveloppementaux. A ce jour, aucune variation ponctuelle de SOX6 n'a été décrite chez des patients. Nous rapportons 19 patients avec des variations hétérozygotes au sein de SOX6 – non-sens, faux-sens, délétions intragéniques, translocation interrompant le gène. Tous les variants sont hétérozygotes, 15/19 de novo et 4 hérités d'un père atteint. Aucun variant n'est présent dans GnomAD et les variants non-sens sont prédits pour être responsables d'une haploinsuffisance. Des études fonctionnelles réalisées sur les 4 variants faux-sens ont montré que 2 d'entre eux abolissent ou détruisent l'activité transcriptionnelle de SOX6. Ces 2 variants sont localisés dans le domaine HMG du gène. Tous les patients présentent une déficience intellectuelle ou un retard des acquisitions psychomotrices. Des signes inconstants sont parfois observés tels qu'une craniosténose (n=3) ou des ostéochondromes multiples (n=3). Ces résultats montrent que l'haploinsuffisance de SOX6 est responsable de troubles neurodéveloppementaux associés à des anomalies osseuses.

#20431 : Polymorphismes du gène du récepteur de la vitamine D et facteurs associés à l'obésité et au diabète de type 2 chez une population Tunisienne

Auteurs :

Manel ZOUAOUI (1, 2), Rahma MAHJOUB (1, 3), Amal GUESMI (1, 4), Sabrine OUESLATI (1), Malek DABBOUSSI (1, 4), Awatef KACEM (1), Faten MAHJOUB (5), Henda JAMMOUSSI (5), Amina BIBI (1, 6)

1. Laboratoire de biologie clinique, Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire -Tunis, Tunis, Tunisie
2. , . Faculté des sciences de Tunis - Université de Tunis El Manar , Tunis, Tunisie
3. , Faculté de Pharmacie de Monastir - Université de Monastir , Monastir , Tunisie
4. , Faculté des sciences de Tunis - Université de Tunis El Manar , Tunis, Tunisie
5. Département des maladies de la nutrition A -Unité de recherche sur l'obésité , Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire -Tunis, Tunis, Tunisie
6. , Faculté de Pharmacie de Monastir - Université de Monastir , Monastir, Tunisie

Mots clefs : polymorphismes, vitamine D, VDR, diabète, obésité

Résumé :

La vitamine D est une hormone stéroïde. Elle intervient essentiellement dans le métabolisme phosphocalcique et la minéralisation osseuse. Son métabolite actif, la 1,25-dihydroxyvitamine D ou Calcitriol, agit directement ou via un récepteur cytosolique, le VDR (vitamin D receptor). De nombreuses variations nucléotidiques dans la séquence du gène codant le VDR ont été rapportées. Les plus fréquemment analysées parmi ces variations sont: rs 10735810 (*FokI*), rs 731236 (*TaqI*), rs 1544410 (*BsmI*) et rs7975232 (*Apal*). La localisation ubiquitaire du VDR suggère aujourd'hui son intervention dans plusieurs mécanismes physio-pathologiques : troubles respiratoires, événements cardiovasculaires, hypertension artérielle, obésité, certains cancers et certaines maladies auto-immunes comme le diabète de type 1.

L'objectif de notre travail était de rechercher une association entre les polymorphismes du gène VDR (*FokI*, *TaqI*, *Apal* et *BsmI*) et les facteurs liés à l'obésité et au diabète de type 2 (DT2).

Un total de 215 individus répartis sur trois groupes (70 sujets obèses, 72 sujets diabétiques de type 2 et 73 sujets sains) a été recruté entre Février et Juin 2017.

La glycémie à jeun, la CRP, les triglycérides, le cholestérol total, le HDL-cholestérol, le calcium et l'albumine ont été déterminés sur analyseur automatique de chimie clinique AU680 Beckman Coulter. L'HbA1c a été déterminée par électrophorèse capillaire sur automate Cappillarys 2 Flex-Sebia. Les dosages de la vitamine D et l'insuline ont été réalisés par chimiluminescence sur automate Cobas e411-Roche. L'étude moléculaire des polymorphismes a été réalisée par PCR-RFLP utilisant les enzymes de restriction *FokI*, *TaqI*, *BsmI* et *Apal*.

Selon le modèle de régression logistique, nous avons constaté que l'allèle muté C et les génotypes hétérozygote TC et homozygote CC du rs 10735810 et l'allèle muté T et les génotypes hétérozygote GT et homozygote TT du rs7975232 multiplient significativement le risque d'avoir le diabète de type 2 (DT2) avec OR= **4,1 / 3,2 / 23,3** $p < 0,001$ et OR= **12,6 / 17,3 / 9,7** $p < 0,001$ respectivement. De même, l'allèle muté C et les génotypes hétérozygote TC et homozygote CC du rs 731236 (OR=**3,9 / 2,3 / 6,9** $p < 0,001$) et le génotype muté GG du rs 1544410 (OR= **12,6**) étaient des facteurs de risque majeurs du DT2. Au contraire, l'allèle G du rs1544410 ne présente aucune association significative avec le DT2. D'autre part, les individus avec l'allèle muté C et les génotypes hétérozygote TC ou homozygote CC du rs 731236 et l'allèle G et les génotypes hétérozygote AG et homozygote GG du rs 1544410 ont plus de risque d'être obèses avec OR= **4,8 / 7,6 / 5,5** $p < 0,001$ et OR= **10,7/7,9/59** $p < 0,001$ respectivement.

Les polymorphismes du gène du VDR se trouvent associés au risque d'apparition du DT2 et de l'obésité, et pourraient alors avoir une implication clinique dans la prévention de leur survenue, ou dans la prédiction des effets thérapeutiques.

Pièce jointe : Polymorphismes du gène du récepteur de la vitamine D et facteurs associés à l'obésité et au diabète de type 2 chez une population Tunisienne.docx

#20445 : Visualisation des « bam » pour détecter et caractériser les grands réarrangements complexes par séquençage haut débit : à propos d'un cas de myopathie par mutation du gène RYR1**Auteurs :**

Nicolas DONDAINE (1), Laurent PASQUIER (2), Pascale MARCORELLES (3), John RENDU (4), Samuel NICAISE (5), Jean MULLER (1), Valérie BIANCALANA (1)

1. Laboratoire Diagnostic Génétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de génétique clinique, CHU Rennes, Rennes, France
3. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Brest, Brest, France
4. Unité Médicale de Génétique, CHU de Grenoble-Alpes, Grenoble, France
5. UF 7363 Bioinformatique médicale appliquée au diagnostic, CHU Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : Myopathie congénitale, CNV, réarrangement, séquençage haut débit, diagnostic

Résumé :

Dans le cadre du diagnostic moléculaire des myopathies, nous proposons en routine un panel incluant 233 gènes de myopathies basé sur la capture de séquence (Agilent) et séquençage haut débit (Illumina, NextSeq550), incluant la détection des variations de séquence (SNV/indel) par le logiciel VaRank ainsi que la détection des variations de nombre de copies (CNV) par le logiciel CANOES.

Nous présentons ici le cas d'un patient atteint de myopathie congénitale sévère, décédé à 1 mois de vie. L'exploration du panel a mis en évidence deux variations dans le gène *RYR1*, d'une part une délétion hétérozygote de 91 paires de bases dans l'exon 44, c.7112_7202del, p.(Glu2371Alafs*7) et d'autre part une délétion hétérozygote des exons 8 à 11.

Nous montrons comment l'analyse des « bam » par la visualisation des profils de profondeur de lecture (sur des logiciels tels que IGV ou Alamut), a permis de caractériser un remaniement plus complexe qu'une simple délétion au niveau des exons 8 à 11, c'est-à-dire une délétion de la fin de l'exon 8 à l'intron 11 et une duplication de l'exon 6 et des parties introniques flanquantes, insérée dans l'intron 11.

En conclusion l'analyse des « bam » peut permettre de déceler des CNV mais également de déterminer leurs points de cassures. Cette analyse « visuelle » est donc un complément important pour confirmer et préciser des grands réarrangements. On notera l'intérêt de conserver dans les bam les lectures « off-target » qui ont permis ici de préciser le remaniement.

Il est connu que la détection des CNV est moins sensible que celle des SNV et des indel. La visualisation des « bam » peut également être contributive pour déceler une anomalie, notamment dans les cas où une seule variation est détectée dans le cadre d'une maladie de transmission autosomique récessive.

Pièce jointe : Abstract_Assise 2020Tours.docx

#19982 : Apport de la CGH array dans l'analyse des remaniements chromosomiques complexes : Exemple d'une trisomie partielle 16q23-qter associée à une monosomie partielle 9p24.3-pter

Auteurs :

Yosra Lajmi (1), Lilia Kraoua (1), Khaoula Khachnaoui (1, 2), Souhir Guidara (1), Chantal Missirian (2), Mediha Trabelsi (1), Ridha Mrad (1)

1. Service des Maladies Congénitales et Hérititaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, APHM, CHU Timone Enfants, Marseille, France

Mots clefs : trisomie 16q, monosomie 9p, syndrome malformatif, caryotype, FISH, CGH array

Résumé :

Introduction :

Les dérivés chromosomiques sont des chromosomes remaniés résultant des différentes anomalies de structure en particulier les translocations réciproques et sont à l'origine de trisomies et de monosomies partielles. Ces dérivés chromosomiques sont souvent associés à un déficit intellectuel syndromique.

Objectif :

Nous rapportons les caractéristiques cliniques et cytogénétiques d'une patiente ayant un dérivé du chromosome 9 par translocation (9;16) générant une trisomie partielle 16q23-qter rarement décrite (une quinzaine de cas rapportés) et une monosomie partielle 9p24.3-pter.

Matériels et méthodes :

Une étude clinique, un caryotype standard et une étude complémentaire par hybridation in situ fluorescente (FISH) et par hybridation génomique comparative sur réseau d'ADN (CGH array) a été réalisée pour notre patiente.

Observation :

Il s'agit d'une fille âgée actuellement de 7 ans, adressée à notre service à l'âge de 1 an pour syndrome malformatif. Le développement psychomoteur était retardé avec une position assise acquise à l'âge de 1 an, une marche acquise à l'âge de 2 ans et 4 mois et une parole bisyllabique à l'âge de 6 ans. L'examen a montré un retard staturo-pondéral (-2DS), des anomalies squelettiques (coudes en flexion et pieds valgus), une hernie ombilicale, un souffle cardiaque, une fente palatine et une dysmorphie faciale. L'exploration cardiaque a montré un canal artériel perméable de 2 mm.

Un caryotype standard a permis d'identifier du matériel chromosomique additionnel au niveau du bras court du chromosome 9. Les caryotypes des parents étaient normaux. Une étude complémentaire par hybridation in situ fluorescente (FISH) a montré une délétion de la région télomérique 9pter. Une hybridation génomique comparative (CGH array) a été réalisée et a mis en évidence une duplication terminale d'environ 8,7 Mb du bras long du chromosome 16 (région 16q23.2-q24.3) et une délétion terminale du bras court du chromosome 9 (région 9p24.3) de 1,14 Mb. La FISH a permis de confirmer que le matériel chromosomique additionnel sur le chromosome 9 dérive du chromosome 16.

Conclusion :

Notre patiente présente des signes cliniques communs à la trisomie 16qter et la monosomie 9pter tels que le retard psychomoteur et mental et la malformation cardiaque. La dysmorphie faciale se rapproche plus de celle décrite dans la trisomie 16q. La fente palatine, le retard de croissance et les anomalies squelettiques présents chez notre patiente ont été décrits dans la trisomie 16q23-qter. Les anomalies anorectales souvent associés à la trisomie 16q et la trigonocéphalie et les signes dysmorphiques associés à la monosomie 9pter n'ont pas été retrouvés chez notre patiente. La CGH array nous a permis de caractériser l'anomalie de structure, d'établir une corrélation génotype phénotype précise et de donner un conseil génétique adéquat.

Pièce jointe : abstract-assises 2020-Yosra Lajmi.docx

#20304 : Valorisation de l'interaction clinico-biologique dans le cadre des prédispositions génétiques au cancer du sein et/ou de l'ovaire.**Auteurs :**

ERELL GUILLERM (1), Patrick Benusiglio (2), NOEMIE BASSET (1), FLORIAN PIQUES (1), CLARISSE BERNARD (1), LAURE QUENEDEY (1), JULIE METRAS (3), VERONICA CUSIN (4), JEANNE NETTER COTTI (5), FLORENCE COULET (1)

1. Département de génétique - UF Laboratoire d'oncogénétique et d'angiogénétique, APHP Sorbone Université - Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, PARIS, France
2. Département de génétique - UF Oncogénétique clinique, APHP Sorbone Université - Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, paris, France
3. Service de chirurgie digestive - Oncogénétique clinique, APHP Sorbone Université -Hôpital Universitaire Saint-Antoine, PARIS, France
4. Département de génétique - UF Oncogénétique clinique, APHP Sorbone Université - Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, PARIS, France
5. Service de chirurgie digestive - Oncogénétique clinique, APHP Sorbone Université -Hôpital Universitaire Saint-Antoine, PARIS, France

Mots clefs : base de données moléculaires et cliniques, cancer, NGS, panel de gènes, oncogénétique

Résumé :

Nous avons mis en place un panel de 49 gènes par séquençage à haut débit pour évaluer le risque de prédispositions au cancer, ce panel inclut des gènes d'utilité clinique et des gènes de recherche. 13 gènes d'utilité clinique sont analysés dans les familles avec critères de prédisposition au cancer du sein et/ou de l'ovaire (HBOC). Devant l'augmentation des demandes dans cette pathologie et la multiplicité des sites prescripteurs, nous avons souhaité homogénéiser et simplifier le recueil des données cliniques. Nous avons donc mis en place depuis juillet 2018, un fichier de recueil des informations cliniques basé sur le modèle du score de Manchester modifié et adapté aux pratiques nationales actuelles. Ce score, internationalement reconnu d'utilité clinique, permet de calculer le risque familial à une prédisposition génétique lié à *BRCA* en cas d'HBOC en prenant en considération les antécédents familiaux jusqu'au 2nd degré. Dans notre adaptation, chaque item de ce score est codé afin d'intégrer de façon rapide les informations cliniques dans le système de gestion de laboratoire. Le recueil des données n'entraîne pas de surcharge de travail au niveau des consultations et permet de calculer rapidement le score de Manchester. Les données recueillies sont harmonisées et nous pouvons mieux apprécier la pertinence de la demande de test génétique et exploiter les rapidement les résultats.

A ce jour, nous avons recueilli les données phénotypiques et moléculaires de 882 patients HBOC. Cette base de données permet de calculer le taux de détection de variants pathogène (VP) par gène permettant la confrontation aux données publiées. Nous avons ainsi détecté 8,1% de VP dans les gènes *BRCA1/2*. Nous pouvons affiner cette analyse en regardant une composition familiale particulière ou un sous type de cancer.

Cette base de données a également d'autres applications dans notre domaine où les évolutions aussi bien scientifiques que techniques sont constantes. Elle permet de sélectionner, en fonction de la sévérité de l'atteinte familiale, les familles pour lesquelles seul un ou plusieurs variants de signification inconnus (VSI) ont été mis en évidence. Ceci permet ainsi de prioriser les VSI détectés dans les familles à haut risque et pour lesquels une coségrégation informative permettra de maximiser les chances de classement lors des discussions des groupes nationaux et internationaux. De même, nous pouvons facilement sélectionner les familles avec phénotypes sévères chez lesquelles aucune anomalie moléculaire n'a été mise en évidence avec notre panel de gènes. Nous pouvons ainsi proposer ces familles pour une analyse génomique dans le cadre d'une des pré-indications sélectionnées pour le plan France génomique 2025. Nous avons également rassemblé des données génétiques sur des gènes sans recommandations de prise en charge à l'heure actuelle afin d'aider à en estimer leur implication dans ce type de prédisposition et d'aider à l'établissement de futures recommandations.

Pièce jointe : abstract Valo Clinicobio seinovaire .docx

#20533 : Identification d'une nouvelle mutation du gène HUWE1 par séquençage haut débit chez un patient présentant une déficience intellectuelle syndromique associée à une inversion chromosomique familiale.**Auteurs :**

Ikhlal Ben Ayed (1), Amal Bouzid (2), Norhene Gharbi (3), Amal Souissi (1), Sana Kmiha (4), Mariem Ben Said (1), Neila Belguith (3), Hassen Kammoun (3), Saber Masmoudi (1)

1. Laboratoire de Procédés de Criblage Moléculaire et Cellulaire, Centre de Biotechnologie de Sfax , Sfax, Tunisie
2. Laboratoire de Procédés de Criblage Moléculaire et Cellulaire, Centre de Biotechnologie de Sfax , Sfax, Tunisie
3. Service de Génétique Médicale, CHU Hédi Chaker Sfax, Sfax, Tunisie
4. Service de Neurologie Pédiatrique, CHU Hédi Chaker Sfax, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Inversion chromosomique familiale péracentrique, Déficience intellectuelle syndromique, ACPA- Exome Clinique, Gène HUWE1, Comorbidité

Résumé :

Les remaniements chromosomiques équilibrés sont des événements rares qui posent des difficultés pour le conseil génétique devant l'association d'un phénotype anormal. Cette association peut être secondaire soit à un déséquilibre cryptique pouvant être mis en évidence par une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), soit à l'interruption d'un gène au niveau du point de cassure, soit à un effet de position ou bien la présence d'une cause génique sans rapport avec le remaniement chromosomique observé. Dans ce travail, nous rapportons le cas d'un patient présentant une déficience intellectuelle sévère syndromique associée à une surdité congénitale. L'enquête génétique a révélé la présence d'une consanguinité de premier degré et de surdité isolée chez la fratrie. Le caryotype standard a révélé la présence d'une inversion péricentrique du chromosome 7 et l'étude familiale a montré que cette inversion ségrège sur trois générations. L'étude moléculaire ciblée de la délétion 35delG au niveau gène *GJB2* a permis d'identifier un statut homozygote chez la fratrie alors que notre patient présente un profil hétérozygote. Une ACPA a été pratiquée (4x44K d'Agilent) permettant d'éliminer la présence d'un déséquilibre génomique associée à ce remaniement et de CNVs pathogènes pouvant expliquer le tableau phénotypique de notre patient. Ainsi, un exome clinique a été donc réalisé à l'aide du kit TruSight One d'Illumina. Après filtration des données, nous avons identifié un nouveau variant (c.12639G > A) affectant le gène *HUWE1* (NM_031407.5). Ce gène, situé sur le chromosome Xp11.22, code pour une protéine impliquée dans la neurog nese du cortex cérébral via la voie N-Myc. Ce variant affecte le domaine HECT-Domain ubiquitin ligase, un domaine hautement conservé, qui contrôle la différenciation et la prolifération neurale. Selon les critères d'ACMG-AMP, ce variant est assigné classe 4 (PM1-PM2-PS2-PP3) et retenu comme probablement pathogène. Des réarrangements chromosomiques et des mutations faux sens ont été rapportés à ce jour chez une vingtaine de patients présentant une déficience intellectuelle syndromique sévère. Notre patient partage plusieurs signes en commun avec les cas déjà rapportés à savoir la petite taille, la cardiopathie, l'absence de langage, la surdité et la présence de signes dysmorphiques incluant un front bombé, un épicanthus, des yeux enfoncés, une lèvre supérieure fine et un nez bulbeux. A travers ce travail, nous rapportons l'association concomitante d'une inversion chromosomique familiale, une mutation du gène *GJB2* et d'un nouveau variant du gène *HUWE1*. Nos résultats appuient l'implication du gène *HUWE1* dans la physiopathologie de la déficience intellectuelle et accordent une attention particulière à la complexité de la corrélation génotype-phénotype devant la comorbidité de plusieurs anomalies génétiques au sein des familles consanguines.

#20145 : La dysplasie mandibulo-acrale avec lipodystrophie de type A : A propos d'un cas familial

Auteurs :

Rania Sakka (1, 2), Zahra Saidani (3), Nahla Kechiche (2), Mediha Trabelsi (4), Héra Marmouch (5)

1. Unité de recherche de Génétique et maladies de l'enfant UR12ES10, Faculté de médecine de Monastir, Tunisie, Monastir, Tunisie
2. Chirurgie pédiatrique, Hôpital Fattouma Bourguiba de Monastir, Tunisie, Monastir, Tunisie
3. Gynécologie obstétrique, Hôpital Fattouma Bourguiba de Monastir, Tunisie, Monastir, Tunisie
4. Service des maladies héréditaires et congénitales, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
5. Service d'Endocrinologie et de Médecine interne, Hôpital Fattouma Bourguiba de Monastir, Tunisie, Monastir, Tunisie

Mots clefs : Dysplasie mandibulo-acrale avec lipodystrophie de type A-Hormone de croissance-Gène LMNA

Résumé :

La dysplasie mandibulo-acrale avec lipodystrophie de type A (MADA; OMIM 248370) est une pathologie autosomique récessive rare caractérisée par une dysmorphie crânio-faciale, une lipodystrophie de type A, une dysplasie claviculaire et une acro-ostéolyse. Cette pathologie est due à mutations faux-sens, à l'état homozygote ou hétérozygote composite du gène *LMNA*. Nous rapportons l'observation d'une fratrie atteinte de MADA, issue de parents cousins germains et composée d'une fille et de deux garçons, âgés respectivement de 14 ans, 12 ans et 4 ans et 6 mois. Vers l'âge de 3 ans, les parents ont remarqué une déformation progressive des doigts et une constipation chronique chez leurs enfants. A l'examen, une dysmorphie faciale et squelettique similaire était présente chez la fratrie et a associé, principalement, au niveau de la face : des yeux proéminents ; un nez court et étroit ; une petite bouche avec une ouverture limitée ; un chevauchement dentaire sévère et un microrétrognatisme marquée, au niveau du thorax : une déformation en cloche avec une diminution de la distance biacromiale et au niveau des membres : une lipodystrophie acrale et des doigts courts avec des phalanges distales courtes et arrondies. Une pigmentation cutanée en mottes était marquée au niveau du dos des mains. Les radiographies du squelette ont montré, essentiellement, des sutures crâniennes larges, des os wormiens occipitaux, une hypoplasie mandibulaire, une dysplasie claviculaire et une acro-ostéolyse des phalanges distales. Les investigations endocriniennes d'un retard de croissance postnatal chez toute la fratrie ont montré un déficit de l'hormone de croissance. La sœur a présenté aussi un retard pubertaire. L'IRM hypophysaire était normale. L'étude moléculaire a trouvé la mutation c.1580G>A; p. Arg527His du gène *LMNA*, à l'état homozygote chez toute la fratrie et à l'état hétérozygote chez les parents. En conclusion, MADA est une maladie multisystémique progressive qui nécessite une prise en charge globale et multidisciplinaire pour dépister et traiter précocement les complications essentiellement endocrino-métaboliques, bucco-dentaires et orthopédiques.

Pièce jointe : abstract_MADA_poster électronique.docx

#20261 : Un exemple de corrélation génotype-phénotype dans le syndrome de Marfan : vers une prise en charge individualisée**Auteurs :**

Nadia OULD OUALI (1), Sabrina JADOUI (1), Pauline ARNAUD (2), Nadine HANNA (2), Maria TCHITCHINAZDE (1), Maud Langeois (3), Yves DULAC (3), Catherine BOILEAU (2), Olivier MILLERON (4), Laurent GOUYA (1)

1. Coeur Vaisseaux, Hôpital Bichat, PARIS, France
2. département de génétique, Hôpital Bichat, PARIS, France
3. cardiologie, CHU Toulouse, TOULOUSE, France
4. cardiologie, Hôpital Bichat, PARIS, France

Mots clefs : Marfan, fbn1, génotype, phénotype, cysteine, ophtalmologie, cardiologie, surveillance

Résumé :Introduction

Le syndrome de Marfan est une maladie génétique autosomique dominante due à des mutations hétérozygotes du gène *FBN1*. La sévérité des atteintes notamment cardiovasculaires est très variable allant de l'absence de dilatation aortique jusqu'à la dissection aortique à un jeune âge.

Nous présentons l'exemple d'une corrélation génotype-phénotype avec la mutation récurrente p.Arg240Cys associée à une atteinte ophtalmologique sévère et sans atteinte cardiaque.

Cette observation pose la question du suivi clinique et de la nécessité d'une prévention des complications aortiques chez ces patients.

Matériels et méthodes

Parmi tous les patients vu au moins une fois dans le Centre de Référence pour le syndrome de Marfan, ceux avec la mutation c.718C > T, p.Arg240Cys (R240C, arginine remplacée par une cystéine) située dans l'exon 6 du gène *FBN1*, ont été sélectionnés.

Ces patients ont eu une échographie cardiaque, un examen à lampe à fente et un examen rhumatologique ou pédiatrique.

La sévérité de l'atteinte clinique est définie par :

-La survenue d'une dissection aortique, un antécédent de chirurgie aortique préventive et le degré de dilatation aortique exprimée par le Z-score (Z) selon Campens.

-le calcul du score systémique selon Ghent (G) afin d'évaluer l'atteinte squelettique

-la présence d'une ectopie du cristallin et les antécédents de chirurgie du cristallin.

L'analyse de biologie moléculaire a été réalisée par un séquençage NGS d'un panel de 28 gènes incluant le gène *FBN1* chez les cas index et par séquençage Sanger chez les apparentés.

Résultats

20 patients issus de 5 familles indépendantes et porteurs de la mutation p.Arg240Cys, ont été retrouvés parmi 1576 patients avec une mutation *FBN1* identifiée. Ils ont entre 6 à 65 ans (âge moyen de 27 ans) et sont pour moitié des hommes

- Sur le plan cardiologique, aucun adulte n'a présenté de dissection aortique ni de dilatation aortique nécessitant une chirurgie aortique préventive. La dilatation aortique est absente chez 11/13 (84.6%) adultes, dont deux ont plus de 40 ans ($Z < 2$). La dilatation aortique est modérée chez les 2 adultes restants (15.4%) ($2 < Z < 3$) et aucun ne présente de dilatation importante ($Z > 3$).
- Sur le plan ophtalmologique, 18/20 patients (90%) ont une ectopie du cristallin, parmi eux, 55% ont été opérés des cristallins.
- Sur le plan rhumatologique, 1/20 patient (5%) a une atteinte majeure ($G > 7$).

Conclusion

A l'inverse de la population globale des patients Marfan, la population porteuse de la mutation p.Arg240Cys présente un phénotype prévisible avec des signes ophtalmologiques majeurs quasi systématiques et des atteintes rhumatologiques et cardiaque minimes ou absentes.

Ces résultats posent la question du bénéfice du traitement cardioprotecteur préventif, des contre-indications sportives et des précautions en cas de grossesse dans ce groupe de patients. Ces résultats préliminaires doivent être renforcés par une étude de corrélation génotype-phénotype sur une plus grande population.

#20450 : Séquençage d'ADN natif dédié à l'étude du microbiome sur le MinION ® : retour d'expérience de la paillasse à l'assignation taxonomique

Auteurs :

Ségolène Diry (1), Virginie Chesnais (1), Léo D'Agata (1), Emmanuel Gilson (1), Eric Ginoux (1)

1. R&D, Life and Soft, Le Plessis-Robinson, France

Mots clefs : Shotgun sequencing, Nanopore, Microbiome

Résumé :

Le microbiome est un acteur majeur dans la régulation de la physiologie chez l'homme. L'exploration du microbiome d'un échantillon est souvent réalisé grâce au séquençage de tout ou partie du gène codant pour l'ARN 16S qui est un gène conservé au sein des bactéries. Une autre approche plus coûteuse consiste à séquencer tout l'ADN d'un échantillon (whole genome shotgun sequencing) et permet d'accéder à l'ensemble du microbiome, incluant donc les bactéries mais aussi les microorganismes eucaryotes unicellulaires (ex : levures) et les virus/phages. Elle apporte ainsi une meilleure description de la diversité d'un échantillon tout en fournissant d'autres informations telles que l'analyse fonctionnelle. L'étude du microbiome d'un individu présente de multiple intérêt en clinique, en permettant par exemple d'expliquer certains phénotypes pathologiques tels que l'infertilité ou la réponse à certains traitement dû à des mécanismes métabolismes variables des médicaments selon le microbiote.

Nous avons utilisé la technologie Nanopore® afin de réaliser des séquençages en long-read de tout l'ADN natif d'un échantillon. Nous avons réalisé plusieurs tests de séquençage de mocks biologique en faisant varier aussi bien les étapes de préparation des échantillons (méthodes d'extraction d'ADN...) que les étapes bioinformatiques (base calling, assignation taxonomique...). Nous avons ainsi pu observer des rendements variables (facteur 5 de différence) selon le type d'extraction de l'ADN. Nous avons également observé l'importance de la qualité de la base de données de référence utilisée lors de l'assignation taxonomique (nombre de contigs, taille des génomes...). Sur les résultats de mock comprenant entre 2 à 11 espèces, nous avons à chaque fois identifiés toutes les espèces bactériennes attendues, sans ajout de bruit d'espèces supplémentaire. Nous avons obtenu des facteurs de corrélation allant de 0.75 à 0.95 (spearman). Des séquençages de microbiote de peau, nous avons identifié des bactéries cohérentes avec ce qui est décrit dans la littérature. Une corrélation de 0.86 a été obtenu entre les joues droite et gauche des donneurs, validant ainsi les résultats d'assignation taxonomique obtenu.

Cette étude nous a permis de comparer différentes stratégies d'analyse et de déterminer la meilleure approche pour l'assignation taxonomique et la quantification des espèces d'un échantillon. Nos différentes mises au point ont permis d'aboutir à un workflow permettant d'obtenir une description complète d'un échantillon en ½ journée depuis le prélèvement biologique jusqu'à la génération du rapport taxonomique.

#20329 : Adaptation des recommandations internationales (ACMG/AMP) pour l'interprétation des variants dans le gène *TERC* impliqué dans les téloméropathies.

Auteurs :

Adrien Borgel (1), Ibrahima Ba (1, 2), Yann Ponty (3), Christelle Ménard (1), Claire Oudin (1), Sylvie Alglave (1), Abdoul Karim Diallo (1), Cecile Fourrage (4), Elodie Lainey (5), Raphael Borie (6), Bruno Crestani (6, 7), Vincent Cottin (8), Flore Sicre de Fontbrune (9), Regis Peffault De La Tour (9), Thierry Leblanc (10), Aurélie Plessier (11), Catherine Boileau (1), Caroline Kannengiesser (1, 2)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Bichat - Claude Bernard, Paris, France
2. INSERM UMR1152, Hôpital Bichat - Claude Bernard, Paris, France
3. CNRS AMIBio Team Laboratoire d'Informatique de l'Ecole Polytechnique, Ecole Polytechnique, Palaiseau, France
4. , Institut Imagine, Paris, France
5. Laboratoire d'Hématologie biologique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Service de Pneumologie, Hôpital Bichat - Claude Bernard, Paris, France
7. INSERM UMR1152, Hôpital Bichat - Claude Bernard, paris, France
8. Service de Pneumologie, CHU Lyon HCL, Lyon, France
9. Service d'Hématologie Greffe, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
10. Service d'Hémo-immunologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
11. Service d'hépatologie, Hôpital Beaujon, Paris, France

Mots clefs : Classification ACMG/AMP, *TERC*, téloméropathie, variant de signification inconnu, VUS

Résumé :

L'American College of Medical Genetics and Genomics et l'Association for Molecular Pathology (ACMG/AMP) ont proposé en 2015 des recommandations visant à harmoniser l'interprétation de variants et le rendu de résultat entre les différents laboratoires de diagnostic. Néanmoins ces pratiques ne sont pas spécifiques d'un gène. Nous proposons une adaptation des recommandations pour le gène *TERC*, codant un ARN non traduit et impliqué dans les téloméropathies.

Nous avons répertorié 110 variants de *TERC* provenant de la base de données *Telomere Database* regroupant les variants décrits dans la littérature, ainsi que de notre laboratoire de diagnostic. Au total, 149 patients ont été analysés en fonction de leurs présentations cliniques (atteintes respiratoire, hématologique, cutanée et autres), de leur histoire familiale et des données fonctionnelles disponibles (la mesure de la longueur des télomères par Southern Blot ou Flow-FISH et la mesure de l'activité de la télomérase par *Telomeric repeat amplification protocol* ou TRAP).

L'exhaustivité et le contenu des critères actuels de classification ne sont pas adaptés aux caractéristiques de *TERC* ; le but de notre travail a été de créer une classification avec des critères revus et optimisés pour ce gène.

En comparant la classification ACMG/AMP de 2015 et celle adaptée à *TERC*, 10 variants de signification inconnue (classe 3) ont été reclassés en variants probablement pathogènes (classe 4), et 25 variants probablement pathogènes en variants de pathogènes (classe 5). Le nombre de variants bénin n'a pas changé. On obtient la même classe de pathogénicité pour un variant donné dans 70% des cas.

La part encore importante de VUS (28,6%) restant après l'application des critères revus peut s'expliquer d'une part par la survenue tardive des téloméropathies dans la population générale et sa variabilité d'expression, ce qui limite les études de ségrégation familiales; et d'autre part par la difficulté de mise au point des tests fonctionnels afin d'étudier l'effet *in vitro* de ces variants. Les outils de prédiction de l'effet sur l'ARN disponible en ligne constituent une aide limitée. Une étude de modélisation *in silico* de l'effet des variants sur la structure de *TERC* en collaboration avec des chercheurs (AMIBio team Laboratoire d'Informatique de l'Ecole Polytechnique) nous apporte des arguments pour conclure sur la pathogénicité de ces classes 3.

Les modifications apportées aux recommandations générales de l'ACMG ont montré que les différents gènes requièrent des arguments adaptés à leurs particularités afin de mieux interpréter leurs variants.

#20260 : Nouvelle mutation du gène MECP2 dans le syndrome de Rett

Auteurs :

Nesrine KERKENI (1), Mediha TRABELSI (1, 2), Faouzi MAAZOUZ (2, 1), Amira ZANATI (2), Ines OUERTENI (2, 1), Rim MEDDEB (2, 1), Aida ROUISSI (3), Ichraf KRAOUA (3), Maher KHARRAT (1), Ridha M'RAD (2, 1)

1. Laboratoire de génétique humaine, Faculté de médecine de Tunis, Université Tunis ElManar, Tunis, Tunisie

2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

3. Service de neurologie de l'enfant et de l'adolescent, Institut Mongi BEN HMIDA, Tunis, Tunisie

Mots clefs : MECP2, syndrome de Rett, mutation, séquençage Sanger

Résumé :**Introduction :**

Le syndrome de Rett (RTT, MIM #312750) est un trouble neurodéveloppemental progressif qui touche presque exclusivement les filles. Il se transmet selon le mode dominant lié à l'X, avec une prévalence de 1/10.000 – 15.000. Selon les critères de diagnostic clinique, on distingue la forme typique et la forme atypique.

Les mutations du gène *MECP2* (Xq28) sont responsables de 95 - 97% des Rett typiques et 0.1-75% des Rett atypiques.

Dans ce travail, on propose une analyse clinique et génétique d'une cohorte de patientes suivies pour un RTT par mutation du gène *MECP2*.

Patients et méthodes :

Etude clinique et génétique, par séquençage des exons codants du gène *MECP2*, de 22 patientes suivies pour suspicion de RTT.

Résultats :

19/22 de nos patientes répondaient aux critères diagnostiques du syndrome de Rett, dont 12 typiques et 7 atypiques (4 frustes, 2 PSV (la forme avec langage préservé) et 1 congénitale).

Le séquençage du gène *MECP2* a permis de révéler 7 mutations chez les RTT typiques : 3 non-sens (p.R225X, p.R270X, p.R168X) et une frameshift (p.K286Pfs*2) de l'exon 4 et 3 faux sens (p.R106W, p.T158M, p.R306C) touchant les exons 3 et 4. Ces mutations sont préalablement décrites aussi bien dans les Rett typiques qu'atypiques.

Parmi les patientes avec la forme fruste, 2 avaient la mutation p.R133C, 1 patiente avait la mutation non-sens p.R270X (retrouvée aussi chez une patiente PSV) et une avait une mutation non préalablement décrite à type de délétion d'une base au niveau de l'exon 4. Cette variation décalant le cadre de lecture a été prédite comme pathogène par l'analyse in silico (Mutation Taster, MutPred-indel et Provean). L'autre patiente PSV avait la mutation p.R255X. La patiente, ayant une forme congénitale, avait la mutation p.S49X habituellement décrite dans la forme typique.

Chez les 4 patientes RTT-, nous avons identifié les mutations p.R133C, p.R202H, p.R168X et p.Q437Afs*49.

Conclusions :

La confirmation moléculaire du syndrome de Rett chez des patientes à score clinique négatif, souligne l'intérêt de revoir les critères diagnostiques de ce syndrome dans notre population.

La détection d'une nouvelle mutation, décalant le cadre de lecture et touchant un domaine fonctionnellement important, permet d'élargir le spectre mutationnel de ce gène. Toutefois, une confirmation par l'étude fonctionnelle reste nécessaire.

Pièce jointe : Nouvelle mutation du gène MECP2 dans le syndrome de Rett.docx

#20240 : Description clinique et analyse de corrélation phénotype/génotype dans une cohorte de patients atteints d'une déficience intellectuelle liée à des mutations du gène PAK3**Auteurs :**

Aline VINCENT (1), Marion GERARD (2), Delphine HERON (3), Bertrand ISIDOR (4), Nathalie RONCE (5), Amélie PITON (6), Sandrine GUYON (7), Kevin DUARTE (7), Jean-Vianney BARNIER (8), Annick TOUTAIN (5)

1. Génétique Médicale, CHU Bretonneau - Tours, Tours, France
2. Génétique Médicale, CHU Caen, Caen, France
3. Génétique Médicale, APHP - Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
5. Génétique Médicale, CHU Bretonneau, Tours, France
6. Lab. mécanismes génétiques de maladies neurodéveloppementales, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
7. Neuro-PSI, CNRS, Université Paris-Sud 11, Orsay, France
8. Neuro-PSI, CNRS, University Paris-Sud, UMR9197, Paris Sud 11, Paris, France

Mots clefs : Mutations, PAK3, Déficience intellectuelle liée à l'X, Phénotype, Génotype, Clinique, Neurodéveloppement, Troubles du comportement, Microcéphalie, Agénésie du corps calleux

Résumé :

La prévalence de la déficience intellectuelle (DI) est estimée entre 2 à 3% de la population générale. Chez les individus de sexe masculin 5 à 10% des DI seraient liées à l'X. On connaît actuellement 146 gènes de DI sur le chromosome X. Le premier variant pathogène retrouvé dans le gène *PAK3* (*P21-Activated Kinase 3*) est un variant faux-sens identifié par Allen et al. en 1998 dans une famille de patients atteints d'une DI liée à l'X. Les patients, décrits comme peu dysmorphiques, avaient une microcéphalie et des troubles du comportement, hyperactivité dans l'enfance et hétéroagressivité à l'âge adulte. Notre étude multicentrique rétrospective avait pour objectif de décrire les caractéristiques cliniques des patients ayant une mutation dans le gène *PAK3* puis de faire une analyse de corrélation phénotype/génotype. Elle a porté sur dix patients recrutés en France et quarante-cinq patients de la littérature. Nous avons retrouvé une DI non spécifique associée à une hypotonie dans 92% des cas, un retard de langage dans 91%, une microcéphalie dans 46% et des réflexes vifs dans 32% des cas. Les troubles du comportement présents chez 97% des patients sont au-devant du tableau clinique avec une auto- ou une hétéroagressivité dans 58% des cas et une psychose dans 26% des cas. Sur le plan morphologique, il n'existe pas de caractères spécifiques, mais des oreilles longues sont retrouvées chez 60% des patients et un palais creux chez 71%. Enfin, une agénésie du corps calleux est retrouvée dans 42% des cas mais peu de patients ont eu une IRM cérébrale. Au total, 14 patients issus de 4 familles ont une mutation nulle et 40 patients issus de 12 familles ont une mutation faux-sens. Nous n'avons pas mis en évidence de corrélation génotype-phénotype significative, notamment les patients ayant une mutation nulle n'ont pas une atteinte clinique plus sévère que les autres. Une nouvelle étude avec un plus grand nombre de patients et davantage de données d'imagerie cérébrale serait intéressante pour évaluer la fréquence de l'agénésie du corps calleux et définir si elle est liée à certains types de mutations.

#20119 : Particularités biochimiques d'une tyrosinémie typée hépatorénale.

Auteurs :

Nadia GAGI (1), ANIS NASSRALLAH TARAFI (1), AMIRA OUZNADJI (1), Lyèce YARGUI (1)

1. , CHU Mustapha d'Alger, Alger, France

Mots clefs : La tyrosinémie hépatorénale, tyrosinémie héréditaire de type I (THI), Fumarylacétoacétate Hydrolase (FAH), Succinylacétone (SA).

Résumé :

La tyrosinémie hépatorénale ou tyrosinémie héréditaire de type I (THI) est une maladie à transmission autosomique récessive, due à une déficience en Fumaryl Acétoacétate Hydrolase (FAH), enzyme impliquée dans la dernière étape du catabolisme de la tyrosine, responsable de l'accumulation du Fumarylacétoacétate (FAA), Succinylacétoacétate (SAA) et du Succinylacétone (SA) toxiques pour le foie et les reins.

Nous rapportons le cas de deux jumeaux, de parents consanguins, nés à terme et bien portant présentant des antécédents de THI dans la fratrie, adressés à notre niveau dans le cadre d'un dépistage ciblé de THI.

Le dosage du SA urinaire, marqueur pathognomonique de la maladie, à 20 jours de vie est revenu normal (< 10 µmol/l), à l'âge de 2 mois les deux jumeaux présentent une insuffisance hépatocellulaire (TP : 15 et 19% respectivement), un deuxième dosage du SA urinaire a été réalisé, le diagnostic de certitude de la THI a été retenu devant l'élévation du taux du SA urinaire chez les deux garçons (SA à 29 et 20 µmol/l respectivement).

Bien que le dosage du SA permet d'affirmer avec certitude le diagnostic de la THI, l'élévation de ce dernier chez ces deux jumeaux n'a pu être détecté qu'après deux mois de vie, contrairement aux formes classiques où le taux de SA est élevé dès la naissance. Cette variabilité d'expression peut être liée à l'hétérogénéité des mutations impliquées dans la THI ainsi qu'à l'action de nombreux facteurs modificateurs encore peu connus. En effet plus de 100 mutations du gène FAH ont été associées à la THI, mais aucune corrélation entre le génotype et le phénotype n'a été rapportée.

Pièce jointe : Particularités biochimiques d'une tyrosinémie typée hépatorénale.docx

#19924 : Développement d'un panel de 15 marqueurs pour une identitovigilance des échantillons analysés en exome par NGS

Auteurs :

Francis Rousseau (1), Francis Rousseau (1), Jean-François Taly (1), Claire Ploton-Nicollet (1), Mohamed Taoudi (1), Raymond Laure (1)

1. Génétique, Eurofins Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : Identitovigilance, génotypage SNP, NGS

Résumé :

La maîtrise de l'identitovigilance est un élément crucial en laboratoire de diagnostic.

Nous avons développé une approche consistant à génotyper 15 marqueurs polymorphes, et à comparer les résultats obtenus à ceux déterminés par la technique principale (exome, SNP array ou panels).

Cette approche d'identitovigilance utilise un panel de 14 SNP, et un marqueur de sexe Amelogenin (AMLXY). Les SNP ont été sélectionnés selon les critères suivants :

- Fréquence de l'allèle mineur > 30% dans la population 1000 Genomes,
- Profondeur de couverture dans l'analyse d'Exome > 30x.

L'utilisation de ce panel garantit en théorie l'unicité d'un échantillon, avec une probabilité d'identité entre deux échantillons de l'ordre de 1 sur 5 millions.

Cette technique utilise un équipement courant au sein d'un laboratoire de génétique médicale et se déroule selon les étapes suivantes :

- 1) Extraction d'ADN.
- 2) Pré-amplification multiplex (15 couples d'amorces encadrant chaque locus polymorphe).
- 3) PCR-allèle spécifique (AS-PCR) multiplex (amplification spécifique de tous les allèles présents avec génération d'amplicons fluoromarkés pour les 15 marqueurs).
- 4) Migration sur un ABI 3130XL pour discriminer les deux allèles (la taille de l'amplicon de l'allèle référent du SNP est supérieure de 5 bases à la taille de l'amplicon de l'allèle alternatif).
- 5) Attribution automatique des génotypes : comparaison de l'intensité des pics de chaque allèle, un allèle est considéré comme présent si son intensité est au moins égale à 30% de la somme des intensités des deux allèles.
- 6) Etablissement du taux de concordance par échantillon entre le résultat de ce génotypage et la technique principale (exome, panel, SNP-array). (Script bioinformatique).
- 7) Comparaison entre les échantillons traités dans une même série.

436 échantillons ont été séquencés (Exome) et génotypés. La comparaison des génotypes deux à deux réalisée sur les 436 échantillons (soit 94830 comparaisons) montre que :

- Aucune paire ne présente de profil identique sur les 15 marqueurs.
- Une seule paire présente des génotypes identiques sur 14 des 15 marqueurs. Il s'agit de deux apparentés (mère-fille), issues d'une famille à fort taux de consanguinité.
- 99,98% des paires testées présentent moins de 12 génotypes identiques.

Actuellement, nous testons la possibilité de génotyper directement ce panel sur sang total, sans extraction d'ADN, afin de garantir l'identitovigilance sur toutes les étapes réalisées au laboratoire.

Enfin, nous allons étendre son utilisation pour les échantillons analysés en NGS sur des panels de gènes ou sur puce SNP pour l'analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA).

#20217 : Validation de méthode : préparation automatisée de librairies/captures associée au séquenceur NextSeq550TM Illumina, en oncogénétique**Auteurs :**

Nathalie AUBERVAL (1), Carole CHERY (1), Evelyne GRESSION (1), Claire BRUMM (1), Didier DE BORTOLI (1), Charlotte FELICI (1), Céline BONNET (1), Sarab LIZARD (1)

1. Laboratoire de génétique, CHRU Nancy-Brabois, Vandoeuvre-les-Nancy, France

Mots clefs : oncogénétique, NGS, librairies et captures automatisées, séquençage Illumina

Résumé :

Le séquençage à haut débit ou NGS (Next-generation sequencing) a pris une ampleur importante en diagnostic oncogénétique. L'analyse des cas index par panel de gènes est devenue systématique dans tous les laboratoires, avec près de 92% de cas index ayant eu recours au NGS en 2017, contre 83% en 2016 et 73% en 2015 (INCa, 2019). Au laboratoire de génétique du CHRU de Nancy, la recherche de prédisposition aux cancers (sein/ovaire, appareil digestif ou prostate) par panel de 32 gènes est en routine avec une préparation manuelle des librairies d'ADN et des captures suivie du séquençage sur Ion Proton (Life Technologies). Dans le but d'optimiser les délais de rendus, le débit, la sensibilité des analyses et l'ouverture à d'autres panels, nous avons combiné deux technologies récentes : la préparation des librairies et captures de façon automatisée avec le robot pipeteur Zéphyre® (PerkinElmer) suivie du séquençage sur NextSeq550™ (Illumina). Ce résumé présente notre programme de validation.

Vingt-quatre patients porteurs de variants déjà validés sont sélectionnés : 16 variations ponctuelles, 3 délétions/insertions et 5 grands réarrangements. Le programme de validation comporte deux puces de séquençage avec deux runs Zéphyre® chacune et des échantillons en duplicat et triplicat pour déterminer la répétabilité et la reproductibilité intra/inter puce des runs Zéphyre® et du séquençage. Les librairies et captures sont réalisées avec le kit Custom HCS (Hereditary Cancer Solution, Sophia Genetics). Une comparaison entre le Zéphyre® et une préparation manuelle est aussi effectuée. Le séquençage est réalisé sur une puce Mid-Output (Illumina) avec une lecture en double sens « paired-end » (2 x 150 pb). Les données nécessaires à l'analyse bio-informatique par Sophia Genetics sont obtenues par transformation des données de séquençage par le logiciel bcl2fastq (Illumina).

Les résultats montrent que la technique automatisée permet de traiter 48 librairies et 8 captures en une journée, contre 24 librairies et 2 captures en technique manuelle. La qualité de séquençage (Q_{30}) est supérieure à 75%, avec une valeur moyenne de 83,3%. Cependant, la densité de cluster générée est légèrement supérieure aux valeurs attendues (170-230 K/mm²), soit 287 K/mm² en moyenne. Le nombre moyen de reads obtenu est de 3079844 avec 98,12% alignés sur le génome dont 91,54% totalement ou partiellement alignés sur la région cible (on-target et flanking). Pour une couverture minimale de 90% de la région cible, la profondeur moyenne est de 1016. Ces résultats sont en accord avec les valeurs attendues. De plus, tous les variants recherchés ont été identifiés.

Nous démontrons dans ce travail que l'association de la plateforme automatisée Zéphyre® avec le séquenceur NextSeq550™ est très prometteuse en diagnostic de routine pour l'oncogénétique. La démarche et les résultats précis de la validation de cette combinaison seront détaillés sur l'affiche du poster.

Pièce jointe : AUBERVAL N - Résumé Assises de génétique 2020 soumis.pdf

#20561 : Paysage pharmacogénomique de la réponse au traitement du syndrome métabolique et ses composantes en Tunisie et comparaison avec les populations mondiales

Auteurs :

Haifa JMEL (1, 2), Lilia Romdhane (1, 3), Yosra Ben Halima (1), Meriem Hechmi (1, 2), Chokri NAOUALI (1), Hamza DALLALI (1, 2), Yosr HAMDI (1), Jingxuan SHAN (4), Abdelmajid ABID (1), Henda JAMOUCSI (5), Lotfi CHOUCANE (4), Donata LUISELLI (6), Sonia ABDELHAK (1), Rym KEFI (1)

1. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Université de Carthage, Université de Carthage, Tunis, Tunisie
3. Université de Carthage, Faculté des sciences de Bizerte, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire de médecine génétique et d'immunologie, Weill Cornell Medical College , Doha, Qatar
5. Département de la consultation externe, Institut national de la Nutrition et de la Technologie Alimentaire, Tunis, Tunisie
6. Laboratoire d'Anthropologie Moléculaire, Département des sciences biologiques, géologiques et environnementales, Université de Bologne, Bologne, Italie

Mots clefs : Syndrome métabolique, pharmacogénomique, réponse aux médicaments, population, polymorphismes

Résumé :

La variation génétique est un déterminant important influant la réponse aux médicaments ou la sensibilité aux effets indésirables des médicaments. Plusieurs études ont mis en évidence l'importance de l'ethnicité dans la variabilité de la réponse aux médicaments et qui devrait être prise en compte lors du développement des molécules thérapeutiques. Notre objectif est de caractériser la variabilité génétique de certains gènes impliqués dans la réponse aux médicaments « very important *pharmacogenes* (VIP) » utilisés pour le traitement du syndrome métabolique (Smet) en Tunisie et de comparer nos résultats avec les données sur les populations mondiales. Un groupe de 135 Tunisiens a été génotypé en utilisant une puce de génotypage *Affymetrix Chip 6.0*. Les variants communs localisés dans 24 gènes VIP impliqués dans la réponse au traitement du Smet ont été extraits des données de génotypage et des données de 22 populations mondiales accessibles au public. L'analyse de la distribution de ces variants a été réalisée à l'aide du logiciel Plink et R. L'analyse multidimensionnelle a montré que la population tunisienne se regroupe avec les populations nord-africaines et européennes. La plus grande divergence a été observée avec les populations sud-africaines et asiatiques. En outre, nous avons effectué une comparaison inter-ethnique basée sur les fréquences génotypiques de cinq biomarqueurs rs3846662, rs1045642, rs7294, rs12255372, et rs776746 localisés respectivement dans les gènes *HMGCR*, *ABCB1*, *VKORC1*, *TCF7L2* et *CYP3A5*. A l'exception du variant rs776746, les fréquences de ces variants sont similaires entre les tunisiens et les européens. La fréquence génotypique du variant rs776746 situé dans le gène *CYP3A5* est similaire entre la population tunisienne et africaine et différente de la population européenne. La présente étude montre que la composition génétique de la population tunisienne est relativement complexe en ce qui concerne les gènes de réponse aux traitements. Il est important de tenir compte de cette différence ethnique dans la prescription des médicaments afin d'optimiser la réponse aux médicaments et d'éviter les effets indésirables graves. En tenant compte des similitudes avec d'autres populations voisines, notre étude a un impact non seulement sur la population tunisienne mais aussi sur les populations nord-africaines qui sont sous-représentées dans les études pharmacogénomiques.

#20040 : Une mutation homozygote du gène GRN associée à une démence fronto-temporale

Auteurs :

Fabienne Clot (1), Laureen Chat (1), Isabelle David (1), Kathy Larcher (1), Benoit Rucheton (2), Foudil Lamari (2), Sylvie Forlani (3), Ludmila Jornea (3), Isabelle Le Ber (3, 4), Eric LeGuern (1, 3)

1. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Biochimie Métabolique, AP-HP, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Sorbonne Université, UPMC Univ Paris 06, Inserm U1127, CNRS UMR 7225, Institut du Cerveau et la Moelle épinière (ICM), AP-HP, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Centre National de Référence des Démences Rares, AP-HP, GH Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : GRN, mutation homozygote, démence fronto-temporale, lipofuscinose-11 neuronale, mutation d'épissage

Résumé :

Les mutations homozygotes du gène de la progranuline (*GRN*) sont associées à la lipofuscinose-11 neuronale (CLN11), un trouble rare du stockage lysosomal caractérisé par une ataxie cérébelleuse, des convulsions, une rétinite pigmentaire et des troubles cognitifs, débutant entre 20 et 25 ans. En revanche, les mutations hétérozygotes du gène *GRN* sont l'une des principales causes de la démence fronto-temporale (DFT).

Nous rapportons de manière inattendue une patiente porteuse d'une mutation homozygote du gène *GRN* présentant une DFT et aucun signe associé au syndrome CLN11. La patiente a présenté à l'âge de 56 ans des hallucinations visuelles et 2 ans plus tard des troubles du langage et du comportement compatibles avec un diagnostic de DFT. L'examen a révélé un syndrome akinéto-rigide. L'IRM cérébrale a montré une atrophie cortico-sous-corticale prédominante dans le lobe temporal droit et le dosage plasmatique de la progranuline sur deux prélèvements indépendants a révélé des taux abaissés (30 et 39 µg/L). Aucun antécédent de DFT n'est rapporté dans la famille avec une censure du côté paternel. La patiente a deux enfants âgés de 22 et 27 ans, asymptomatiques avec des taux de progranuline plasmatique abaissés (53 et 56 µg/L respectivement).

La mutation identifiée dans le gène *GRN* est une mutation d'épissage c.709-3C > G de l'intron 7, présente à l'état homozygote chez la patiente et hétérozygote chez ses deux enfants. D'après les scores de prédictions de pathogénicité réalisés à l'aide de logiciels, la mutation entraîne une diminution du score d'épissage de l'intron 7 conduisant probablement à un ARNm anormal. L'étude des transcrits, réalisée à partir de cultures lymphocytaires traitées à l'émétine, a montré la présence d'un fragment de taille attendue (178 pb) et un fragment de taille supérieure (414 pb). Le séquençage du fragment de 414 pb révèle la rétention de l'intron 7 de 236 pb conduisant à un frame shift et à l'apparition d'un codon stop en position 98 (p.Ala237Valfs*98). La RT-PCR quantitative en temps réel montre que les transcrits de la protéine normale sont présents mais à des taux diminués chez la patiente (3 fois moins) par rapport à ses deux enfants.

Cette mutation, même à l'état homozygote, permet donc la synthèse d'une proportion résiduelle de protéine normale ce qui est cohérent avec le taux de progranuline plasmatique non nul et un phénotype tardif de DFT.

Cette étude montre qu'une mutation homozygote du gène *GRN* ne conduit pas forcément à un syndrome CLN11 mais peut entraîner tout comme une mutation à l'état hétérozygote une DFT. Cette étude a également un impact important sur la pratique clinique, le conseil génétique et le diagnostic moléculaire. La transmission récessive ou hétérozygote des mutations du gène *GRN* implique que des conseils génétiques spécifiques soient apportés aux parents des patients atteints du syndrome CLN11, car ceux-ci sont des porteurs hétérozygotes pouvant présenter un risque élevé de développer une DFT.

Pièce jointe : Assises de génétique humaine et médicale 2020_CLOT_F.docx

#20178 : Encéphalopathie épileptique et variants faux-sens bialléliques du gène ATP1A2 : un phénotype atténué ?**Auteurs :**

Kévin Uguen (1, 2), Sylvia Redon (1, 2), Séverine Audebert-Bellanger (1), Caroline Benech (2), Jamel Chelly (3), Cédric Le Maréchal (1, 2), Claude Ferec (4)

1. Service de génétique médicale, CHRU de Brest, Brest, France
2. Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, UBO, Brest, France
3. CNRS UMR7104, INSERM, U964, IGBMC, Strasbourg, France
4. Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, Service de génétique médicale, CHRU de Brest, Brest, France

Mots clefs : Exome, Encéphalopathie Epileptique, ATP1A2

Résumé :

Les encéphalopathies épileptiques (EE) forment un large groupe hétérogène d'épilepsies sévères responsables d'un retard de développement. L'arrivée des nouvelles technologies de séquençage a permis la découverte de nombreux nouveaux gènes impliqués dans les EE, et plus largement dans l'épilepsie, certains codant des transporteurs ioniques (canaux ioniques, récepteurs aux neurotransmetteurs...). Le gène *ATP1A2* est connu pour être impliqué dans des atteintes neurologiques variées. Les variations faux-sens à l'état hétérozygote sont associées à des formes familiales de migraine hémiplegique, alors que les variations tronquantes à l'état homozygote ou hétérozygote composite ont été récemment associées à des formes sévères de polymicrogyrie léthale (Monteiro *et al.*, EJMG 2019, Chatron *et al.*, Brain 2019). Nous présentons ici pour la première fois les cas de deux frères présentant une EE due à des variants faux-sens gène *ATP1A2*.

Le cas index est un enfant de 11 ans présentant une encéphalopathie épileptique sévère avec à l'IRM une polymicrogyrie et une atrophie cortico-sous-corticale. Il présente également une insuffisance respiratoire et un asthme. Son plus jeune frère présente une forme moins sévère d'encéphalopathie avec retard de développement sans anomalie cérébrale. Il présente également un asthme associé à un syndrome d'apnée obstructive du sommeil. Ils sont issus d'une union non consanguine. Les premières analyses génétiques (caryotype, CGH-array, panel de gènes d'encéphalopathie épileptique et de gènes d'anomalies du développement cortical) sont revenues normales. Un séquençage d'exome chez le frère aîné a mis en évidence la présence de deux variations faux-sens à l'état hétérozygote (NM_000702.3: c.721T > C et c.2694C > A), chacune héritée d'un parent. Ces deux variations sont absentes des bases de données de population et prédites pathogènes par les outils de prédiction *in silico*. Une analyse par Sanger a confirmé la présence de ces deux variations chez le cas index et chez son frère.

Les descriptions de variations faux-sens à l'état biallélique du gène *ATP1A2* sont rares. Deux cas ont été décrits à ce jour, l'un présentait une forme de migraine hémiplegique d'apparition précoce (Vanmolkot *et al.*, EJHG 2007), l'autre une épilepsie et hémiplegie (Wilbur *et al.*, Pediatr Neurol 2017). Le gène *ATP1A2* code l'isoforme alpha-2 de la pompe Na⁺/K⁺ ATPase, forme fortement exprimée dans le muscle et le cerveau. Les souris KO présentent une forme sévère d'insuffisance respiratoire avec décès précoce. L'insuffisance respiratoire est également un signe retrouvé chez les patients présentant des variations tronquantes, tout comme dans notre famille. Les cas présentés ici montrent qu'il existe probablement un spectre phénotypique dans les pathologies dues au gène *ATP1A2*, avec des formes atténuées et une variabilité phénotypique (ici intrafamiliale) dans le cas de variants faux-sens. Des analyses fonctionnelles sont à prévoir afin de confirmer cette hypothèse.

Pièce jointe : AGHM2020_ATP1A2.docx

#20559 : Diagnostic prénatal de la trisomie 21 : à propos d'une série tunisienne de 60 cas.

Auteurs :

sana gabteni (1), ridha mrad (1), Ines ouarteni (1), Sonia Ben Hammouda (2)

1. service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital charles nicolle, tunis, Tunisie
2. service de gynécologie, hôpital charles nicolle, tunis, Tunisie

Mots clefs : diagnostic prénatal, trisomie 21, population tunisienne

Résumé :

Introduction :

La trisomie 21(T21) est l'anomalie chromosomique viable la plus fréquente chez l'homme. Elle représente la principale cause génétique de retard mental d'où l'intérêt du diagnostic prénatal. En effet, Il est indiqué devant des signes d'appel échographiques fœtaux, un dépistage sérique anormal chez la mère, des anomalies chromosomiques lors d'une grossesse antérieure, devant une translocation équilibrée impliquant le chromosome 21 chez un des parents, ou lorsque l'âge maternel dépasse les 38 ans.

L'objectif de notre travail est de rapporter l'expérience de notre service en matière de diagnostic prénatal (DPN) de la T21 en évaluant les indications, la stratégie de dépistage adoptée et les résultats obtenus.

Matériels et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective de 60 DPN de trisomie 21 menée au service des maladies congénitales et héréditaires de l'hôpital Charles Nicolle à Tunis sur une durée allant de janvier 2018 à octobre 2019.

Un caryotype fœtal a été pratiqué chez toutes les patientes. Dans douze cas, on a eu recours à l'hybridation Fluorescente In Situ (FISH) vu le terme avancé de la grossesse.

Résultats :

L'âge moyen des patientes au moment du DPN est de 38,5 ans avec des extrêmes de 20 et 46 ans. Il s'agit de 7 biopsies trophoblastiques et 53 liquides amniotiques avec un terme moyen de 16 semaines d'aménorrhée.

L'indication d'une amniocentèse d'emblée pour âge maternel avancé était posée chez trois patientes âgées de 43 ans et 44 ans.

La clarté nucale n'a été mesurée que dans 32 cas. Elle était pathologique chez 15 patientes. Les marqueurs sériques du deuxième trimestre étaient pathologiques chez 26/60 patientes.

Concernant l'exploration échographique du deuxième et du troisième trimestre on a pu noter :

- Une cardiopathie à type de canal atrioventriculaire (CAV) chez cinq fœtus, un canal inter-auriculaire avec transposition des gros vaisseaux chez un fœtus
- Une ventriculomégalie chez trois patientes.
- Un fémur court inférieur au 10e percentile chez deux fœtus. Cette anomalie était associée à une agénésie vermineuse dans un cas.
- un retard de croissance intra-utérin harmonieux (<3e percentile) chez deux fœtus avec des biométries inférieures.
- Des anomalies digestives à type d'atrésie duodénale chez un fœtus et d'intestins hyper-échogènes chez deux autres.
- une anasarque fœtoplacentaire dans deux cas.

Une trisomie 21 libre et homogène a été objectivée dans tous les cas.

Parmi les 60 patientes, 37 ont eu une interruption médicale de grossesses.

Conclusion :

Malgré le progrès qu'on a pu réaliser dans le domaine du dépistage et du DPN, le nombre de naissances vivantes de nouveau-nés T21 ne semble pas baisser. Cela est dû en majeure partie à l'absence de stratégie de dépistage codifiée. Il faudrait établir un programme national de santé en collaboration avec les caisses de sécurité sociale où les outils de dépistage des anomalies chromosomiques notamment la T21 deviennent obligatoires.

#20058 : Etude de corrélation génotype-phénotype d'une cohorte de 37 cas porteurs de variants pathogènes bi-alléliques OTOF ; un préalable à la thérapie génétique**Auteurs :**

sophie ACHARD (1), Laurence JONARD (2), Natalie LOUNDON (3), Marine PARODI (1), Vincent COULOIGNIER (4), Laurence PERRIN (5), Salima EL CHEHADEH (6), Catherine VINCENT-DELRORME (7), Sandrine MARLIN (8)

1. ORL, Hôpital Necker; APHP, Paris, France
2. CRMR Surdités Génétiques, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. ORL, CRMR Surdités Génétiques, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. ORL, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
7. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, CHRU LILLE, Lille, France
8. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : Surdité, OTOF, Neuropathie auditive

Résumé :

Les neuropathies auditives représentent 5 à 10% des déficits auditifs de l'enfant. Les variations bi-alléliques pathogènes d'OTOF sont responsables de surdités autosomiques récessives DFNB9. Une étude préalable retrouve que 27% des neuropathies auditives sont liées à OTOF. L'otoferline est une protéine présente au sein des synapses des cellules ciliées internes où elle joue un rôle dans l'exocytose calcium-dépendant des vésicules.

Nous avons de manière rétrospective étudié les corrélations génotype-phénotype de 37 cas issus de 30 familles présentant des variations bi-alléliques pathogènes d'OTOF. Dix-sept nouveaux variants pathogènes ont été mis en évidence.

Tous les patients présentaient une neuropathie auditive isolée. Le déficit auditif était pré lingual dans 78% des cas, et profond pour 70% des patients. La surdité était évolutive dans 30%, fluctuante dans 30% et sensible à la température dans 22%. Le diagnostic de neuropathie auditive était principalement posé par la discordance des tests électrophysiologiques de l'audition avec des otoémissions acoustiques présentes (78%) et une absence ou désynchronisation des potentiels évoqués auditifs (81%).

Tous les patients porteurs homozygotes ou hétérozygotes composites de variants « perte de fonction » avaient un déficit auditif profond bilatéral congénital, ceux hétérozygotes composites avec un variant « perte de fonction » et un variant « faux sens » avaient une clinique plus variable dont cinq, avec un déficit profond congénital. Ceux porteurs de deux variations faux sens avaient un déficit auditif de léger à sévère, pouvant être d'apparition secondaire.

Près de la moitié de notre population a bénéficié d'une réhabilitation par implant cochléaire (54%) dont 16% en bilatéral. Notre étude confirme une bonne réhabilitation auditive par l'implant cochléaire avec une perception de mots passant de 0% avant la chirurgie à 80% à 8 ans post-implantation. Cependant l'implantation cochléaire ne peut pour être considérée comme un traitement (gène dans le bruit, difficultés sociales et pour l'intégration professionnelle, rééducation orthophonique au long cours ...). Les essais de thérapie génique chez les souris adultes *otof*^{-/-} ont montré une réhabilitation auditive prolongée permettant d'envisager un essai thérapeutique à court terme de cette forme précoce de surdité isolée (RHU AUDINNOVE 2019).

L'étude de phénotypage/génotypage de notre cohorte est un préalable indispensable à ce futur essai thérapeutique.

#20552 : Ciblage thérapeutique des cellules souches cancéreuses mammaires

Auteurs :

Abir Arfaoui (1, 2), Claire Rioualen (3), Violette Azzoni (1), Guillaume Pinna (4), Pascal Finetti (5), Julien Wicinski (1), Emmanuelle Josselin (6), Manon Macario (1), Rémy Castellano (6), Candi Léonard-Stumpf (1), Anthony Bal (1), Abigaëlle Gros (1), Sylvain Lossy (4), Maher Kharrat (7), Yves Collette (6), Francois Bertucci (5), Daniel Birnbaum (5), Hayet Douik (7), Ghislain Bidaut (5), Emmanuelle Charafe-Jauffret (1), Christophe Ginestier (1)

- 1. Epithelial Stem Cells and Cancer Lab, Institut Paoli-Calmettes, CRCM, Marseille, France
- 2. LR99ES10 Laboratoire de Génétique Humaine, Université de Tunis El Manar, Faculté de Médecine de Tunis, Tunis , Tunisie
- 3. Plateform Integrative Bioinformatics, Cibi, Institut Paoli-Calmettes, CRCM, Marseille, France
- 4. Plateforme ARN Interférence, Service de Biologie Intégrative et de Génétique Moléculaire (SBIGeM), I2BC, CEA, CNRS, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France., CNRS, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France
- 5. Molecular Oncology , Institut Paoli-Calmettes, CRCM, Marseille, France
- 6. TrGET Plateform, Institut Paoli-Calmettes, CRCM, Marseille, France
- 7. LR99ES10 Laboratoire de Génétique Humaine, Université de Tunis El Manar, Faculté de Médecine de Tunis , Tunis , Tunisie

Mots clefs : cancer du sein, CSC, hétérogénéité , Salinomycine, JQ1, miféprestone

Résumé :

L'hétérogénéité tumorale observée dans le cancer du sein est à l'origine des échecs cliniques et ce, malgré un important arsenal thérapeutique. Cette hétérogénéité s'explique par la présence, au sein de la tumeur d'une population minoritaire de cellules, les cellules souches cancéreuses (CSC). Ces CSC sont responsables des résistances aux traitements conventionnelles à l'origine des rechutes et des métastases. Un meilleur décryptage des programmes régulant les propriétés essentielles de ces cellules (à savoir l'auto-renouveau et la différenciation) est une étape cruciale pour le développement de nouvelles thérapies.

Dans ce projet, nous avons donc effectué un criblage pan-génomique (18000 gènes) à haut débit (**HTS : High Throughput pan-genomic screening**) d'une banque d'ARN interférants (ARNsi) sur la lignée cellulaire SUM159 du cancer du sein. Les données générées par le HTS ont été analysées à l'aide de l'algorithme « HTS-Net » afin de mettre en évidence les gènes jouant un rôle majeur dans la biologie de CSC mammaires. Nous avons identifié ainsi 11 sous-réseaux de gènes, qui une fois inhibés, pouvaient augmenter ou diminuer la population de CSC.

Notre étude ayant pour objectif principal l'identification d'un nouveau traitement anti-CSC, nous avons sélectionné 15 composés inhibiteurs ciblant 8 des 11 sous-réseaux identifiés. L'effet de chaque composé a été testé *in vitro* sur les CSC de cinq lignées cellulaires différentes de cancer du sein. Trois composés réduisant de manière significative les populations de CSC ont ainsi été identifiés: la Salinomycine qui est inhibiteur de l'autophagie, la Mifépristone, inhibant le récepteur des glucocorticoïdes) et JQ1, présentant un rôle inhibiteur du complexe médiateur. De plus, les combinaisons, deux à deux, réalisées *in vitro* et *in vivo* pour les trois drogues identifiées (Salinomycine, JQ1, Mifépristone) ont montré que l'association Salinomycine- JQ1 s'avérait être la plus efficace dans la diminution de la population de CSC et le développement des métastases.

En conclusion, les cellules souches cancéreuses pourraient constituer une cible thérapeutique pertinente dans le traitement du cancer du sein et éventuellement dans d'autres types de cancer. Notre étude propose une nouvelle stratégie thérapeutique anti-CSC mammaires qui pourrait conduire à un contrôle plus efficace du développement de la tumeur et à la prévention de la résistance au traitement.

#20360 : Une mutation tronquante activatrice du gène MET

Auteurs :

Anne Schnitzler (1), Olfa Trabelsi Grati (1), Elisabeth Longchamp (2), Anaïs Curto Taribo (1), Chloé Derouet (3), Elsa Hua (3), Frédéric Maraone (3), Audrey Margogne (3), Pascal Portois (1), Mathieu Séné (3), Céline Callens (3), Ivan Bièche (3), Sandrine Caputo (1), Samia Melaabi (3)

1. Service de génétique, Institut Curie, PARIS, France
2. Service d'anatomie pathologique, Hôpital Foch, Suresnes, France
3. service de génétique, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : MET ; épissage ; saut d'exon 14

Résumé :

MET (*Mesenchymal Epithelial Transition*) est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase. Suite à la fixation de son ligand, l'HGF (*Hepatocyte growth factor*), ce proto-oncogène active principalement les voies RAS/RAF/MAPK, PI3K/AKT/MTOR, SRC/FAK et JUN stimulant ainsi la survie, la prolifération, la migration cellulaire. Les mutations somatiques du gène *MET* d'intérêt thérapeutique sont les variants se situant sur les introns 13 et 14 et sur l'exon 14 pour les cancers broncho-pulmonaires. Ces variants éliminent le domaine de fixation à l'ubiquitine ligase ou ils empêchent la fixation de cette ligase à la protéine MET. L'ubiquitine ligase est une protéine de dégradation de MET. La protéine MET mutée est plus stable et la signalisation de cette protéine est anormalement prolongée après fixation de l'HGF. Les patients porteurs de ces mutations répondent au traitement par des inhibiteurs de tyrosine kinase ciblant MET dont le crizotinib.

Le cas présenté ici est celui d'un homme de 57 ans avec un cancer d'origine pulmonaire métastaté au niveau osseux. Il a pour antécédent notable un cancer colique en 2017. Le prélèvement tumoral analysé était issu d'une pièce opératoire de la paroi thoracique postérieure. Il a été détecté une mutation tronquante du gène *MET* par séquençage haut débit (MiSeq, Illumina) avec un panel dont le design était « maison » comprenant notamment les principaux oncogènes des cancers pulmonaires. La mutation détectée se situait sur le codon 989 au début de l'exon 14 (c.2967C > G, p.(Tyr989*) (NM_001127500.2)). Les outils de prédiction d'altération de l'épissage SpliceSiteFinder-like et MaxEntScan ne prédisaient pas d'impact sur l'épissage. L'ARNm de cet échantillon tumoral a été analysé par RT-PCR et mettait en évidence un saut de l'exon 14 du gène *MET*.

Cette mutation n'a pas été rapportée dans la littérature. Plusieurs cas de mutation tronquante du gène *MET* ont été décrits (Prat, Mol Cell Biol, 1991, TCGA, Nature, 2014,). La seule mutation dont l'effet délétère a été bien caractérisé se situait sur l'exon 14, sur le codon 1021 et était à l'origine d'un saut de l'exon 14 (TCGA, Nature, 2014).

#19999 : Déficit constitutionnel isolé sévère en facteur II de la coagulation chez une famille marocaine

Auteurs :

Fatima Zahra OUTTALEB (1), Bouchra OUKKACHE (1)

1. Laboratoire d'hématologie. Unité d'exploration de l'hémostase, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Université Hassan II, Casablanca, Maroc

Mots clefs : troubles d'hémostase, prothrombine, déficit constitutionnel isolé sévère, enquête familiale.

Résumé :

Introduction :

Le facteur II, ou prothrombine, est un facteur de coagulation, vitamine K-dépendant, qui appartient au complexe prothrombinique. Le déficit en prothrombine est l'un des plus rares déficits en facteurs de coagulation.

Les objectifs de cette étude est de montrer l'importance du diagnostic positif de cette pathologie hémorragique constitutionnelle rare, du dosage des facteurs de coagulation en cas d'anomalie du bilan de l'hémostase, ainsi que d'une enquête familiale en cas de découverte d'un déficit congénital isolé en facteurs de la coagulation.

Patient et méthodes :

Nous rapportons l'observation d'une patiente suivie au niveau du CHU Ibn Rochd de Casablanca depuis janvier 2019, pour un déficit constitutionnel isolé sévère en facteur II de la coagulation.

Observation :

Il s'agit de la patiente G.K, âgée de 26 ans, mère de deux enfants, suivie pour troubles d'hémostase de découverte fortuite, au cours du bilan pré-opératoire d'un kyste hydatique du foie. L'interrogatoire retrouve plusieurs antécédents d'hémorragies aiguës de grande abondance, ayant nécessité des hospitalisations en urgence avec des transfusions sanguines de culots globulaires. L'examen clinique est revenu normal, avec absence de signes hémorragiques cutanéomuqueux, ou de signes de maladies auto-immunes.

Sur le plan biologique, le bilan d'hémostase, réalisé par méthode chronométrique sur l'automate Sysmex 5000, et recontrôlé à deux reprises, retrouve des anomalies des voies endogène et exogène de la coagulation, avec un taux de prothrombine bas à 8 %, un temps de céphaline activé allongé à 149.6 secondes. L'étude de l'hémostase a été complétée par la mise en évidence de l'absence d'anticorps anti-coagulants circulants, puis par le dosage chronométrique de l'activité enzymatique de tous les facteurs de coagulation de la voie commune, qui a retrouvé un taux bas isolé du facteur II < 1 % (taux normal entre 70 et 140%). Ceci a permis de retenir le diagnostic de déficit constitutionnel isolé sévère en prothrombine.

L'enquête familiale réalisée a permis de retrouver une notion de consanguinité au 4^{ème} degré, et de confirmer un déficit constitutionnel isolé sévère en facteur II chez une sœur âgée de 31 ans.

Discussion :

Les déficits rares en facteurs de la coagulation ne représentent que 3 à 5 % des déficits congénitaux, les plus rares parmi eux étant les déficits en facteur II et les déficits combinés.

Le déficit congénital en prothrombine est une maladie génétique rare à transmission autosomique récessive. Sa prévalence est de 1/2 000 000, avec un sexe ratio : H= F.

Ce déficit congénital est responsable d'hémorragies variables selon la sévérité du déficit; hémarthrose, hémorragies cérébro-méningées, saignements excessifs après chirurgie, ou bien un accouchement, et il est souvent asymptomatique chez les hétérozygotes, comme c'est le cas chez les deux parents, ainsi que les enfants de la patiente G.K, le taux minimal asymptomatique en facteur II étant > 10 %.

#20088 : Prédisposition héréditaire aux cancers : A propos de trois nouveaux cas de double hétérozygotie et revue de la littérature.**Auteurs :**

Armelle LUSCAN (1), Jean-Marc COSTA (1), Sylviane OLSCHWANG (2, 3), Claude ADENIS (2), Mylène VALDUGA (1)

1. Pôle Génétique Humaine, laboratoire Cerba, Saint-Ouen-L'Aumône, France

2. Oncogénétique, Ramsay Général De Santé, Paris, France

3. INSERM, MMG, Aix Marseille Univ, Marseille, France

Mots clefs : Oncogénétique, Prédisposition héréditaire aux cancers, double hétérozygotie, MINAS

Résumé :

A ce jour, plus de 80 gènes de prédisposition héréditaire aux cancers ont été identifiés (1). La présence d'altérations génétiques constitutionnelles dans l'un de ces gènes est responsable de près de 5 % des cancers diagnostiqués en France. Selon le gène altéré, le niveau de risque de survenue et le spectre des cancers peuvent varier.

Les technologies de séquençage à haut débit permettent désormais de rechercher simultanément des variants au niveau de nombreux gènes de prédisposition. Ainsi, devant un contexte de suspicion de prédisposition aux cancers, le laboratoire de biologie moléculaire propose dorénavant le plus souvent une stratégie d'analyse par « panel de gènes » selon les recommandations nationales et internationales. Par cette approche, nous avons identifié trois cas de double hétérozygotie au sein de gènes différents. Chez ces patients, la présence concomitante de deux variants pathogènes, mono-alléliques a été identifiée au sein des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, *BRCA1* et *MSH2* et *BRCA1* et *CHEK2*. Les variants identifiés au sein des gènes *BRCA* ne sont pas des mutations fondatrices des populations d'origine juive ashkénaze contrairement à la plupart des cas similaires publiés (2).

Ce phénomène de doubles hétérozygotes pathogènes dans des gènes de prédispositions héréditaires aux cancers est rapporté dans la littérature sous l'appellation *MINAS* (*Multilocus Inherited Neoplasia Alleles Syndrome*) (3). La plus grosse cohorte actuellement publiée de *MINAS* décrit 15 patients doubles mutants (4). Une base de données LOVD (<https://databases.lovd.nl/shared/diseases/04296>) a été créée en 2016 pour rapporter ces cas exceptionnels. En octobre 2019, cette base de données répertorie 103 cas. Les études publiées suggèrent que le phénotype clinique des patients doubles mutants n'est pas plus sévère au moment du diagnostic que celui des patients avec un seul gène muté. Des études supplémentaires sont nécessaires afin de confirmer ces observations et améliorer la prise en charge des patients doubles hétérozygotes.

Un suivi particulier de ces patients est crucial afin d'améliorer nos connaissances sur la pertinence clinique et les conséquences de la double hétérozygotie, d'autant que l'identification de ces cas sera sans doute de plus en plus fréquente avec nos stratégies actuelles de détection de mutations à l'aide de « panel de gènes » voire d'analyse d'exome ou de génome complet.

(1) Oncogénétique en 2016 /consultations, laboratoires et suivi, INCa, décembre 2017

(2) Leegte B et al. Phenotypic expression of double heterozygosity for *BRCA1* and *BRCA2* germline mutations. *J Med Genet*. 2005;42(3):e20. Review.

(3) Whitworth J et al. Multilocus Inherited Neoplasia Alleles Syndrome: A Case Series and Review. *JAMA Oncol*. 2016;2:373-9. Review.

(4) Stradella A et al. Does multilocus inherited neoplasia alleles syndrome have severe clinical expression? *J Med Genet*. 2019;56:521-525.

Pièce jointe : MINAS double heterozygote_V3.docx

#19844 : Identification de nouveaux variants du gène PMCPA chez des patients atteints d'Atrophie Optique Dominante

Auteurs :

majida charif (1), Arnaud Chevrolier (2), Naïg Gueguen (2), Selma Kane (2), Céline Bris (3), David Goudenège (4), Valerie Desquirit-Dumas (2), Isabelle Meunier (5), Fanny Mochel (6), Luc Jeanjean (7), Neringa Jurkute (8), Patrick Yu-Wai-Man (8), Vincent Procaccio (4), Pascal Reynier (3), Dominique Bonneau (3), Patrizia Amati-Bonneau (9), guy lenaers (10)

1. Laboratoire de Physiologie, Génétique et Ethnopharmacologie, Faculté des Sciences, Université Mohammed Premier, Oujda, Maroc, OUJDA, Maroc
2. Equipe MitoLab, UMR CNRS 6015 - INSERM U1083, Institut MitoVasc, Université, d'Angers, France., 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. , Institut des Neurosciences de Montpellier, INSERM U1051, Montpellier, France
6. Centre de référence des maladies neurométaboliques , Hôpital Universitaire La Pitié-Salpêtrière, La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Département d'ophtalmologie, , Hôpital Universitaire de Nîmes, Nîmes, France
8. NIHR Biomedical Research Centre at Moorfields , Eye Hospital and UCL Institute of Ophthalmology, , London, Royaume Uni
9. , CHU Angers, Département de Biochimie et Génétique, angers, France
10. Equipe MitoLab, UMR CNRS 6015 - INSERM U1083, Institut MitoVasc, Université et Hôpital Angers, Angers, France

Mots clefs : Nerf optique, mitochondries, peptidases mitochondriales, neuropathies

Résumé :

L'Atrophie Optique Dominante (AOD) est l'une des plus fréquentes maladies rares (1/15000), responsable de cécité neuro-sensorielle. Elle est causée par la dégénérescence chronique des cellules ganglionnaires de la rétine, dont les axones forment le NO. Jusqu'à présent cette maladie était systématiquement associée à des gènes codant des protéines mitochondriales, dont principalement *OPA1* et très rarement *OPA3*, *DNM1L*, *SPG7* et *AFG3L2*. En utilisant le séquençage NGS, nous avons identifié les premiers variants hétérozygotes du gène *PMCPA*, dans 6 familles présentant une AOD.

PMCPA code une sous unité alpha de la famille des peptidases mitochondriales (MPP). C'est une enzyme hétérodimérique responsable du clivage et de la maturation des protéines précurseurs mitochondriales codées par le noyau, lors de leur import dans les mitochondries. Récemment, *PMCPA* a été identifié comme le gène responsable d'Ataxie Cérébelleuse Autosomique Récessive de type 2 (SCAR2) et d'autres maladies mitochondriales sévères.

L'analyse de fibroblastes des patients AOD montrent un réseau mitochondrial plus connecté et une faible diminution de la quantité de *PMCPA*, sans aucune atteinte de la respiration mitochondriale et de l'activité enzymatique des complexes de la chaîne respiratoire, ni de la distribution ou structure des nucléoïdes et des lysosomes.

Ces résultats démontrent le rôle de cette peptidase mitochondriale dans l'équilibre fusion-fission, élément clé du maintien de la physiologie des cellules ganglionnaires de la rétine.

Pièce jointe : assise2020.CHARIF.docx

#20259 : Analyse de 11 gènes candidats à la prédisposition héréditaire au cancer chez 1 113 patients présentant une suspicion de prédisposition au cancer solide de l'adulte.

Auteurs :

Mathias CAVAILLE (1, 2), Nancy UHRHAMMER (1, 2), Flora PONELLE-CHACHUAT (1, 2), Mathis LEPAGE (1), Mathilde GAY-BELLILE (1, 2), Arnaud COUGOUL (3, 4), Sandrine VIALA (1), Maud PRIVAT (1, 2), Yannick BIDET (1, 2), Yves-Jean BIGNON (1, 2)

1. Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
2. Imagerie Moléculaire et Stratégies Théranostiques UMR1240, Université Clermont Auvergne, INSERM, Clermont-Ferrand, France
3. Division de Recherche Clinique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
4. Centre d'Investigation Clinique CIC-1405, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : Prédisposition héréditaire au cancer, HBOC, Lynch, gènes candidats

Résumé :**Introduction**

Les principaux gènes impliqués dans la prédisposition héréditaire au cancer ont été identifiés dans les années 1990. L'exploration de gènes impliqués dans les mêmes voies fonctionnelles que les gènes historiques a été pratiquée durant ces dernières années, facilitée par le développement du séquençage à haut débit.

Ainsi, de nouveaux gènes de prédisposition héréditaire au cancer ont été identifiés, comme PALB2, RAD51C et RAD51D dans le cadre de la prédisposition au cancer du sein et / ou de l'ovaire (HBOC). Cependant, l'implication d'autres gènes candidats, impliqués dans la réparation homologue ou des mésappariements de l'ADN, restent encore discutées.

Nous proposons d'explorer 11 de ces gènes candidats à partir de patients présentant une suspicion de prédisposition héréditaire au cancer de notre Département.

Objectif

Etude de la prévalence de 11 gènes candidats à la prédisposition héréditaire au cancer du sein et / ou de l'ovaire (HBOC) et au cancer colorectal dans une cohorte de 1 113 patients présentant une suspicion de prédisposition héréditaire au cancer.

Matériels et Méthodes

Entre 2016 et 2018, 1 113 patients présentant une suspicion de prédisposition héréditaire au cancer (HBOC : 876 ; Cancer digestif : 158 ; Autre : 79) ont bénéficié d'une analyse par panel de gènes, comprenant 14 gènes candidats suppressifs de tumeur (FANCM, RAD50, RAD51B, RINT1, BARD1, FAM175A, MRE11A, RAD51, XRCC2, PMS1, MLH3). Les variants ont été interprétés selon les recommandations en vigueur, en utilisant ALAMUT. La fréquence des variants tronquants dans chaque gène candidat dans la population générale, représentant notre population contrôle, a été déterminée en utilisant GnomAD. Chaque patient a signé un consentement à la recherche.

Résultats

L'analyse a identifié 20 variants tronquants à l'état hétérozygote, correspondant à un taux de détection de 1.8%, dans les gènes FANCM (n=7), RINT1 (n=5), RAD50 (n=3), ainsi que dans BARD1, RAD51B et PMS1 (n=1). L'ensemble des variants ont été identifiés chez des patients ne présentant pas de variant de classe 4 ou 5 dans un gène diagnostic, à l'exception d'un variant RINT1 trouvé chez un patient avec mutation MSH2 et syndrome de Lynch. FANCM et RINT1 était associé de manière significative aux patients HBOC. Aucune mutation n'était décrite dans les autres gènes analysés.

Discussion

FANCM et RINT1 ont été décrits comme étant associés à un risque de cancer du sein et / ou de l'ovaire, et le sont significativement dans notre étude. Une étude de ségrégation complémentaire permettrait de déterminer plus précisément l'implication de ces gènes dans cette prédisposition. Les autres gènes analysés ne sont pas associés de manière significative à une prédisposition au cancer, ou ne présentent aucun variant délétère dans notre étude. Leur implication dans la prédisposition héréditaire au cancer ne peut être écartée. Cependant, si elle existe, elle est rare ou n'implique pas de variants tronquants.

Pièce jointe : Abstract Assises Poster Panel Recherche.docx

#20203 : Utilisation des altérations de la morphologie du réseau mitochondrial comme bio-marqueur d'aide au diagnostic de la paraplégie spastique héréditaire SPG31**Auteurs :**

Christelle, M DURAND (1, 2), Giovanni BENARD (1), Guillaume BANNEAU (3), Julie LAVIE (4), Cyril GOIZET (1, 2), Isabelle COUPRY (1, 2)

1. INSERM U1211 - Laboratoire MRGM, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

2. Centre de Référence de Neurogénétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

3. Département de Génétique, Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, APHP La Pitié-Salpêtrière, Paris, France

4. Laboratoire MRGM, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : paraplégie spastique, réseau mitochondrial, bio-marqueur

Résumé :

Hereditary spastic paraplegias (HSPs) belong to a heterogeneous group of disorders with a prevalence of ~5/100,000. HSPs are caused by a dying back degeneration initiating at the distal end of the cortico-spinal tract. The clinical hallmark corresponds to a pyramidal syndrome of lower limbs (LL) with considerable variability in term of age at onset (from < 1 year to > 60 years), disease course and severity. HSPs are classified as “pure” or “complex” when additional neurological or extra-neurological features are present.

SPG31 is the third most frequent form of autosomic dominant HSP and is the consequence of a mutation in *REEP1* gene. REEP1 (Receptor Expression Enhancing Protein 1) is a small protein of 22kDa, containing two transmembrane domains and found located in mitochondria, endoplasmic reticulum and lipid droplets. We could show in our laboratory that SPG31 patients carrying *REEP1* mutations displayed diminished mitochondrial energetic function and altered mitochondrial morphology. In addition, we showed that molecular mechanism connecting *REEP1* mutations to mitochondrial alterations are DRP1-dependant.

In the case of HSPs, and in particular for SPG31, clinical and paraclinical examinations are unspecific and diagnosis requires confirmation by DNA analysis. However, more than 100 genes have been involved in HSP, complicating the diagnosis. Moreover, the widespread use of NGS for the molecular diagnosis of these diseases further increases the degree of complexity of the diagnosis given the number of variants identified, and their uncertain pathogenicity, particularly for missense variants.

Using primary culture of skin fibroblasts from various SPG31 patients carrying different types of mutations (non-sense, missense, exon duplication), we propose that the observed alterations of the mitochondrial network morphology could be used as a trait biomarker to help in the diagnosis of SPG31.

Pièce jointe : Abstract SPG31 assises 2020.docx

#19948 : Les anomalies du gène CLTC sont également associées à des formes familiales de déficience intellectuelle**Auteurs :**

Basile Chalot (1, 2), Aurore Garde (2, 3), Sebastien Moutton (2, 3), Christophe Philippe (3, 4), Frederic Tran-Mau-Them (3, 4), Nicole Philip (5), Florence Riccardi (6), Alain Verloes (7), Mathilde Nizon (8), Benjamin Cogné (8), Sébastien Küry (8), Christel Thauvin-Robinet (2, 3), Patrick Callier (9, 3), Laurence Faivre (2, 3), Ange-Line Bruel (3, 4), Arthur Sorlin (2, 3)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, Plateau technique de biologie, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, Dijon , France
2. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, FHU TRANSLAD, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Inserm UMR 1231 GAD, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
4. Unité Fonctionnelle d'Innovation diagnostique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
5. Service de génétique médicale, CHU de Marseille, Marseille, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Marseille, Marseille, France
7. Service de génétique médicale, AP-HP Robert-Debré, Paris, France
8. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
9. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, Plateau technique de biologie, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, exome, expressivité variable, CLTC

Résumé :

Introduction : Les variations faux-sens et à l'origine de codons stop prématurés du gène *CLTC* sont responsables d'une forme de déficience intellectuelle (DI) avec particularités morphologiques variables, non spécifiques, de transmission autosomique dominante (OMIM #617854). Depuis sa description initiale en 2016, 32 patients sont rapportés dans la littérature, tous porteurs de variations *de novo*. Ces patients présentent une déficience intellectuelle légère à sévère. Nous rapportons 10 nouveaux patients porteurs d'une variation pathogène du gène *CLTC*, dont certaines héritées, suggérant l'existence de formes familiales.

Patients et méthode : Par séquençage haut débit d'exome (ES) en solo, nous avons initialement identifié un patient atteint de DI légère en lien avec une variation entraînant l'apparition d'un codon stop prématuré du gène *CLTC*, héritée de son père, ayant présenté des troubles du spectre autistique, un retard moteur et des difficultés des apprentissages, sans déficience intellectuelle. À la suite d'un appel à collaboration par le biais de la filière AnDDi-Rares, nous avons colligé 9 patients supplémentaires porteurs de variations de *CLTC*, diagnostiqués par ES ou ACPA (Analyse Chromosomique sur Puce à ADN).

Résultats : Les 10 patients (4 filles et 6 garçons), issus de 8 familles, présentent un tableau de DI légère à modérée, associée de manière variable à une épilepsie, des stéréotypies, un retard de langage, un retard moteur, et des troubles du spectre autistique, correspondant au spectre phénotypique déjà décrit. Pour cinq patients, issus de trois familles, la variation est héritée d'un parent initialement considéré asymptomatique, dont 1 en mosaïque somatique (52%). La reprise de l'interrogatoire permet de mettre en évidence chez ces parents un retard initial de développement, avec difficultés scolaires, des troubles du spectre autistique et/ou un retard de langage, sans déficit cognitif vrai, et d'évolution favorable.

Discussion : L'identification de variations pathogènes du gène *CLTC* héritées de parents paucisymptomatiques permet d'envisager que le tableau clinique associé à ce gène ne se limite pas aux formes initialement décrites, exclusivement sporadiques et causées par des variations *de novo*. Les formes familiales semblent de sévérité moins marquée, permettant d'élargir le spectre phénotypique associé aux mutations de ce gène. Ce travail illustre par ailleurs la difficulté d'interprétation des variations héritées, qui doit prendre en compte des situations familiales dont l'anamnèse est parfois subtile, et ne doit pas se restreindre à l'hypothèse clinique initiale. De plus, le paradigme bien connu de la survenue de variations *de novo* des gènes de transmission dominante autosomiques dans la DI doit être appliqué avec prudence dans le diagnostic de la DI légère.

#20560 : Etude génétique du syndrome de Bardet-Biedl chez 19 familles tunisiennes

Auteurs :

Héla SASSI (1), Lilia KRAOUA (2), Mongia MEKKI (3), Rania SAKKA (4), Imen CHELLY (5), Maher KHARRAT (3), Amira ZANATI (6), Ines OUERTANI (7), Rym MEDDEB (8), Hana SAFRAOU (9), Faouzi MAAZOU (10), Mediha TRABELSI (8), Kamel MONASTIRI (4), Ridha M'RAD (2)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires , Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
3. Laboratoire de génétique, Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie
4. Service de réanimation et de médecine néonatale, Eps Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie
5. Service de pédiatrie, Hôpital de Bizerte, Tunis, Tunisie
6. Service des Maladies Congénitales et Héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
7. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
8. Service des maladies congénitales et héréditaires , Hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie
9. Service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie
10. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie

Mots clefs : Syndrome de Bardet-Biedl, BBS, Mutation fondatrice, Déficience intellectuelle, Hexadactylie, Obésité syndromique

Résumé :**Introduction:**

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS, OMIM 209900) est une rare ciliopathie ayant un mode de transmission autosomique récessif. Sa prévalence en Tunisie est estimée à 1/160000. Il est caractérisé par l'association d'une rétinite pigmentaire, une polydactylie post-axiale, une obésité, une déficience intellectuelle, un hypogonadisme et des anomalies rénales. A ce jour, 21 gènes *BBS* ont été identifiés expliquant environ 80% des cas de BBS. Ces derniers codent pour des protéines localisées dans le complexe BBSome qui joue un rôle clé dans le transport moléculaire intraciliaire et extraciliaire et dans le transport intraflagellaire.

Nous rapportons l'étude clinique et génétique de 19 familles tunisiennes atteintes de BBS.

Méthodes:

Notre étude est rétrospective incluant des patients ayant une forte suspicion clinique de BBS et répondant aux critères cliniques de Beales, adressés au service des Maladies Congénitales et Héréditaires à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis entre 2013 et 2017. L'étude moléculaire par séquençage selon la technique de Sanger a ciblé 11 exons codants de 5 gènes *BBS* afin de rechercher les mutations tunisiennes les plus fréquentes impliquées dans le BBS. Ces exons sont répartis ainsi: exons 5, 6, 7, 12 et 14 du gène *BBS1*, exon 5 du gène *BBS2*, exons 2 et 3 du gène *BBS5*, exons 3 et 4 du gène *BBS8* et exon 2 du gène *BBS10*.

Résultats :

L'étude moléculaire nous a permis de confirmer le diagnostic de BBS chez 5/19 familles étudiées en montrant la présence à l'état homozygote de trois mutations différentes au niveau des gènes *BBS2* et *BBS5*: la mutation fondatrice tunisienne c.565C > T (p.Arg189X) au niveau de l'exon 5 du gène *BBS2* chez trois familles, la mutation c.123delA (p.Gly42Glu) au niveau de l'exon 2 du gène *BBS5* chez une famille et la mutation c.149T > G (p.Leu50Arg) au niveau de l'exon 3 du gène *BBS5* chez une autre famille. Chez 7 patients non porteurs de mutations pathogènes, nous avons trouvé 4 variations non pathogènes à l'état hétérozygote (6/7 cas) et à l'état homozygote (1/7 cas) touchant les trois gènes *BBS1*, *BBS5* et *BBS8* dont deux polymorphismes.

Conclusion

Notre étude confirme la prédominance de la mutation fondatrice c.565C > T chez les patients tunisiens atteints de BBS et montre l'absence de corrélation génotype-phénotype évidente. L'identification des mutations causales chez ces patients a permis de donner un conseil génétique adéquat.

#20223 : Diagnostic par séquençage à haut débit de maladies osseuses constitutionnelles : cohorte de 866 patients

Auteurs :

Sophie Rondeau (1), Caroline Michot (2), Coralie Dupre (1), Anne-Laure Tourre (1), Cécile Fourrage (3), Caroline Alby (1), Sophie Monnot (1), Sylvain Hanein (4), Geneviève Baujat (3), Jean-Paul Bonnefont (3), Julie Steffann (1), Valérie Cormier-Daire (3)

1. Service de génétique moléculaire, Hôpital Necker Enfants malades, Paris, France
2. Centre de référence des Maladies Osseuses Constitutionnelles, Hôpital Necker Enfants malades, Paris, France
3. Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité - Service de génétique médicale, Institut Imagine - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. INSERM UMR 1163, Institut Imagine, Paris, France

Mots clés : Maladies osseuses constitutionnelles, NGS, panel

Résumé :

Introduction : Les dysplasies squelettiques sont un motif fréquent de consultations pédiatriques, elles regroupent 436 pathologies causées par 364 gènes (Nosologie de 2015). Le séquençage à haut débit (NGS) a fortement amélioré l'offre des tests génétiques pour ces pathologies hétérogènes. Nous rapportons l'analyse par un panel NGS de 866 patients ayant des anomalies squelettiques.

Méthode : Le panel comprend 128 gènes inclus dans 8 sous-panels: dysplasies acro(méso)méliques, rhizoméliques, épiphysaires ou métaphysaires, ainsi que dislocations multiples, nanismes platyspondyliques, causes syndromiques et retard staturaux avec anomalies squelettiques mineurs. Le séquençage à haut débit est réalisé par la méthode capture (Agilent) et le séquenceur NextSeq (Illumina). L'analyse des variants est réalisée grâce à une interface informatique locale (PolyWeb). Les dossiers sont discutés avec les médecins du Centre de Référence des Maladies Osseuses Constitutionnelles en staff d'inclusion et de restitution.

Résultats :

Sur l'ensemble des sous-panels, des variants probablement pathogènes/pathogènes ont été identifiés chez 336 patients (39%) dans 65 gènes et des variants de signification inconnue (VUS) chez 74 patients (9%). 38 des gènes du panel n'ont été impliqués que chez 1 à 3 patients parmi les 866 de cette cohorte. Le rendement n'est pas homogène selon les indications et en particulier pour les retards staturaux avec anomalies squelettiques mineurs (groupe 1) puisque qu'il est de 8% (10/135) avec 16% de VUS (22/135) alors que le rendement pour l'ensemble des autres indications (groupe 2) est de 45% (327/731) avec 7% de VUS (52/731). Les gènes les plus fréquemment mutés dans le groupe 2 sont *COL2A1* (16%), *COMP* (8%), *RUNX2* (7%), *FGFR3* (5%), *NPR2* (4%), *COL11A1* (3%) et *CUL7* (3%). Dans le groupe 1, les 3 gènes les plus fréquents sont *FGFR3* (40%), *NPR2* (20%) et *SHOX* (20%).

Conclusion :

Ce panel de gènes a permis de résoudre près de 40% des cas qui nous ont été adressés. L'arrivée du NGS a permis une grande avancée pour le diagnostic des maladies rares et les formes cliniques atypiques. Notre expérience montre également l'intérêt du lien étroit entretenu avec le Centre de Référence des Maladies Osseuses Constitutionnelles afin de sélectionner au mieux les patients et pour les discussions clinico-biologiques des dossiers avec interprétation complexe.

Pièce jointe : abstract MOC.docx

#20130 : Génétique des ataxies proprioceptives : le phénotype homogène du CANVAS sous-tend une grande hétérogénéité génétique**Auteurs :**

Vincent Huin (1), Andrea Cortese (2), Marie-Lorraine Monin (1, 3), Rabab Debs (4), Tanya Stojkovic (5), Claire Ewencyk (3), Thierry Maisonobe (5), Karine Viala (5), Fanny Mochel (1, 3), Alina Maria Tataru (1), Mélanie Papin (1), Henry Houlden (2), Mary M Reilly (2), Alexis Brice (1, 3), Alexandra Durr (1, 3)

1. ICM (Institut du Cerveau et de la Moelle épinière), Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne University, Paris, France
2. Department of Neuromuscular Disease, UCL Institute of Neurology and The National Hospital for Neurology, London, Royaume Uni
3. Service de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France
4. Service de Neurologie, AP-HP, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France
5. Institut de myologie, Centre de Référence des pathologies neuromusculaires Paris-Est, AP-HP, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France

Mots clefs : Neuropathies sensitives, whole-exome sequencing, ataxie proprioceptive, ataxie cérébelleuse, maladies mitochondriales, CANVAS

Résumé :

Les neuropathies sensitives (ou ganglionopathies) sont causées par la dégénérescence des neurones sensitifs dont le corps cellulaire est situé dans les ganglions rachidiens postérieurs de la moelle épinière. Ces pathologies sont caractérisées par une ataxie proprioceptive (abolition des réflexes ostéo-tendineux, diminution de la sensibilité extéroceptive, douleurs neuropathiques). Les causes génétiques connues comprennent des maladies mitochondriales, dont l'ataxie de Friedreich et les pathologies liées aux mutations du gène *POLG*. Ces maladies sont caractérisées par une ataxie proprioceptive, une ataxie cérébelleuse et d'autres atteintes d'organes. Plus récemment, a été décrite une autre cause génétique d'ataxie proprioceptive correspondant à l'expansion biallélique d'un pentaplet pathologique (AAGGG)_n situé dans l'intron 2 du gène *RFC1*. Les patients porteurs de ces expansions présentent un phénotype particulier associant ataxie proprioceptive, une ataxie cérébelleuse, une aréflexie vestibulaire et une toux chronique, également appelé CANVAS (cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome). Le but de notre étude était de découvrir la cause génétique de phénotypes étroitement apparentés, principalement réduits à la neuropathie sensitive. Nous avons recruté une cohorte unique de 40 cas index présentant une neuropathie sensitive confirmée par électroneuromyographie. Après exclusion de l'ataxie de Friedreich, nous avons recherché les expansions du gène *RFC1* par PCR-fluorescente, TP-PCR et Southern-blot. Par la suite, nous avons effectué le séquençage de l'exome entier chez tous les individus sans diagnostic génétique (13 cas index et 2 apparentés) avec le kit de capture SeqCap EZ Human Exome Probes v3.0 de Roche sur un appareil NextSeq500 de Illumina. La confirmation des résultats et la ségrégation familiale ont été réalisées par séquençage Sanger. L'âge de début moyen de notre cohorte était de $48,2 \pm 12,8$ ans, pour un âge moyen de la première consultation de $63,7 \pm 11,5$ ans. Nous avons identifié une expansion biallélique du gène *RFC1* dans 67,5% des cas (27/40). L'étude de l'exome entier a permis de mettre en évidence, des variants pathogéniques ou probablement pathogéniques chez 4 des 13 cas-index analysés, dans 4 gènes OMIM (*POLG*, *TWINK*, *GRM1* et *FIG4*). De plus, nous avons identifié un nouveau gène candidat : *SCN7A* avec un changement faux-sens homozygote. Aucun de ces cinq cas index n'a d'antécédent familiaux similaires, toutefois nous notons la présence de trois mutations compatibles avec une transmission a priori autosomique dominante (*TWINK*, *GRM1* et *FIG4*). Malgré un phénotype homogène, cette étude met en évidence la grande hétérogénéité génétique des neuropathies sensitives. L'expansion non codante de *RFC1* est la cause la plus fréquente. Les autres variants dans les gènes identifiés rendent compte de formes récessives et de l'existence de formes de transmission autosomique dominante qui ne sont pas encore expliquées.

#20191 : Histoire naturelle associé aux mutations du gène SETD5 par une approche orientée par les données fournies par un entrepôt de données de santé.

Auteurs :

JEROME JEANNETTE (1, 2), LEA PERONI (3), MARLENE RIO (1, 4), SOPHIE RONDEAU (5), GIULIA BARCIA (5), ANTOINE NEURAZ (6), VINCENT BENOIT (7), arnold munnich (8, 4), genevieve baujat (5), caroline michot (5), valerie cormier daire (1, 4), nicolas garcelon (7)

1. GENETIQUE MEDICALE, HOPITAL NECKER, APHP, PARIS, France
2. RECHERCHE CLINIQUE, INSTITUT IMAGINE, PARIS, France
3. service de génétique, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, paris, France
4. INSERM UMR 1163, INSTITUT IMAGINE, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, PARIS, France
5. service de génétique, Hopital Necker Enfants Malades, paris, France
6. departement informatique médicale, Hopital Necker Enfants Malades, paris, France
7. Data Science Platform, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, paris, France
8. GENETIQUE MEDICALE, HOPITAL NECKER, APHP, paris, France

Mots clefs : SETD5, ENTREPOT DE DONNEES, IA

Résumé :

Les altérations du gène SETD5 sont responsable d'un trouble du neuro développement syndromique, associé notamment une dysmorphie faciale. Une trentaine de patients ont été rapportés dans la littérature, mais ces observations ne permettent pas une description précise de l'histoire naturelle. Nous proposons d'utiliser l'entrepôt de données de santé de l'hôpital Necker et le logiciel d'exploitation développé par l'institut Imagine (Dr Warehouse) pour étudier l'histoire naturelle associée aux mutations du gène SETD5. En effet, l'utilisation d'entrepôts de données de santé peut être utile pour enrichir la description phénotypique car il permet de rassembler en une seule interface les données de différents systèmes d'information (comptes rendus médicaux, comptes rendus d'imagerie, courriers, résultats biologiques.). Dr Warehouse permet de réaliser une recherche textuelle sur l'ensemble de ces documents hospitaliers contenus dans l'entrepôt. Cette étude rétrospective longitudinale inclut 5 patients suivis à l'hôpital Necker Enfants Malades avec confirmation moléculaire. La cohorte étudiée comprend 3 individus de sexe masculin, 2 de sexe féminin, âgés de 9 à 15 ans. A partir des données textuelles de l'entrepôt de données, un algorithme de traitement automatique du langage extrait automatiquement les phénotypes des patients. Un PheWAS (Phenome Wide Association) est réalisé sur ces phénotypes afin de visualiser les plus pertinents et de repérer d'éventuelles associations phénotypiques non référencées par OMIM ou ORPHADATA. Les photographies des patients sont également analysées.

#20567 : Le syndrome de Tenorio : à propos d'une patiente marocaine et revue de la littérature

Auteurs :

wafaa Jdioui (1), Hanane Merhni (1), Thami Benouachane (2), Amal Thimou (1)

1. Centre des Consultations et des Explorations, Hôpital d'Enfants de Rabat, Rabat, Maroc
2. Service de Pédiatrie 4, Hôpital d'Enfants de Rabat, Rabat, Maroc

Mots clefs : Tenorio, patiente marocaine, croissance excessive, macrocéphalie

Résumé :

Le syndrome de Tenorio est une maladie génétique très rare, à transmission autosomique dominante, due à des mutations du gène *RNF 125*. Cette maladie, décrite par Tenorio et al. en 2014, est caractérisée essentiellement par une croissance excessive, une macrocéphalie et un déficit intellectuel. Certains patients présentent d'autres signes à savoir : une dysmorphie faciale, une hydrocéphalie, des troubles neurologiques, une atteinte oculaire, des anomalies squelettiques, une hypoglycémie, des maladies inflammatoires ainsi que des épisodes d'otites et pneumonies.

Nous rapportons l'observation d'une patiente marocaine âgée de 18mois, non consanguine, unique de sa famille qui présente le tableau suivant : avance staturo-pondérale, macrocéphalie, hémihypertrophie corporelle, hyperlaxité articulaire, épilepsie, retard psychomoteur, hypotonie, syncopes, dysmorphie faciale avec front large, reflux gastro-oesophagien, pneumonies et retard d'éruption dentaire.

Devant ce tableau clinique, le diagnostic d'un syndrome de Tenorio a été évoqué, une étude moléculaire permettrait éventuellement de confirmer ce diagnostic, prodiguer un conseil génétique pour la famille et instaurer une surveillance médicale adéquate.

Pièce jointe : abstract tenorio.docx

#19761 : Impact thérapeutique de la découverte incidentale de MPS1 (mucopolysaccharidose de type 1) paucisymptomatique chez une patiente atteinte de POIC (pseudo-obstruction intestinale chronique)

Auteurs :

Alinoë Lavillaureix (1), Paul Rollier (1), Christele Dubourg (2), Léna Damaj (3), Samia Pichard (4), Wilfrid Carre (2), Jacinthe Bonneau-Lagacherie (5), Chloe Puisseux (5), Virginie Gandemer (5), Mélanie Fradin (1), Chloé Quelin (1), Alain Dabadie (6), Thierry Levade (7), Magali Pettazzoni (8), Laurent Pasquier (1), Véronique David (2), Sylvie Odent (1)

1. Génétique clinique, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire et génomique médicale, CHU de Rennes - Pontchaillou, Rennes, France
3. Maladies métaboliques, neuropédiatrie, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
4. Maladies métaboliques, APHP - Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Hémato-oncologie pédiatrique, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
6. Pédiatrie - Maladies rares digestives (MaRDi), CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
7. Laboratoire de Biochimie Métabolique - Centre de Référence en Maladies Héritaires du Métabolisme - Institut Fédératif de Biologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France
8. Service Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est - UM Pathologies Métaboliques, Erythrocytaires et Dépistage Périnatal - Centre de Biologie et de Pathologie Est, Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Mots clefs : MPS1, Hurler, surcharge, maladie lysosomale, POIC, donnée incidentale, enzymothérapie, greffe de moelle osseuse, exome, IDUA, MYH11

Résumé :

Un nourrisson de trois mois a bénéficié d'une consultation de génétique, lors de son hospitalisation, à la demande des gastropédiatres suite au diagnostic inhabituellement précoce de pseudo-obstruction intestinale chronique (POIC). Cette patiente née à 35 SA, sans complications, a présenté dès trois semaines de vie un syndrome pseudo-occlusif récidivant, nécessitant une colostomie puis une iléostomie, ainsi qu'une nutrition parentérale. Sa courbe de périmètre crânien (PC) était régulière sur -2DS depuis la naissance, l'examen clinique ne retrouvait pas d'anomalies morphologiques, et un tonus axial limite. La CGH-array réalisée après consentement des parents, a mis en évidence une délétion hétérozygote de 2,7Mb en 16p13.11p12.3, emportant plusieurs gènes OMIM dont *MYH11* (Myosin, heavy chain 11, smooth muscle). Plusieurs cas de délétion 16p13.11 ont été rapportés chez des patients présentant des troubles des apprentissages variables et un PC de petite taille (microcéphalie limite à -2DS). Cette délétion est héritée du père, dont le PC est à -2 DS, travaillant en intérim (niveau bac pro), ne présentant pas de troubles digestifs.

Des variants de *MYH11* ont récemment été publiés comme pathogènes, avec un effet perte de fonction supposé, à l'état homozygote (variant non-sens) ou hétérozygote composite, chez deux patients atteints de syndrome d'hypopéristaltisme intestinal - microcolon - mégavessie. Le séquençage sanger du gène *MYH11* seul n'étant pas disponible, et l'évolution clinique des patients étant décrite comme sévère (décès précoce), un exome médical en trio a donc été proposé à cinq mois de vie, afin de rechercher une mutation de *MYH11* associée à la délétion connue, dans l'hypothèse d'une transmission autosomique récessive comme rapporté dans la littérature.

Cet examen n'a pas retrouvé de variant de *MYH11* ni *ACTG2* (gène responsable de POIC), mais deux variants hétérozygotes composites du gène *IDUA* hérités chacun d'un parent, soit un diagnostic non-attendu de mucopolysaccharidose de type 1 (MPS1). Ce diagnostic a été confirmé cliniquement à l'état paucisymptomatique à 8 mois avec une dysmorphie débutante, des limitations articulaires discrètes et biologiquement par les MPS urinaires et l'activité enzymatique. Le bilan d'extension ne retrouvait pas d'autres signes en dehors d'un encombrement nasal. La greffe de moelle osseuse a pu être réalisée à onze mois, ce qui est un facteur de bon pronostic concernant l'évolution neurologique. Une enzymothérapie substitutive a été débutée dès le diagnostic, et poursuivie jusqu'à six mois post-greffe après avis du groupe référent national. Des signes digestifs (constipation) sont décrits dans la MPS1, mais sont des signes de surcharge habituellement tardifs, au second plan, posant la question du lien entre la MPS1, l'haploinsuffisance *MYH11* et la POIC (effet cumulatif, digénisme?). Cette découverte incidentale a permis un diagnostic en l'absence de signes majeurs, et une prise en charge thérapeutique précoce.

Pièce jointe : assises_2020_lavillaureix_MPS1_POIC.docx

#20594 : Détermination du profil mutationnel des maladies génétiques en Tunisie par analyse des données de séquençage d'exome entier

Auteurs :

Nessrine Mezzi (1), Olfa Messaoud (1), Rahma Mkaouer (1), Meriem Chargui (1), Chokri Naouali (1), Mohamed Zghal (2), Sonia Abdelhak (1), Lilia Romdhane (1, 3)

1. , Institut Pasteur Tunis, Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique, TUNIS, Tunisie

2. , Service de dermatologie, Hôpital Charles Nicolle, 1006 Tunis, Tunisie, TUNIS, Tunisie

3. , Département des Sciences de la Vie - Faculté des Sciences de Bizerte, Jazouna, Tunisie, Bizerte, Tunisie

Mots clefs : Maladies génétiques, Population Tunisienne, Mutation, Exome, Bioinformatique, base de données.

Résumé :

Contexte et Objectifs : En Tunisie, les maladies génétiques constituent un problème de santé publique. Ceci est dû aux forts taux de consanguinité et d'endogamie. Ces pathologies sont généralement graves, chroniques et évolutives et incurables. Le pronostic vital est souvent mis en jeu. La planification des stratégies de préventions de ces maladies (dépistage prénatal, néonatal), dépistage en cascade pour l'identification des personnes atteintes encore asymptomatiques) ainsi que la mise au point des nouvelles pistes thérapeutiques et la préparation des essais cliniques exigent des données épidémiologiques fiables et précises. Malheureusement ce type de données n'est pas disponible en Tunisie. Le séquençage de l'exome entier permet d'élucider l'étiologie moléculaire des maladies génétiques et d'identifier les variants génétiques spécifiques d'une population. Dans cette étude, nous avons pour objectif de déterminer le spectre des maladies génétiques décrites en Tunisie et d'enrichir leur spectre mutationnel via une analyse des données d'exome des Tunisiens.

Méthodes : Nous avons mis à jour la base de données locale déjà conçue au sein de notre laboratoire par une fouille textuelle dans la littérature scientifique en intégrant les données génétiques, épidémiologiques et moléculaires. L'ensemble de maladies génétiques décrites en Tunisie ont été classées selon le mode de transmission et selon la dixième version de la classification internationale des maladies proposée par l'OMS. Nous avons exploité les données de la banque d'exomes de notre laboratoire pour les analyses bioinformatiques en vue d'enrichir le spectre mutationnel des maladies génétiques. Cette banque renferme 59 exomes d'individus dont certains sont atteints de différentes maladies génétiques appartenant à 10 groupes pathologiques, d'autres sont sains.

Résultats : Le nouveau spectre des maladies génétiques s'élève à plus de 540 entités pathologiques dont 60,1 % sont transmises selon le mode autosomique récessif reflétant le rôle de la consanguinité. La classification selon la CIM-10 de ces maladies a montré que les 3 groupes pathologiques les plus représentés sont les malformations congénitales, déformations et anomalies chromosomiques, les maladies endocriniennes, nutritionnelles et métaboliques et les maladies du système nerveux. L'établissement du spectre mutationnel a montré que plus de 800 mutations. Ce dernier a été enrichi par l'analyse des données d'exomes permettant l'identification de 52 variants potentiellement délétères. Parmi eux, un variant dans le gène *AIRE* identifié chez un patient atteint de *Xeroderma pigmentosum A* a été confirmé par séquençage Sanger et pourrait être la cause de l'expression d'une deuxième pathologie.

Conclusion : Notre travail donne une nouvelle estimation de l'envergure des maladies génétiques en Tunisie. La disponibilité de la base de données à la communauté scientifique contribuera à améliorer les connaissances sur ces maladies mais aussi à les prévenir.

#20038 : Les gènes de la voie de la pseudohypoxie dans les adénomes hypophysaires isolés

Auteurs :

Gregory Mougel (1, 2), Arnaud Lagarde (1, 2), Frederique Albarel (3), Wassim Essamet (4), Luigi Perrine (5), Celine Mouly (6), Magaly Vialon (7), Thomas Cuny (8, 3), Frederic Castinetti (1, 3), Alexandru Saveanu (1, 2), Thierry Brue (1, 3), Anne Barlier (1, 2), Pauline Romanet (1, 2)

1. Laboratoire MMG, UMR 1251, équipe DIPNET, Université Aix Marseille, Marseille, France
2. Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital La Conception, Marseille, France
3. Département d'Endocrinologie, Hôpital La Conception, Marseille, France
4. Laboratoire Anatomopathologie, Hôpital La Timone, Marseille, France
5. Département d'Endocrinologie, Hôpital Lapeyronie, CHU Montpellier, Montpellier, France
6. Département d'Endocrinologie, Hôpital Larrey, CHU Toulouse, Toulouse, France
7. Département d'Endocrinologie, Hôpital Larrey, CHU Toulouse, Toulouse, France
8. Laboratoire MMG, UMR 1251, équipe DIPNET, Université Aix Marseille, Marseill, France

Mots clefs : adénome hypophysaire, SDH, MAX, 3PAs, phéochromocytome, paragangliome, dépistage génétique

Résumé :

CONTEXTE : Les adénomes hypophysaires peuvent survenir de façon sporadique ou moins fréquemment être héréditaires. Une association syndromique entre adénome hypophysaire et phéochromocytome/paragangliome (PPGL), nommée « 3PAs » a récemment été décrite et est parfois associée à des mutations des gènes de prédisposition aux PPGLs tels que *SDHx* ou *MAX*. Chez les patients « 3PAs », l'adénome hypophysaire peut survenir avant le PPGL. Notre objectif est de déterminer la prévalence des mutations de *SDHx/MAX* chez les patients porteurs d'un PA isolé et les caractéristiques de ces patients.

OBJECTIF : Nous avons séquencé par séquençage haut-débit les gènes impliqués dans les adénomes hypophysaires (*AIP/MEN1/CDKN1B*) ou les PPGLs (*SDHx/MAX*) chez des patients avec un adénome hypophysaire isolé. Par la suite, nous avons réalisé une revue des cas publiés d'adénomes hypophysaires rentrant dans le cadre du syndrome « 3PAs ».

RESULTATS : Nous avons recruté 263 patients. Sept variants pathogéniques ou probablement pathogéniques ont été retrouvés dans *AIP*, 2 dans *MEN1*, 2 dans *SDHA* et 1 dans *SDHC*. La prévalence des mutations de *SDHx* atteignait 1.1% (3/263). Parmi les 30 patients avec un adénome hypophysaire portant une mutation de *SDHx/MAX* (27 dans la littérature et 3 dans notre étude), 6/30 (20%) ont développé leur adénome hypophysaire avant le PPGL et 8/30 (26.7%) présentaient un adénome hypophysaire isolé. Seize avaient un antécédent familial d'adénome hypophysaire ou de PPGL. L'âge de survenue de l'adénome hypophysaire était plus élevé chez ces patients que chez les patients mutés *AIP/MEN1*. Ils avaient plus de macroadénomes que les patients contrôles, en particulier de macroprolactinomes.

CONCLUSION : Nous avons trouvé pour la première fois, des mutations de *SDHx* chez des patients présentant un adénome hypophysaire sans antécédent familial ou personnel de PPGL, suggérant une nouvelle porte d'entrée dans les pathologies liées aux gènes *SDHx/MAX*. Néanmoins, un dépistage génétique de *SDHx* reste non justifié dans le cas d'adénomes hypophysaires isolés, à l'exception de la présence d'un antécédent familial de PPGL. D'autres études sont nécessaires pour clarifier si les gènes *SDHx* peuvent être de nouveaux gènes candidats, en particulier dans les (macro)prolactinomes familiaux.

Pièce jointe : résumé Grégory Mougel.docx

#20029 : Une mutation ATP7A avec un phénotype intermédiaire Syndrome des cornes occipitales et Neuropathie motrice distale : un continuum.

Auteurs :

Mélanie FRADIN (1), Alinoe LAVILLAUREIX (2), Chloé Quélin (1), Paul SAULEAU (3), Marie-Christine MINOT MYHIE (4), Dominique MENARD (4), Gilles EDAN (4, 5), Irene CEBALLOS PICOT (6), Catherine TREGUIER (7), Maia PROISY (7), Corinne MAGDELAINE (8), Anne-Sophie LIA (8), Sylvie ODENT (1, 9), Laurent PASQUIER (10)

1. Service de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement, CHU de Rennes, Rennes, France
2. Service de Génétique, Centre Référence Anomalies du développement , CHU Rennes, Rennes, France
3. Unité des Explorations fonctionnelles Neurologiques, CHU Rennes, Rennes, France
4. Service de Neurologie, CHU Rennes, Rennes, France
5. CIC1414 INSERM, Université de Rennes, Rennes, France
6. Département de Biologie, CHU Necker , Paris, France
7. Service de Radiologie, CHU Rennes, Rennes, France
8. Service de biochimie et de génétique moléculaire, CHU Limoges, Limoges, France
9. , Faculté de Médecine , Rennes, France
10. Service de Génétique, Centre Référence Déficience Intellectuelle, CHU Rennes, Rennes, France

Mots clefs : ATP7A, Cornes Occipitales, Cuivre

Résumé :

Les anomalies de transport du cuivre liée aux mutations *ATP7A* sont séparées classiquement en trois pathologies distinctes selon leur sévérité, toutes étant héritées sur le mode récessif lié à l’X : la maladie de Menkes (MD, OMIM #309400), qui représente plus de 90% des cas, la maladie des cornes occipitales (OHS, OMIM #304150), et la neuropathie motrice distale liée à *ATP7A* aussi appelée amyotrophie spinale distale (DMN, OMIM #300489).

Ces trois entités représentent probablement un continuum dépendant de l’activité résiduelle de l’activité *ATP7A*, bien que la maladie des cornes occipitales et la neuropathie motrice distale liée à *ATP7A* ne se recoupent pas encore. De fait les patients porteurs d’OHS n’ont pas de signes de neuropathie et les cornes occipitales ainsi que la dysautonomie qui sont les signes majeurs de l’OHS ne sont pas décrites chez les patients DMN.

Nous décrivons ici un patient porteur d’une mutation faux-sens dans *ATP7A* et qui présente des signes de neuropathie motrice distale ainsi que des cornes occipitales et une dysautonomie, représentant donc le chaînon manquant entre les OHS et la DMN et confirmant que les pathologies liées à *ATP7A* forment bien un continuum .

#20091 : Syndrome lymphœdème-distichiasis et effet de position chromosomique (TAD).

Auteurs :

Christine COUBES (1), Anouck SCHNEIDER (2), Kévin YAUY (1), Patricia BLANCHET (1), Lucile PINSON (1), Emmanuelle HAQUET (1), Marjolaine WILLEMS (1), Constance WELLS (1), Jean-Baptiste GAILLARD (2), Vincent GATINOIS (2), Thomas GUIGNARD (2), Magali TOURNAIRE (2), David GENEVIEVE (1), Franck PELLESTOR (2), Jacques PUECHBERTY (1)

1. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine personnalisée, Service de Génétique Clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

2. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine personnalisée, Unité de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

Mots clefs : lymphœdème-distichiasis, translocation réciproque, FOXC2, WGS, TAD

Résumé :

Le syndrome lymphœdème-distichiasis est caractérisé classiquement par l'association d'un lymphœdème des membres d'âge de début variable et d'un distichiasis (deuxième rangée de cils surnuméraires au niveau des glandes de Meibomius à l'intérieur de la rangée ciliaire normale). Il s'agit d'une maladie génétique se transmettant sur le mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète et une expressivité variable. Le gène responsable est le gène *FOXC2* (Forkhead Box C2) qui code pour un facteur de transcription et qui est situé dans la région chromosomique 16q24.1.

Nous présentons le cas d'une patiente âgée de 43 ans reçue dans notre centre en conseil génétique pour une translocation chromosomique découverte lors d'un bilan d'infertilité. La formule chromosomique est 46,XX,t(1;16)(q42;q24). L'examen clinique a mis en évidence un lymphœdème bilatéral des jambes apparu à l'adolescence et un distichiasis. L'enquête familiale n'a pas pu être réalisée. Nous avons émis l'hypothèse que le point de cassure de la translocation localisé en 16q24 sur le chromosome 16 avait pu interrompre le gène *FOXC2*, expliquant ainsi la pathologie.

Des études génétiques complémentaires ont montré l'absence de CNV pathogènes aux points de cassure ou ailleurs sur les autres chromosomes (ACPA), que le point de cassure était positionné en aval du gène (FISH avec la sonde RP11-463O09 contenant le gène *FOXC2*) à environ 70 kb du gène (WGS 10X), qu'aucune variation pathogène du gène n'avait été mise en évidence (Séquençage) et qu'il n'y avait pas de gène interrompu en 1q42 (WGS 10X). Finalement, ces études ne nous ont pas permis d'identifier de variation des gènes *FOXC2* susceptible d'expliquer la pathologie de la patiente.

Une explication possible du phénotype de la patiente serait une modification de l'architecture chromatinienne avec création de nouveaux domaines chromatiniens (topologically associated domain ou TAD, structure tridimensionnelle de l'ADN) aux points de cassure/jonctions entre les chromosomes 1 et 16. Les TAD définissent des régions d'interaction préférentielle des séquences d'ADN qu'ils contiennent. Ces nouveaux domaines créés modifieraient la régulation des gènes qu'ils contiennent en les privant de leurs éléments régulateurs propres et en les mettant sous l'influence d'éléments régulateurs ectopiques, affectant ainsi leurs expressions, ce qui pourrait être le cas pour *FOXC2*.

#20379 : Ostéoporose idiopathique d'apparition précoce : possible rôle d'un digénisme de la voie wnt

Auteurs :

Martine COHEN-SOLAL (1), Thomas FUNCK-BRENTANO (2), Manon RICQUEBOURG (3), Nicolas BERANGER (4), Philippe ORCEL (1), Corinne COLLET (5)

1. Service de Rhumatologie Inserm 1132, Hôpital Lariboisière, PARIS, France
2. Service de Rhumatologie Inserm 1132, hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Inserm 1132, Bioscar, hôpital Lariboisière, Paris, France
4. Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire , Hôpital Lariboisière , Paris, France
5. Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Inserm 1132, Hôpital Lariboisière, PARIS, France

Mots clefs : ostéoporose précoce, voie wnt, LRP5, DKK1, WNT3A, EN1

Résumé :**Introduction**

L'ostéoporose idiopathique juvénile (OIJ) est une pathologie qui se définit par une Densité Osseuse Basse et la présence de fracture dès l'enfance. Sa prévalence est inconnue et les diagnostics différentiels principaux sont l'ostéogénèse imparfaite forme modérée (type 1, OMIM 166200) dont l'étiologie génétique repose sur la présence de variants pathogènes dans *COL1A1* et *COL1A2* ; l'ostéoporose d'apparition précoce (OMIM 615221, *WNT1*) et de façon plus exceptionnelle, l'ostéoporose liée à l'X (OMIM 300910, *PLS3*). Par ailleurs, des variants pathogènes de *LRP5* portés à l'état hétérozygote sont à l'origine de formes d'ostéoporoses primaires d'apparition plus ou moins précoce avec ou sans fracture. Le gène *LRP5* code pour un co-récepteur de la voie de signalisation Wnt dont l'activation entraîne la transcription de gènes responsable de la formation osseuse.

Notre étude a porté sur la détermination moléculaire de patients atteints d'ostéoporose idiopathique par séquençage haut débit (SHD) à l'aide d'un panel de 18 gènes responsables de fragilité osseuse. Cette approche a permis d'identifier des formes sévères dues à des variants pathogènes du gène *LRP5* associés à des variants dans des gènes codant pour des acteurs de la voie wnt ou régulant celle-ci.

Matériel et méthodes :

Etude à partir de 65 patients jeunes (< 50 ans) atteints d'ostéoporose primaire (Z-score < 2 DS au rachis ou au col du fémur) et suivis à l'hôpital Lariboisière.

SHD d'un panel de gènes sur séquenceur Miseq (Illumina) après préparation de la librairie à l'aide des réactifs sureselect QXT (Agilent). Les données bioinformatiques ont été analysées à l'aide du logiciel SeqNext (JSI Medical Systems).

Résultats :

Parmi, les 65 patients jeunes avec ostéoporose idiopathique, trois patients étaient porteurs d'un variant pathogène de *COL1A1* ou *COL1A2*. Sur les 62 restants, 3 patients étaient porteurs d'un variant « probablement pathogène » de *LRP5* à l'état hétérozygote associé à un variant « probablement pathogène » à l'état hétérozygote dans *DKK1* (NM_012242.4: c.359G > T, p.(Arg120Leu)) ou *WNT3A* (NM_033131.3: c.377G > A, p.(Arg126His)) ou *EN1* (NM_001426.3: c.1168G > A, p.(Glu390Lys)). Ces trois gènes codent pour des protéines qui interviennent à différents niveaux de signalisation de la voie Wnt : DKK1 est un inhibiteur, WNT3A est un ligand activateur, Engrailed homeobox 1 (EN1) est une cible. *DKK1* et *WNT3A* ont été décrits dans l'OIJ (Korvala et.al J Eur J Med Genet. 2012), tandis que *EN1* est un gène candidat de l'ostéoporose (Zheng, Nature, 2015).

Les trois patients ont une DMO basse révélée par des fractures dès leur enfance ou avant 25 ans. Les études familiales montrent que les parents ont une DMO rachidienne basse et sans fractures, toutefois moins basse que l'index.

Conclusion : L'étude génétique menée chez des sujets jeunes atteints d'ostéoporose précoce montre que l'association de deux variants de gènes décrits initialement peut promouvoir un phénotype plus sévère.

#20122 : GAPO syndrome in Morocco: a case report

Auteurs :

NADIA SERBATI (1), GHIZLANE JABRANE (2), FATIMA ZAHRA OUTTALEB (2), SARA BERRADA (2), Hind DEHBI (2)

1. Laboratoire de Génétique Médicale , CHU Ibn ROCHD de Casablanca, CASABLANCA, Maroc

2. Laboratoire de Génétique Médicale , CHU IBN ROCHD de Casablanca , Casablanca, Maroc

Mots clefs : Growth retardation, Alopecia, Optic atrophy, GAPO syndrome

Résumé :

GAPO syndrome is a very rare genetic disorder characterized by growth retardation, and dysmorphic features and progressive optic atrophy (GAPO). The syndrome was first reported in 1947. To date, only about 50 cases have been described all over the world. Recently, gene alterations in the ANTXR1 gene have been reported to be causative of this disorder, and an autosomal recessive pattern has been observed. In this report, we describe a 6 years old girl with peculiar facial appearance, growth retardation, pseudoanodontia, optic atrophy, skin redundancy and prominent dilatation of scalp veins. To our knowledge, it's the first Moroccan case of GAPO syndrome.

#20155 : Les facteurs génétiques autosomiques dominants représentent la part principale du déterminisme multifactoriel des maladies auto-immunes

Auteurs :

Anna Serova-Erard (1), Simon Rey (1), Hadrien Romiguier (2), Jocelyn Quistrebert (2), Maxime Rigault (1), Jean-Jacques Dubost (3), Anne Tournadre (3), Martin Soubrier (3), Thomas Bardin (4), Valérie Chaudru (5), Elisabeth Petit-Teixeira (6), Isabelle Creveaux (7), Salwan Maqdasy (8), Igor Tauveron (8), Laurent Gerbaud (9), Lemlih Ouchchane (2), François Cornelis (1)

1. Génétique - Oncogénétique adulte - Prévention, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
2. Biostatistique, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, France
3. Rhumatologie, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, France
4. Fédération de Rhumatologie, CHU Lariboisière, Paris, France
5. GenHotel-ea3886, Université d'Evry-Val d'Essonne, Evry, France
6. GenHotel-ea3886, Université d'Evry-Val d'Essonne, Clermont-Ferrand, France
7. Biologie Moléculaire, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, France
8. Endocrinologie, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, France
9. Santé Publique, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : maladie auto-immune, génome, prévention, polyarthrite rhumatoïde

Résumé :

Introduction

Le déterminisme multifactoriel des maladies auto-immunes (MAI) fait intervenir génétique et environnement. Les MAI atteignent 4% de la population générale, 3 à 8 fois plus souvent les femmes. L'importance des facteurs familiaux, tant génétiques et qu'environnementaux, est révélée par un risque accru de MAI chez les apparentés de personnes atteintes. Les mécanismes physiopathogéniques sous-jacents restent inconnus. L'étude des risques de MAI selon le type de lien de parenté permettrait de préciser les parts relatives des facteurs génétiques et environnementaux. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'incidence des MAI chez les femmes, selon leur lien de parenté à une personne atteinte de la plus fréquente des MAI, la polyarthrite rhumatoïde (PR), qui atteint 0,6% des femmes.

Patients et méthodes

389 familles françaises caucasiennes de personnes atteintes de PR (cas index), suivies depuis 1995, ont été contactées par téléphone. Le recensement depuis l'inclusion des cas incidents de MAI a été effectué chez 987 femmes apparentées au 1er degré des cas index (1erD) et 1 804 apparentées au 2nd degré (2ndD), avec confirmation diagnostique médicale. L'incidence a été mesurée pour 100 000 années d'observation-personnes (AOP) pour la tranche d'âge de 30 à 79 ans (intervalles de confiance par approximation par la loi Normale).

Résultats

L'analyse de 25 651 AOP chez 2 791 femmes retrouve 70 cas incidents de MAI, dont 33 de PR. Incidences pour 100 000 AOP selon le lien de parenté, dans la tranche d'âge 30-79 ans :

MAI :

1erD 378 [276-480] **Sœurs** 322 [253-510] **Mères** 324 [100-549] **Filles** 416 [170-661]

2ndD 147 [77-217] **Tantes** 150 [39-261] **Nièces** 153 [58-248]

PR :

1erD 178 [108-248] **Sœurs** 168 [83-253] **Mères** 162 [3-321] **Filles** 226 [45-407]

2ndD 69 [21-117] **Tantes** 85 [2-169] **Nièces** 61 [1-121]

L'incidence est significativement supérieure au 1erD comparé au 2ndD pour les MAI ($p=0,00045$), notamment pour la PR ($p=0,016$). Au sein d'un même degré de parenté, les incidences sont similaires (absence de différence significative) quelque soit le lien familial pour 3 générations, ou le sexe du cas index.

Conclusion

Les risques apparaissent homogènes au sein d'un même degré de parenté, quelque soit le sexe du cas index, pour des femmes séparées par 3 générations. Cela suggère des facteurs génétiques autosomiques dominants. L'absence de différence significative sur 3 générations plaide contre un rôle de facteurs de l'environnement qui auraient varié au cours des époques. Le risque de MAI atteignant 19% au 1erD étant une moyenne, certains génotypes complexes apportent nécessairement un risque plus élevé. A terme, la prévention génétiquement personnalisée fondée sur

l'analyse du génome permettra de préciser ces risques notamment chez les apparentés au 1er degré de personnes atteintes de MAI, soit environ 20% de la population générale.

Pièce jointe : Abstract MAI - Assises 2020 V.FINAL.pdf

#20004 : « Intérêt d'une analyse des gènes impliqués dans le métabolisme de la bile par un séquençage nouvelle génération (NGS) lors de maladies rares cholestatiques et cholélithiasiques de l'adulte. ».

Auteurs :

Yves Chrétien (1), Marie-Aude Robert de Rancher (2), Dominique Rainteau (3), Jean-Louis Delaunay (4), Nathalie Ganne-Carrié (5), Odile Gorla (6), Isabelle Jéru (7), Véronique Barbu (8)

1. Equipe Housset, CdR St Antoine, Sorbonne-Universités, CRSA INSERM Hôpital St Antoine, Paris, France
2. DMU BIOGEM, Centre de génétique Moléculaire et Chromosomique, AP HP, Sorbonne-Universités, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Spectrométrie de Masse, AP HP, Sorbonne-Universités, Hôpital St Antoine, Paris, France
4. Equipe Housset, CRSA INSERM, Sorbonne-Universités, CRSA INSERM Hôpital St Antoine, Paris, France
5. Hépatologie & Gastroentérologie, Liver Unit, AP HP, Hôpitaux Universitaires Paris Seine- St Denis, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
6. Hépatologie & Gastroentérologie, Centre Hospitalier Universitaire de Rouen & Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
7. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaire Pôle de Biologie Médicale et Pathologie -, AP HP, Sorbonne-Universités, CRSA INSERM Hôpital St Antoine, Paris, France
8. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires, Pôle de Biologie Médicale et Pathologie, AP HP, Sorbonne-Universités, CRSA INSERM Hôpital St Antoine, Paris, France

Mots clefs : NGS, métabolisme de la bile, Cholestase, Cholélithiase rare, adulte

Résumé :

Contexte : Les calculs biliaires de cholestérol sont les anomalies les plus fréquentes de la bile chez l'adulte, en raison d'un déséquilibre entre les 3 constituants de la bile du triangle de Small (sels biliaires, phospholipides et cholestérol). Des maladies rares de l'adulte, la cholélithiase associée à de faibles taux de phospholipides (LPAC) et la cholestase intra-hépatique gravidique (CIG), sont associées à des défauts génétiques des transporteurs des constituants de la bile. La littérature récente a montré que les pathologies biliaires héréditaires ne correspondent pas uniquement à des formes monogéniques. **Objectifs de l'étude : 1)** Déterminer si notre panel ciblé de NGS est suffisamment informatif ou si un panel de gènes étendu serait nécessaire pour mieux définir les origines génétiques de ces lithiases. **2)** Etudier le rôle de ces défauts génétiques dans la composition de la bile. **Patients et Méthodes :** Nous avons séquencé 588 patients phénotypés (403 LPAC et 185 CIG) ayant tous signé un consentement. Le panel contenait dix gènes impliqués dans la sécrétion biliaire et sa régulation : *ABCB11*, *ABCB4*, *ATP8B1*, *ABCG5*, *ABCG8*, *NR1H4*, *GPBAR1*, *SLC4A2*, *AQP8*, *ABCC2*. Un NGS basé sur un enrichissement par capture de 60 Kb a été réalisé sur l'ADN génomique des patients. Le séquençage à bouts appariés (2x150bp) a été effectué sur le séquenceur MiSeq® avec une Micro Flow Cell 300 v2. Les fichiers FastQ générés par le MiSeq ont été analysés avec le logiciel Sophia DDM® v4. Les duplications ou délétions intragéniques (CNV, tout ou partie) ont été validées par MLPA ou PCR quantitative. Chez 6 patients, la bile a pu être collectée et analysée par spectrométrie de masse LC-MS/MS. **Résultats :** La proportion de LPAC (83,8% de femmes) et de CIG ayant au moins une variation de séquence étaient respectivement de l'ordre de 80% (dont 48,4% de SNV et/ou CNV délétères) et de près de 65% (dont 54,1% de SNV et/ou CNV délétères). Le principal gène impliqué était *ABCB4* avec 22,9% dans le LPAC et 24,3% dans la CIG. Deux SNPs majoritaires ont été mis en évidence : rs2287622 bi allélique du gène *ABCB11* (32,7%) et rs11887534 du gène *ABCG8* (25,9%) dont la fréquence dans la population générale sont respectivement de 29% et 6,6%. Ils ont montré leur rôle indépendamment de la variation de séquence délétère du gène *ABCB4*. De plus, des SNV délétères des gènes *NR1H4/FXR* (3,1%) et *GPBAR1/TGR5* (2,6%), sont associés à des modifications des sels biliaires. **Conclusion :** Dans notre étude, le gène *ABCB4* est impliqué dans moins de 30% des LPAC mais il existe un oligogénisme probable responsable du syndrome LPAC. Les autres gènes codent des protéines associées à l'homéostasie des sels biliaires comme TGR5 et FXR. Avec le panel actuel, 20% des patients restent inexpliqués. Élargir ce panel aux gènes codant les protéines impliquées dans la réabsorption des sels biliaires au cours du cycle entéro-hépatique (ASBT et NTCP : cibles thérapeutiques) ouvrirait des perspectives intéressantes.

Pièce jointe : Assises de Génétique Tours 2020vf.pdf

#19990 : Découverte anténatale de duplication 16q24.1 impliquant FOXF1, révélant une pathologie familiale autosomique dominante avec grêle court congénital, mésentère commun et anomalies rénales

Auteurs :

Alinoë Lavillaureix (1), Erika Launay (2), Quentin Herzog (3), Gauthier Foulon (3), Ronan Thibault (4), Cécile Lambe (5), Alain Dabadie (3), Dominique Aussel (6), Mélanie Fradin (1), Chloé Quelin (1), Laurent Pasquier (1), Sylvie Odent (1), Sylvie Jaillard (2)

1. Génétique clinique, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
2. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU de Rennes - Pontchaillou, Rennes, France
3. Pédiatrie - Maladies rares digestives (MaRDi), CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
4. Nutrition - Maladies rares digestives (MaRDi), CHU de Rennes - Pontchaillou, Rennes, France
5. Pédiatrie - Maladies rares digestives (MaRDi), APHP - Hôpital Necker, Paris, France
6. Diagnostic anténatal - obstétrique, Clinique La Sagesse, Rennes, France

Mots clefs : Mésentère commun, grêle court congénital, duplication 16q24.1, FOXF1, mésentère commun

Résumé :

Durant la deuxième grossesse pour un couple non apparenté, les échographies anténatales ont montré une forte suspicion de malrotation intestinale et de duplication rénale unilatérale avec présence de kystes chez le fœtus, de sexe masculin. Dans ce contexte, le couple a été adressé en consultation de génétique, pour compléter les antécédents familiaux, et expliquer l'intérêt et les limites du caryotype et d'une CGH-array en anténatal.

La mère, qui travaillait comme aide-soignante, a pour principaux antécédents sur le plan digestif une malrotation intestinale avec volvulus à un mois de vie, grêle court congénital (grêle mesuré à 65cm), a eu une nutrition parentérale jusqu'à 15 mois, et présente des troubles digestifs chroniques, elle avait interrompu son suivi nutritionnel depuis plusieurs années. Sur le plan rénal, elle présente une duplication rénale unilatérale, des kystes rénaux, de multiples lithiases rénales et a eu plusieurs épisodes de pyélonéphrite. Une possible pathologie autosomique dominante (AD) avait donc été évoquée. Le premier enfant n'a pas de problèmes digestifs ou rénaux.

La CGH-array sur liquide amniotique a mis en évidence une duplication hétérozygote de 768kb en 16q24.1, héritée de la mère, incluant plusieurs gènes dont *FOXF1*. Une duplication de taille et localisation proche a été décrite dans la littérature chez une famille avec sténose du pyllore, mésentère commun, aplasie de l'appendice de transmission dominante avec développement psychomoteur normal. Un des trois patients décrits aurait présenté un grêle court. Son grand-père aurait présenté une insuffisance rénale. Des mutations de *FOXF1* sont connues comme responsables de malrotation intestinale et dysplasie alvéolo-capillaire congénitale.

Par la suite, la grand-mère maternelle a été vue en consultation et présente également cette duplication, ce qui était attendu, elle-même présentant un mésentère commun diagnostiqué à 60 ans, des troubles digestifs chroniques depuis l'enfance évoquant un probable grêle court congénital. Elle a bénéficié d'une transplantation rénale à l'âge de 35 ans, en raison d'une néphropathie interstitielle chronique par dysplasie rénale. Elle a également présenté des épisodes récurrents de pancréatite aigue, sans cause retrouvée.

Concernant le nouveau-né, le diagnostic de grêle court congénital a pu être porté dès un mois de vie, une nutrition parentérale a été mise en place rapidement. A un an, il a un suivi gastropédiatrique et néphropédiatrique régulier. Il présente des kystes rénaux, a eu plusieurs épisodes de pyélonéphrites, par ailleurs sa croissance est régulière, et son développement psychomoteur est normal. Le diagnostic anténatal associé à l'analyse des antécédents familiaux dans cette famille a permis que la mère a reprenne un suivi nutritionnel et des suppléments, et que le nouveau-né bénéficie d'une surveillance et d'une prise en charge adaptée.

Pièce jointe : resumé_assises_tours_2020_dup16q24.1_FOXF1_grele_court_mesentere_commun.docx

#20456 : Caractérisation génomique des anomalies de la pigmentation cutanée en mosaïque : l'expérience de la cohorte M.U.S.T.A.R.D.**Auteurs :**

Arthur SORLIN (1, 2), Virginie Carmignac (2, 3), Paul KUENTZ (2), Émilie Tisserant (2), Yannis DUFFOURD (2), Investigateurs de la cohorte M.U.S.T.A.R.D. (3), Jean-Baptiste RIVIERE (2), Patrick Callier (4, 2), Christophe PHILIPPE (2), Christel Thauvin-Robinet (1, 2), Laurence FAIVRE (1, 2), Pierre VABRES (3, 2)

1. Centre de Génétique, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
2. Laboratoire GAD, INSERM UMR 1231, FHU Translad, Université Bourgogne - Franche-Comté, Dijon, France
3. Centre de référence MAGEC, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire et de Cytogénétique, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : Mosaïque, Pigmentation, Hypomélanose d'Ito, Séquençage haut débit, RHOA, Bioinformatique

Résumé :

Introduction : Les dyschromies cutanées en mosaïque, telles que l'hypomélanose d'Ito, sont présentes dans une grande variété de présentations cliniques syndromiques (associant généralement une atteinte intellectuelle et diverses malformations), et ont fait suspecter de longue date l'implication d'un mosaïcisme génétique sous-jacent. Ces événements post-zygotiques étant cependant difficilement détectables par les techniques conventionnelles, les bases génétiques des dyschromies en mosaïque sont restées mal connues.

Matériel et méthodes : La cohorte M.U.S.T.A.R.D (*Mosaic Undiagnosed Skin Traits And Related Disorders*) rassemble à Dijon des échantillons d'ADN de biopsies cutanées de patients porteurs d'un mosaïcisme pigmentaire. Après une analyse phénotypique spécialisée, ces échantillons sont étudiés soit en séquençage d'exome (ES) à forte profondeur (200x) en trio, soit en séquençage ciblé à très forte profondeur (jusqu'à 50000x) d'un gène candidat précédemment identifié en ES. Les données sont analysées à l'aide d'un pipeline dédié, permettant la détection de variations ponctuelles en mosaïque (mSNV) à faible taux, mais également de diverses anomalies chromosomiques en mosaïque.

Résultats : De 2013 à 2019, 101 patients ont été inclus. Un ES a été réalisé pour 56 patients, identifiant une variation postzygotique chez 12 patient dans 6 gènes (4 inconnus en pathologie humaine, dont *RHOA*, et 3 précédemment associés à un phénotype constitutionnel différent), ou une anomalie chromosomique en mosaïques chez 17 patients (trisomies, tétrasomies, grandes délétions, mixoploïdies). Une étude ciblée des gènes ainsi identifiés chez 40 autres patients était positive pour 17 d'entre eux, soit un rendement diagnostique global de 55% (46/84).

Conclusion : Ce travail constitue la première étude des causes génétiques des dyschromies cutanées en mosaïque, mettant en évidence leur grande hétérogénéité. Il permet un conseil génétique et une adaptation de la prise en charge chez ces patients, jusque-là en situation d'impasse diagnostique. Il illustre l'importance d'une approche bioinformatique polyvalente, combinée à une expertise clinique. Il met également en évidence le rôle de la voie de signalisation dépendant des Rho GTPases, faisant progresser notre compréhension de la physiopathologie des dyschromies en mosaïque, une étape nécessaire à l'amélioration de la prise en charge de ces patients porteurs de maladies rares et complexes.

#20397 : Rôle de DYRK1A dans la régulation de la transcription et étude de l'effet de variations de signification inconnues**Auteurs :**

Jérémy Courraud (1), Angélique Quartier (1), Imène Bougelbène (1), Benjamin Durand (2), Loréline Genshik (3), cliniciens du réseau DI Généticiens et (4), Jean-Louis Mandel (5), Amélie Piton (5)

1. Département de Médecine translationnelle et Neurogénétique, IGBMC, Strasbourg, France
2. Diagnostique génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Département de Médecine translationnelle et Neurogénétique, IGBMC, Strasbourg, France
4. , CHU et instituts de recherche, France, France
5. Génétique médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, MRD7, VSI, DYRK1A, transcriptomique

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) et les troubles du spectre autistique (TSA) font partie des troubles du neurodéveloppement et sont associés à une composante génétique forte et très hétérogène. *DYRK1A* est un gène codant pour une protéine kinase à double spécificité impliquée dans de très nombreux processus cellulaires tels que la régulation du cycle cellulaire, de l'apoptose, des fonctions synaptiques, le maintien du cytosquelette et du métabolisme. *DYRK1A* jouerait également un rôle dans la régulation de l'épissage et de la transcription. *DYRK1A* est impliqué dans une forme syndromique de DI (environ 0,5% des patients DI) associée entre autres à une microcéphalie, un retard de croissance, d'importants problèmes de langage et des stéréotypies (MRD7 pour *Mental Retardation, autosomal dominant* 7). À l'heure actuelle, plus d'une trentaine de patients porteurs de variations de novo dans *DYRK1A* ont été identifiés dont certains porteurs de variations faux-sens. Alors que le séquençage d'exome a révolutionné l'identification de nouveaux gènes impliqués dans la DI et les TSA ainsi que la mise en évidence de variants pathogéniques, l'interprétation des variants est devenu un enjeu majeur pour les cliniciens et les familles et un grand nombre, le plus souvent des faux-sens, restent de « Variants de Signification Inconnue » (VSI, recommandations ACMG 2015). Le développement de tests fonctionnels pour caractériser l'effet de ces VSI permet d'une part de mettre fin à l'errance diagnostique des familles concernées et d'autre part, de mieux comprendre la fonction de ces protéines dans un contexte normal ou physiopathologique. Nous avons réalisé des études fonctionnelles pour re-classifier les VSI dans le gène *DYRK1A*. Nous avons étudié les conséquences de 7 VSI sur la stabilité de la protéine *DYRK1A*, sa localisation nucléaire et sa capacité à s'autophosphoryler (Tyr321) pour passer sous la forme « kinase active ». Ces différents tests fonctionnels nous ont permis de re-classifier certains des VSI en variants pathogènes. Nous avons également entrepris d'étudier les conséquences d'une haplo-insuffisance en *DYRK1A* sur la régulation de l'expression des gènes par RNA-Seq sur des fibroblastes de patients *DYRK1A* ainsi que sur une lignée de précurseur neuronaux humains (hNSCs) où *DYRK1A* a été inactivé par siRNA. De ce fait, nous avons pu mettre en évidence un certain nombre de gènes dont l'expression est modulée en cas d'haplo-insuffisance de *DYRK1A*, l'objectif à terme étant de développer une signature moléculaire spécifique du MRD7. Enfin, nous avons montré que l'inactivation de *DYRK1A* affectait la capacité des cellules hNSCs à proliférer. Nous avons à présent entrepris de caractériser les interacteurs de la protéine *DYRK1A* dans les hNSCs par co-immunoprécipitation et spectrométrie de masse mais également d'explorer plus en profondeur les rôles des différents gènes dont la transcription est régulée par *DYRK1A* dans ces cellules.

#20437 : Etude clinique et moléculaire de patients porteurs de mutations dans des gènes codant pour des sous-unités du récepteur GABA de type A.**Auteurs :**

Pierre-Yves Maillard (1), Caroline Lacoste (2), Gaëtan Lesca (3), Cyril Mignot (4), Giulia Barcia (5), Rima Nabbout (6), Anne de Saint Martin (7), Nicole Philip (1), Elise Schaefer (8), Amélie Piton (9), Audrey Putoux (10), Dorothee Ville (11), Agathe Roubertie (12), Pierre Meyer (12), Didier Lacombe (13), Marion Gérard (14), Delphine Heron (4), Olivier Patat (15), Véronique Paquis (16), Laurent Villard (17), Mathieu Milh (18)

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 génétique médicale, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Département de Génétique, Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
5. Service de Génétique Médicale et Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Département de Neuropédiatrie, Centre national de référence des Epilepsies Rares, Hôpital universitaire Necker Enfants Malades, Paris, France
7. Service de Neuropédiatrie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Service de Génétique Médicale, Institut Génétique Médical d'Alsace, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
9. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU de Lyon HCL -GH Est -Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France
11. Service de Neuropédiatrie, HCL, Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
12. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, CHRU Montpellier, Montpellier, France
13. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, groupe hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
14. Service de Génétique, CHU de Caen, Caen, France
15. Génétique médicale, CHU Toulouse Purpan, Toulouse, France
16. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France
17. UMR_S 910, INSERM, Faculté de Médecine La Timone, Université Aix-Marseille, Marseille, France
18. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital La Timone, CHU de Marseille, Marseille, France

Mots clefs : Récepteur GABA type A ; corrélation génotype phénotype ; déficience intellectuelle ; épilepsie ; dysmorphie

Résumé :

Le GABA, est le neurotransmetteur inhibiteur le plus abondant dans le cerveau des mammifères. Le récepteur GABA de type A (GABAA) est un canal d'ions chlorure ligand dépendant qui joue un rôle central dans la régulation de l'excitabilité neuronale. Il est formé par l'association de 5 sous-unités. Les sous-unités $\alpha 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ et $\gamma 2$ (codées par les gènes *GABRA1*, *GABRB2*, *GABRB3* et *GABRG2*) sont les plus répandues dans le cerveau humain. L'objectif de ce travail était de rapporter de nouveaux cas de patients et de rechercher d'éventuelles corrélations génotypes-phénotypes.

Les patients ont été inclus dans le cadre d'une collaboration nationale française de plusieurs hôpitaux par l'intermédiaire du réseau EPIgene. Le recueil des données a été effectué à l'aide d'un questionnaire complété par le médecin clinicien et/ou par l'étude approfondie des dossiers médicaux.

Nous rapportons 27 patients chez qui nous avons identifié 23 mutations. Les mutations sont pour la plupart faux-sens (n=21), trois sont héritées, et une est à l'état homozygote dans une fratrie de 3 patients. Les sous-unités sont composées d'une longue extrémité N-terminale extracellulaire et de quatre domaines transmembranaires (DTM). Les variants se situent en majorité au niveau de trois régions : l'extrémité N-terminale, le deuxième DTM et la boucle extracellulaire entre le deuxième et le troisième DTM. Tous les patients ont présenté une déficience intellectuelle (DI) et une épilepsie de sévérités variables. Les premières crises d'épilepsie sont apparues à l'âge médian de 6,5 mois, elles étaient de types variés. Les syndromes épileptiques étaient principalement des encéphalopathies épileptiques précoces, des syndromes épileptiques avec crises fébriles (GEFS+, Dravet) et des épilepsies généralisées avec absences atypiques et myoclonies prédominantes. Certains patients présentaient des mouvements anormaux, une ataxie, une hypotonie, une microcéphalie ou une macrocéphalie, des symptômes évocateurs de troubles du spectre autistique, des troubles neuro-visuels et des traits dysmorphiques.

Cette étude est la plus importante en termes de nombre de patients décrits avec des variants dans plusieurs sous-unités différentes. Elle a l'originalité de permettre de comparer les tableaux cliniques en

fonction des sous-unités : nous ne trouvons pas de particularité clinique propre à une sous-unité, hormis des malformations du palais et de la mandibule chez des patients avec mutations dans le gène *GABRB3* (n=5). Nous mettons en évidence une corrélation génotype phénotype jamais décrite liée à la localisation des variants : les patients porteurs d'un variant dans l'extrémité N-terminale avaient une épilepsie et une DI significativement moins sévères que les autres patients. Ces résultats mériteraient d'être confirmés en analysant un plus grand nombre de patients.

Pièce jointe : maillard resume.doc

#20061 : A propos d'une nouvelle mutation non sens du gene LHFPL5 retrouvée chez une famille algerienne

Auteurs :

SAMIA ABDI (1), Mohamed Makrelouf (2), Crystel Bonnet (3), 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 BABAELQUED, 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 : genotype, LHFPL5, surdité isolée , exome

Résumé :

La surdité isolée représente 70% des causes genetiques de ce deficit auditif qui entrave l'acquisition du langage et qui a de lourdes consequences sur la vie de l'enfant.Elle est caracterisee par une grande heterogeneité genetique, plus de 100 loci ont ete identifiés comme causant une perte auditive autosomique non syndromique.La population algerienne n'en est pas epargnée, et plus de 800 nouveaux nés naissent sourds en Algerie.

Ce travail rentre dans le cadre d'une etude qui a pour but de rechercher les causes genetiques de cette surdité en Algerie afin d'avoir le profil genetique des enfants atteints et leurs familles ce qui permettra de leur offrir un conseil genetique quant à la gravité des mariages consanguins dans la transmission des maladies autosomiques recessives.

Une centaine de familles algeriennes ayant au moins un enfant sourd est recrutée au niveau du service ORL du CHU de Blida.l'etude genetique a été faite à l'institut de la vision à Paris

sur les ADN des enfants atteints mais egalement de tous les autres membres de leurs familles.

Le sequencage de l'exome a été utilisée pour le diagnostic moleculaire.

Plusieurs mutations genetiques ont ete retrouvées dont une deletion (C.250del) du gene LHFPL5 retrouvée chez 2 membres d'une famille et qui a causé la formation d'une proteine tronquée non fonctionnelle au niveau de la cochlée. Les parents sont heterozygotes pour la deletion.

Cette mutation est nouvelle, elle n'a jamais ete decrite auparavant.

Le diagnostic genetique de ce deficit sensoriel permet de venir en aide aux familles et la prise en charge precoce des enfants atteints, pour cela une cooperation entre medecins ORL et medecins biologistes est indispensable.

#20292 : Découverte d'un nouveau variant pathogène intronique profond dans le gène RARS2 chez deux patients avec tétraparésie et épilepsie myoclonique**Auteurs :**

Audrey Labalme (1), Eudeline Alix (1), Anne Sophie Eyraud Rousselle (2), Dorothée Ville (2), Marianne Till (1), Nicolas Chatron (1, 3), Damien Sanlaville (1, 3), Gaëtan Lesca (1, 3)

1. Génétique, HCL, Lyon, France

2. Neuropédiatrie, HCL, Lyon, France

3. Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; TIGER Team, Lyon, France

Mots clefs : RARS2, variant, intronique, profond

Résumé :

Nous rapportons deux patients d'une même fratrie présentant tous deux un tableau de régression neurologique et cognitive majeure, une encéphalopathie épileptique, des myoclonies erratiques multi focales, une tétraparésie pyramidale, une cécité corticale, une absence de tenue de la tête et une alimentation par gastrostomie. Ce tableau est en faveur d'une pathologie récessive autosomique.

L'analyse de l'exome (MedExome, Roche Nimblegen®) réalisée chez ces deux patients a mis en évidence la présence d'un variant tronquant hétérozygote dans le gène *RARS2* (NM_001350505.1:c.598C > T, p.(Gln200*)) décrit dans les hypoplasies ponto-cérébelleuse (OMIM 611524) de transmission autosomique récessive mais également rapporté dans d'autres phénotypes associant une dégradation neurologique et/ou une épilepsie. Le phénotype des patients étant compatible, nous avons d'abord recherché la présence d'un CNV sur l'autre allèle sans succès. L'analyse bibliographique nous a ensuite conduit à rechercher un variant intronique profond pathogène comme publié en 2015 par Lax *et al.* c. 613-3927C > T (intron 8). Le séquençage Sanger de la région encadrant ce variant a identifié à 2 pb d'écart une variation hétérozygote en c.613-3927C > T. L'analyse de ségrégation a montré que les deux variants étaient en *trans*. L'étude du cDNA a démontré que ce variant conduisait à la production de deux transcrits anormaux : l'un contenant la rétention de 123 pb de l'intron 8 et l'autre dépourvu de l'exon 8, validant ainsi un effet de cette variation intronique au niveau du transcrit. Les 123 pb exonisées sont, à la base près, annotées comme exon non codant sur plusieurs transcrits dans RefSeq nous laissant penser qu'il s'agit probablement d'un exon « poison ».

Les exons « poison » deviennent de plus en plus décrits dans la littérature. *SCN1A* en est un bon exemple (Carvill *et al.* 2018). Il semblerait que ces exons « poison » servent à la régulation du taux de protéine. Ils sont généralement épissés sauf si le taux protéique devient trop élevé auquel cas, par un mécanisme particulier, l'exon serait retenu. Ces exons « poison » contiennent très généralement un codon stop en début de séquence conduisant à la destruction de l'ARNm par le mécanisme de Non Mediated Decay (NMD). L'analyse des 123 pb introniques exonisées montre que très tôt apparaît bien un codon stop diminuant donc la quantité d'ARNm fonctionnel.

Le séquençage du génome grâce au Plan Médecine Génomique 2025 et notamment, dès à présent, grâce aux plateformes AURAGEN et SeqOAI déjà fonctionnelles, nous révélera certainement de plus en plus ce type de variants et augmentera, nous l'espérons, le taux de rendus diagnostiques positifs. En attendant si un patient est porteur d'un seul variant hétérozygote pathogène dans *RARS2* sans CNV associé et que la clinique est très évocatrice, il convient de séquencer une partie de l'intron 8 du gène.

#20517 : L'étude par WES et WGS d'une large famille a permis de détecter une expansion polyalanine de ZIC3 ségrégeant avec des atteintes auriculaires unilatérales**Auteurs :**

Aurélien Trimouille (1, 2), Angela Tingaud-Sequeira (2), Didier Lacombe (3, 2), Hanne Buciek Hove (4), Caroline Rooryck (3, 2)

1. Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. INSERM U1211, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. Génétique médicale, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France
4. Department of Paediatrics and Adolescent Medicine, Juliane Marie Centre, Rigshospitalet - Copenhagen University Hospital, Copenhagen, Denmark

Mots clefs : WES, WGS, ZIC3, OAVS

Résumé :

Le spectre Oculo-Auriculo-Vertébral (OAVS) [MIM:164210], ou syndrome de Goldenhar, est une anomalie du développement associant des malformations des structures dérivées des premiers et seconds arcs branchiaux. Ces atteintes associent une microsomie hémifaciale et des malformations de l'oreille, associées ou non à des atteintes vertébrales et oculaires. L'une des caractéristiques de l'OAVS est que dans la plupart des cas, ces atteintes sont asymétriques.

Afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de ce spectre, nous décrivons ici une famille dont plusieurs des membres présentent une forme modérée de la maladie, avec principalement une atteinte auriculaire, ségrégeant avec un variant du gène *ZIC3*.

Dans cette famille d'origine danoise, 8 membres masculins, répartis en trois branches, sur trois générations, présentent une atteinte auriculaire unilatérale avec microtie, dyplasie de l'oreille, pits prétragien, associée à une microsomie hémifaciale pour l'un des cas. La réalisation d'un séquençage de l'exome chez deux cousins de branches différentes a permis de mettre en évidence la présence du variant c.159_161dup p.(Ala55dup) du gène *ZIC3*, à l'état hémizygote sur le chromosome X. Ce variant est situé dans une répétition de résidus Alanine, passant de 10 à 11.

Après vérification par Sanger, ce variant ségrège parfaitement avec la symptomatologie dans cette famille.

Afin de s'assurer de l'absence d'un autre variant pathogène, en déséquilibre de liaison avec *ZIC3*, nous avons réalisé le séquençage du génome complet d'un autre cousin atteint de cette famille. L'analyse combinée des 2 WES et du WGS a permis de déterminer l'existence d'une région commune de 40 Mb du chromosome X. Au sein de cette région, aucun autre variant codant ou non codant pertinent n'a pu être mis en évidence dans les données du WGS.

ZIC3 est un gène déjà connu en pathologie humaine, responsable de formes d'hétérotaxie, associées à des malformations cardiaques. Par ailleurs, *ZIC3* a été identifié comme jouant un rôle dans la détermination de l'axe gauche-droite. Cette fonction biologique est à rapprocher du caractère unilatéral des atteintes dans cette famille.

Une expansion d'Alanine aux mêmes positions, passant de 10 à 12, a déjà été décrite chez un patient présentant une association VACTERL. Par ailleurs, une expansion d'Alanine de *ZIC2*, orthologue de *ZIC3*, a été décrite comme responsable d'holoprosencéphalie. Plusieurs pathologies humaines sont liées à ce type d'expansion, conduisant à une agrégation des protéines.

Nous pouvons donc faire l'hypothèse qu'une expansion de cette répétition d'Alanine du gène *ZIC3*, intervient dans la survenue de cette atteinte auriculaire unilatérale. Cependant, la présence de plusieurs individus porteurs du même variant dans GnomAD semble indiquer qu'il s'agirait plutôt d'un facteur de prédisposition, ou d'un variant avec pénétrance incomplète, ce qui est connu dans le spectre OAVS.

Pièce jointe : Abstract Assises ZIC3.docx

#20433 : Interprétation des variants du gène TERT et recommandations internationales

Auteurs :

Ibrahima BA (1, 2), Elodie Lainey (3), Patrick Revy (4), Isabelle Callebaut (5), Christelle Ménard (6), Claire Oudin (6), Camille Abadie (7), Sylvie Alglave (8), Malika Chelbi (1), Karim Diallo (6), Cécile Fourrage (9), Raphael Borie (10, 11), Hilario Nunes (12), Vincent Cottin (13), Thierry Leblanc (14), Aurélie Plessier (15), Flore Sicre De Fontbrune (16), Régis Peffault de Latour (17), Bruno Crestani (18, 2), Filière MARIH (19), Filière RESPIFIL (20), Catherine Boileau (6), CAROLINE KANNENGIESSER (21, 2)

1. génétique, hôpital Bichat, PARIS, France
2. U1152, INSERM, PARIS, France
3. hématologie biologie, hôpital Robert Debré, paris, France
4. U1163, Imagine, PARIS, France
5. institut de minéralogie, de physique des matériaux et cosmochimie, UMR CNRS7590, PARIS, France
6. génétique, hôpital Bichat, Paris, France
7. U1152, inserm, PARIS, France
8. génétique, Hôpital Bichat, Paris, France
9. Plateforme Bioinformatique, Imagine, Paris, France
10. Pneumologie, Hôpital Bichat, Paris, France
11. U1152, INSERM, paris, France
12. Pneumologie, Avicenne, BOBIGNY, France
13. Pneumologie, CHU Lyon, LYON, France
14. Hématologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
15. hépatologie, hôpital Beaujon, Clichy, France
16. Hématologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
17. Hématologie, Hôpital Sainty Louis, Paris, France
18. Pneumologie, Hôpital Bichat, paris, France
19. , Hôpital Saint Louis, PARIS, France
20. , Trousseau, PARIS, France
21. génétique, Hôpital Bichat, PARIS, France

Mots clefs : TERT, télomérase, télomères

Résumé :

La mise en place du NGS (Next Generation Sequencing) à visée diagnostique a confronté les laboratoires de diagnostic génétique à une augmentation des problématiques de l'interprétation des variants de séquence. Sur le plan international, les recommandations émises par l'ACMG-AMP (American College of Medical Genetics & the Association for Molecular Pathology)(Richards *et al.*, *Genet Med* 2015) sont aujourd'hui largement utilisées par les laboratoires de diagnostic génétique, y compris en France. Nous sommes experts à l'hôpital Bichat des explorations moléculaires du gène *TERT* que nous étudions dans les suspicions de téloméropathies (maladie d'expression pulmonaire, hématologique et hépatique).

La classification de l'ACMG-AMP à 5 classes ne classe pas toujours correctement les variations pathogènes des gènes que nous étudions au laboratoire. Certains variants pathogènes se retrouvent classés en classe 3 (variant de signification inconnue, inutilisable pour le conseil génétique) alors qu'ils sont pathogènes (classe 4-5).

Nos objectifs étaient de 1/-Classer les variants du gène *TERT* selon les recommandations de Richards et al. revues par l'Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire (ANPGM)(v18/12/17) et 2/-Conclure sur l'adéquation de cette classification à notre gène (*TERT*) dans le contexte de notre pathologie (Téloméropathies)

La méthodologie suivante a été appliquée :pour interpréter les variants 1/Analyse de données du dossier clinique médical, 2/Analyse des variants avec les logiciels de prédiction *in silico* (polyphen, SIFT, CADD, GERP...) et consultation des bases de données existantes (telomerase database, gnomAD...) et personnelles, et recherche bibliographique PubMed et Google 3/Interprétation des données génétiques familiales (si existantes).

Nous avons classé plus de 200 variations de *TERT* comprenant toutes les variations obtenues au laboratoire et les mutations publiées de *TERT* afin de confirmer la nécessité d'affiner la classification des mutations par la création d'une classe intermédiaire 3.5 pour nos mutations faux sens rares prédites délétères de *TERT*. La mesure de la taille des télomères en Flow FISH ou la modélisation structurale se révèlent contributives pour plusieurs cas.

Nous proposons une adaptation des règles internationales pour le gène *TERT*

#20346 : Apport de la génétique moléculaire pour le diagnostic différentiel de sévices à enfant, de syndrome d'Ehlers-Danlos de type classique et de syndrome de l'X fragile.

Auteurs :

Aurélien Plancke (1), Bertrand Chesneau (1, 2), Guillaume Rolland (1), Cécile Arnould (1), Christine Dautheville GUIBAL (1), Mireille AUDEMA (1), Thierry Lavabre-Bertrand (1), Jean Chiesa (1), Philippe KHAU VAN KIEN (1)

1. Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
2. Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France

Mots clefs : Ehlers-Danlos classique, X fragile

Résumé :

Notre service a été sollicité par les services de l'Aide Sociale à l'Enfance pour l'évaluation d'une fratrie de 3 enfants âgés de 7, 4 et 2 ans, placés dans un contexte de suspicion de maltraitance. L'aîné de la fratrie présentait un tableau caractéristique de syndrome d'Ehlers-Danlos de type classique (SEDc) avec fragilité cutanée importante et hyperlaxité ligamentaire et selon la classification diagnostique de New-York (Malfait et al, 2017): 2 critères majeurs et 5 critères mineurs. Les deux autres enfants, ne présentaient aucun signe de SEDc mais un retard d'acquisition, de langage et des traits autistiques. Dans ce contexte, nous avons entrepris la recherche de mutation dans les gènes du collagène V par l'analyse de notre panel de 29 gènes en NGS et identifié rapidement la mutation : NM_000093.3(COL5A1):c.3179G > A (ou p.Gly1060Glu) confirmant le diagnostic de SEDc chez l'aîné. La recherche chez les parents et les autres enfants de cette mutation montre la présence d'un mosaïcisme somato-germinal de bas grade (env. 10-15%) sur le prélèvement du père (asymptomatique) et l'absence de la mutation pour les autres membres de cette famille. Pour les deux autres enfants, la recherche de syndrome de l'X fragile est revenue positive avec la présence d'une mutation complète à plus de 200 répétitions CGG chez la mère (paucisymptomatique) et les deux autres enfants, expliquant ainsi les difficultés neurodéveloppementales détectée par les services de l'ASE. Suite à ces résultats, les parents ont pu progressivement récupérer la garde de leurs enfants et être mis hors de cause vis-à-vis de cette suspicion de sévices. Nous n'avons pas connaissance d'autre cas de mosaïcisme somato-germinal dans le contexte de SEDc en rapport avec les collagènes V. Le conseil génétique a pu être précisé pour les deux affections et une surveillance cardiaque ainsi que le dépistage d'anomalies de l'hémostase primaire recommandée chez le père.

Pièce jointe : Apport de la génétique moléculaire pour le diagnostic différentiel de sévices à enfant.docx

#20337 : Diagnostic prénatal d'un syndrome de Goldenhar par CGH-array impliquant OTX2

Auteurs :

Vuthy Ea (1), Dorothée Reboul (1), Cécile Arnould (1), Frédéric Richard (2), Eve Mousty (3), Mireille Audema (1), Christine Dautheville-Guibal (1), Yuliya Petrov (1), Olivier Prodhomme (4), Philippe Khau Van Kien (1), Thierry Lavabre-Bertrand (5, 1), Jean Chiesa (1)

1. UF de Génétique médicale et Cytogénétique, CHU Nîmes, Nîmes, France
2. , Centre d'échographie des remparts, Avignon, France
3. Service de Gynécologie-obstétrique, CHU Nîmes, Nîmes, France
4. Service de Radiopédiatrie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU Montpellier, Montpellier, France
5. Laboratoire de Cytologie clinique et cytogénétique, CHU Nîmes, Nîmes, France

Mots clefs : DPN, syndrome de Goldenhar, OAVS, CGH-array, OTX2

Résumé :

Le Spectre Oculo-Auriculo-Vertébral (OAVS) ou syndrome de Goldenhar est une anomalie du développement embryonnaire, de transmission autosomique dominante, hétérogène, dont la fréquence est estimée à 1-9/100000. Il se caractérise par une asymétrie faciale, des malformations de l'oreille (atrésie, microtie ou anotie), voire une surdité. Les microsomies hémifaciales (MHF) peuvent ségréger avec de nombreuses anomalies génétiques, dont *MYT1*. Nous décrivons ici le premier cas d'un diagnostic anténatal d'une microsomie hémifaciale liée à un gain du gène *OTX2* en 14q22.3, codant une homéoprotéine impliquée dans la formation des arcs premiers branchiaux.

Une patiente de 32 ans G1P0 a été adressée au CPDPN pour anomalies auriculaires bilatérales asymétriques et excès de liquide amniotique. L'échographie réalisée à 22 SA + 4J révèle à droite une anotie et une absence de conduit auditif externe, à gauche une microtie sans pavillon avec conduit auditif externe, et une image de chondrome prétragien. Les canaux semi-circulaires latéraux sont présents. L'IRM fœtale et scanner à 30 SA + 3J confirme ces résultats et montre une hypoplasie bilatérale de la caisse du tympan, sans asymétrie faciale ni malformation ajoutée.

Au niveau familial, le père présente une excoissance prétragienne gauche ainsi qu'une discrète asymétrie faciale. Les deux conduits auditifs externes sont de forme inhabituelle. Il existe une hypoacousie bilatérale rapportée à de multiples otites dans l'enfance. Il n'y a pas de microphthalmie.

L'ACPA réalisée à partir de liquide amniotique natif montre une microduplication d'origine paternelle de 451kb, limitée aux gènes *OTX2* et à la partie 3' de *EXOC5* (arr[GRCh37] 14q22.3(57257011_57708536)x3 pat).

Alors que l'haplo-insuffisance d'*OTX2*, bien documentée dans les bases de données (OMIM, Orphanet et ClinGen), est associée à des malformations sévères, l'éventuelle implication d'un gain d'*OTX2* sur le développement orofacial fait aujourd'hui défaut. Notre cas, correspondant au plus petit gain d'*OTX2* décrit à ce jour, vient renforcer les travaux déjà publiés (Ballesta-Martínez 2013, Zielinski 2014).

L'atteinte fœtale plus sévère que le phénotype paternel, non expliquée par des facteurs environnementaux, est compatible avec une transmission dominante à expressivité variable déjà décrite.

Après un conseil génétique rassurant a priori sur le pronostic neuro-développemental, la grossesse est poursuivie à ce jour. La date d'accouchement est prévue le 16 décembre.

Pièce jointe : RESUME POSTER OTX2.doc

#19979 : Impact du séquençage haut débit pour le diagnostic de deux causes rares de cardiomyopathie hypertrophique : la maladie de fabry et l'amylose à transthyrétine mutée (étude highseq-hcm)**Auteurs :**

Fairouz Koraichi (1, 2), Fairouz Koraichi (1, 3), Flavie Ader (4), Erwan Donal (5), Céline Bordet (1), Pascal De Groote (6), Alexandre Moerman (6), Laurence Faivre (7), Patricia Réant (8), Caroline Thambo (8), Annick Toutain (9), Dominique Babuty (9), Aurélien Palmyre (3), Karine N'Guyen (10), Bertrand Isidor (11), Anne-Claire Brehin (12), Jean-François Prunty (1), Richard Isnard (13), Pascale Richard (4), Philippe Charron (1, 3)

1. Département de Génétique, centre de référence des maladies cardiaques héréditaires ou rares, Hôpital Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
2. Service de Génétique, Hôpital Ambroise Paré, APHP, Boulogne Billancourt, France
3. Service de Génétique, Hôpital Ambroise Paré, APHP, Boulogne-Billancourt, France
4. Service de Biochimie, UF Cardiogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
5. CHU Rennes, CHU Rennes, Rennes, France
6. CHU Lille, CHU Lille, Lille, France
7. Service de Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
8. CHU Bordeaux, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
9. CHU Tours, CHU Tours, Tours, France
10. CHU Marseille, CHU Marseille, Marseille, France
11. CHU Nantes, CHU Nantes, Nantes, France
12. Service de Génétique, CHU Rouen, Rouen, France
13. Service de Cardiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France

Mots clefs : séquençage haut débit, panel de gènes, cardiomyopathies hypertrophiques, maladie de Fabry, amylose cardiaque à transthyrétine mutée, prévalence

Résumé :**Contexte**

Le spectre étiologique des cardiomyopathies hypertrophiques (CMH) est très large et il est de plus en plus fréquent que des patients initialement étiquetés comme simplement atteints de CMH s'avèrent au final être porteurs de maladies génétiques rares qui sont largement sous-diagnostiquées. Notre objectif est d'évaluer l'impact du séquençage haut débit pour le diagnostic de deux pathologies rares, la maladie de Fabry et l'Amylose à transthyrétine mutée (gènes *GLA* & *TTR*), dans une population atteinte de CMH et d'estimer la prévalence de ces deux pathologies.

Méthode

Nous avons étudié une cohorte de 300 patients indépendants avec CMH (101 patients naïfs d'étude génétique et 199 patients avec panel de 1^{er} niveau négatif), qui ont tous été analysés par séquençage haut débit d'un panel de 107 gènes impliqués dans les maladies cardiaques héréditaires. Le séquençage a été fait par capture en milieu liquide des régions ciblées (Nimblegen®) sur appareil HiSeq2500 (Illumina®).

Les données générées ont été réanalysées spécifiquement pour ce travail, en ajustant les critères de pathogénicité ACMG et les filtres habituels utilisés dans les gènes sarcomériques pour tenir compte, notamment, des fréquences parfois élevées des variants dans ces gènes.

Résultats

La cohorte de 300 patients comporte 217 hommes et 83 femmes, l'âge moyen est de 46 ans. Le séquençage a identifié dans les deux gènes d'intérêt un total de 266 variants dont 189 variants pour *GLA* et 77 pour *TTR* et cela toutes classes confondues. Après analyse détaillée des résultats nous retenons 4 mutations pathogènes (classe 5) ou probablement pathogènes (classe 4) : 3 mutations pour le gène *GLA* (p.Arg118Cys, p.Val269Ala, p.Ala143Thr) et une mutation du gène *TTR* (p.Val142Ile). Le diagnostic de maladie de Fabry ou d'amylose n'avait pas été fait ni suspecté avant le séquençage haut débit. La prévalence est ainsi estimée dans notre cohorte à 1,3% pour la maladie de Fabry et de 0,3% pour l'amylose cardiaque à transthyrétine mutée.

Conclusion

Le séquençage haut débit d'un large panel de gènes a permis d'identifier des patients atteints de deux causes rares de CMH qui n'avaient pas été suspectées auparavant. Les prévalences observées sont comparables à celles de la littérature pour la maladie de Fabry mais inférieures à celles décrites pour l'amylose cardiaque, probablement en lien avec l'âge relativement jeune de notre cohorte.

À la lumière de ces résultats, il nous semble qu'un dépistage systématique par un panel large incluant les deux gènes *GLA* et *TTR* devrait être envisagé chez les patients adressés pour CMH lorsque le panel restreint de gènes sarcomérique est négatif. Il est d'autant plus important de dépister ces deux pathologies que les patients peuvent bénéficier des nouvelles thérapies spécifiques.

Pièce jointe : texte abstract assises 2020 pdf.pdf

#20521 : Syndrome de Cornelia de lange:

Auteurs :

KENZA DAFIR (1), Fatimazzahra Bouzid (1, 2), hassan akallakh (1), NISRINE ABOUSSAIR (2), maria mansouri (1)

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 : Syndrome de Cornélia de Lange, dysmorphie faciale

Résumé :

Le syndrome de Cornelia de Lange est un syndrome génétique d'expression variable caractérisé par une dysmorphie faciale très reconnaissable accompagnée d'un déficit intellectuel de sévérité variable, d'un important retard de croissance à début anténatal, d'anomalies des extrémités et parfois de malformations associées (cardiaques, rénales...). La prévalence est comprise entre 1/62 500 et 1/45 000.

Des mutations ont été identifiées dans trois gènes impliqués dans la cohésion des chromosomes à savoir le gène NIPBL (5p13.2) qui est muté chez environ 50 % des patients et correspond au gène majeur du syndrome. Des mutations associées à des formes mineures de la maladie ont été récemment décrites au niveau du gène SMC1A (SMC1L1 ; Xp11.22-p11.21), associé à une forme de syndrome Cornelia de Lange liée à l'X, et au niveau du gène SMC3 (10q25).

Nous rapportons dans ce travail une série de 15 cas de syndrome de Cornelia de lange référés en consultation de génétique au CHU Mohammed VI de Marrakech par des pédiatres pour une dysmorphie faciale et ou un retard des acquisitions psychomotrices.

Les données de l'examen dysmorphologique nous ont permis de retenir le diagnostic du syndrome de Cornelia de lange chez les 15 cas.

A travers ce travail, nous mettons en exergue le rôle du généticien, dans le diagnostic du syndrome de Cornelia de Lange et l'élaboration d'un conseil génétique adapté.

-

#20014 : CovReport, un nouvel outil de visualisation de la couverture du séquençage des gènes

Auteurs :

Svetlana Gorokhova (1), Svetlana Gorokhova (2), Mark Gorokhov (3), Marc Bartoli (1), Martin Krahn (4)

1. , Aix Marseille University, INSERM, GMGF, UMR_S 910, Marseille, France
2. , APHM, Timone Children's Hospital, Marseille Medical Genetics, U1251, Aix Marseille University, Marseille, France
3. , JDotSoft, Germantown, Etats-Unis
4. , APHM, Timone Children's Hospital, Marseille, France

Mots clefs : séquençage à haut débit, NGS, couverture, panel de gènes, visualisation, diagnostic

Résumé :

La technologie de séquençage à haut débit est maintenant utilisée en routine pour la plupart de tests génétiques. La méthode actuelle ne permet pas toujours un séquençage complet de toutes les régions d'intérêt, ce qui peut générer des résultats « faux négatifs » pour lesquels le variant pathogène n'est pas été identifié. Sachant que dans plus de moitié de cas on ne trouve pas de défaut moléculaire responsable de la maladie, il est indispensable de s'assurer que le séquençage des régions d'intérêt est de bonne qualité. La qualité du séquençage est définie par sa profondeur et sa couverture. Si un des gènes potentiellement impliqués dans la pathologie du patient n'est pas assez couvert, il est nécessaire de demander un séquençage complémentaire ciblé pour exclure la possibilité d'un faux négatif. Dans la pratique actuelle, l'information détaillée sur la couverture des régions séquencées n'est pas rendue systématiquement avec les résultats d'analyses et souvent dans un format difficile à interpréter.

Pour faciliter l'interprétation des données de couverture, nous avons conçu CovReport, un nouvel outil de visualisation de la couverture du séquençage des gènes qui facilite grandement l'interprétation des compte rendus de tests diagnostiques par séquençage. En générant un résumé concis de la couverture par exon, il permet d'évaluer en un coup d'œil la performance du test de séquençage et donc d'augmenter la fiabilité du diagnostic. Une interface conviviale génère un résumé graphique de la couverture qui peut être directement inclus dans le compte rendu. CovReport ne nécessitant pas d'installation complexe, il peut donc être facilement implémenté dans tous les cadres diagnostiques. En plus d'une version interactive, CovReport existe également en version en ligne de commande, permettant l'automatisation pour un grand nombre des analyses. Cet outil flexible et facile à utiliser fait maintenant partie des analyses de routine « panels de gènes » effectuées au département de génétique de Laboratoire de Génétique Moléculaire de l'APHM depuis 1 an (700-1000 rapports générés).

Disponibilité et implémentation : CovReport est disponible sur <http://jdotsoft.com/CovReport.php> Il est implémenté en Java et supporté sous Windows, Mac OS X et Linux.

#20239 : Les dysalbuminémies familiales hyperthyroxinémiques en France : Description clinico-biologique et nouveau variant

Auteurs :

Xavier Dieu (1), Nathalie Bouzamondo (1, 2), Claire Briet (3, 2), Frederic Illouz (3, 2), Valérie Moal (1, 2), Florence Boux de Casson (1, 2), Natasha Bouhours-Nouet (4, 2), Pascal Reynier (1), Régis Coutant (4, 2), Patrice Rodien (3, 2), Delphine Mirebeau-Prunier (1, 2)

1. Laboratoire Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Angers, Angers, France
2. Centre de référence des maladies rares de la thyroïde et des récepteurs hormonaux, CHU Angers, Angers, France
3. Service d'Endocrinologie Diabétologie Nutrition, CHU Angers, Angers, France
4. Service d'Endocrinologie et diabétologie Pédiatrique, CHU Angers, Angers, France

Mots clefs : dysalbuminémie familiale hyperthyroxinémique, résistance aux hormones thyroïdiennes, albumine, interférences analytiques

Résumé :

La dysalbuminémie familiale hyperthyroxinémique (DFH) a une prévalence d'environ 1/10000 et est la principale cause d'euthyroïdie hyperthyroxinémique. Elle est due à des variants génétiques au niveau du gène de l'albumine entraînant une augmentation de l'affinité de celle-ci pour les hormones thyroïdiennes. Ces variants n'ont aucun impact clinique thyroïdien pour le patient. Cependant les interférences analytiques liées au changement de propriété de l'albumine peuvent mimer un tableau biologique de résistance aux hormones thyroïdiennes (HT) avec des taux élevés d'HT et une TSH normale ou élevée.

Depuis 2017, 162 cas index ont été adressés au centre de référence des maladies rares de la thyroïde et des récepteurs hormonaux du CHU d'Angers pour suspicion de syndrome de résistance aux hormones thyroïdiennes. Les données cliniques et biologiques ont été recensées et nous avons réalisé le séquençage NGS (Next Generation Sequencing) du gène codant l'albumine (NM_000477.6).

Sur ces 162 patients nous avons retrouvé 22 (14%) variants de l'albumine c.725G>A p.R242H. En moyenne les patients atteints avaient des taux de TSH à 0,64 fois la limite supérieure de normalité (LSN), des taux de T4 libre (T4L) à 1,07 LSN et des taux de T3 libre (T3L) à 1,05 LSN. Cliniquement, ces patients étaient généralement asymptomatiques (50%) ou présentaient des manifestations cardiaques à type de palpitations (50%). Nous rapportons également le cas d'une jeune fille de 2 ans dont le prélèvement sanguin a été adressé à notre laboratoire pour une discordance biologique entre les valeurs de TSH et de T4 libre. Les dosages fait au CHU d'Angers ont retrouvé une TSH à 0,88 LSN, une T4L à 1,38 LSN et une T3L à 1,1 LSN (Siemens ADVIA CENTAUR). Chez cette patiente nous avons retrouvé la présence d'un variant hétérozygote sur l'exon 7 du gène de l'Albumine (c.724C>T), transformant une Arginine en Cystéine en position 242 (p.Arg242Cys). Ce variant est recensé dans les bases de données avec une fréquence de 2,5/100000, mais il n'a jamais été décrit comme pouvant entraîner une modification de l'affinité de l'Albumine pour les hormones thyroïdiennes ni sur d'éventuels artefacts de dosage. La ségrégation familiale réalisée a permis de montrer que seul le père était également porteur du variant.

Par conséquent, nous recommandons de systématiquement rechercher des variants du codon 242 de l'Albumine devant des dosages d'hormones thyroïdiennes faisant évoquer une résistance aux hormones thyroïdiennes.

Pièce jointe : 2019-10-Assise-genet-DFH.pdf

#20287 : Agénésie dentaire et pilomatricomes révélateurs de cancer colorectal monogénique.

Auteurs :

Simon Rey (1), Anna Serova-Erard (2), Anne Dubois (3), Michel D'Incan (4), Julien Scanzi (5), Armand Abergel (5), Denis Pezet (3), François Cornélis (1)

1. GENOAP (GENétique Oncogénétique Adulte Prévention), CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France

2. GENOAP (GENétique Oncogénétique Adulte Prévention), CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France

3. Chirurgie digestive, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France

4. Dermatologie et oncologie cutanée, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France

5. Hépatogastro-entérologie, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : cancer colorectal, polypose adénomateuse familiale, médulloblastome, pilomatricome, agénésie dentaire

Résumé :

Certaines manifestations extra-digestives doivent faire évoquer un syndrome génétique avec risque majeur de cancer colorectal (CCR) : lentigines péri-orales, néoplasmes sébacés, télangiectasies cutanéomuqueuses, kérato-acanthomes, ostéome, tumeurs desmoïdes, hypertrophie congénitale de l'épithélium pigmenté rétinien, anastomoses artério-veineuses viscérales, cancer de l'endomètre, de l'ovaire, des voies urinaires et tumeurs du système nerveux central devant faire évoquer les syndromes de Lynch, Turcot, Muir-Torre, Gardner, Peutz-Jeghers, Rendu-Osler ou la polypose adénomateuse familiale (PAF). Nous rapportons deux cas révélés par des manifestations extra-digestives inhabituelles qui sont à ajouter à cette liste.

Cas 1

Une patiente a été atteinte à 13 ans de médulloblastome de la fosse postérieure (sous-groupe WNT). Après exérèse chirurgicale et radiothérapie, sont survenus 15 pilomatricomes au visage et au tronc. Aucun signe fonctionnel digestif n'était noté. Deux premiers cas d'association médulloblastome WNT, pilomatricomes et PAF ayant été rapportés en 2014 et 2018, le gène *APC* a été testé, révélant une mutation c.3183_3187delACAAA/p.Gln1062*. La coloscopie a retrouvé une centaine de polypes coliques ainsi qu'une cinquantaine de polypes fundiques, permettant de porter le diagnostic de PAF. En l'absence de mutation chez les parents, nous avons conclu à une probable néo-mutation.

Cas 2

Une patiente de 62 ans a été atteinte de 2 adénocarcinomes synchrones du sigmoïde et du rectum, avec 2 larges lésions en dysplasie de haut grade au colon droit et au colon transverse ainsi que 25 adénomes de 6 à 20mm. Sa sœur avait été atteinte 2 ans auparavant d'un adénocarcinome du rectum à 59 ans. Ces deux femmes étaient atteintes d'une agénésie dentaire familiale touchant 3 générations. L'association agénésie dentaire et adéno(carcino)me colique par mutation dominante du gène *AXIN2* étant connue depuis 2004, nous avons testé *AXIN2*, retrouvant la mutation, c.2086C < T/p.Gln696*. L'exploration familiale a permis de protéger les apparentés, révélant une polypose atténuée avec environ 20 adénomes chez une 3ème sœur à 54 ans.

Nous soulignons ainsi l'importance d'évoquer un syndrome génétique avec risque majeur de CCR devant ces manifestations, ajoutant à la liste devant faire évoquer un tel syndrome l'agénésie dentaire et les pilomatricomes. Une collaboration avec les odontologistes et les dermato-anatomo pathologistes permettrait de préciser la fréquence de syndromes monogéniques à très haut risque de CCR devant ces manifestations cliniques inhabituelles.

#19915 : Implication du polymorphisme de l'ApoE dans les démences chez une population Tunisienne

Auteurs :

Afef Achouri-Rassas (1, 2), Samia Sassi (3), Zakaria Saied (3), Ines Ben AbdelAziz (3), Rim Amouri (3), Taieb Messaoud (4), Samir Belal (3), Faycel Hentati (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. Département de Neurologie, Institut National Mongi Ben Hmida de Neurologie, Tunis, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie

Mots clefs : ApoE, Démence, Population Tunisienne

Résumé :

Introduction : L'allèle e4 du gène APOE est établi principal facteur de risque génétique de la maladie d'Alzheimer, mais son association avec d'autres types de démence et avec le «Mild cognitive impairment» (MCI) n'est pas évidente. L'objectif de notre travail était de déterminer les fréquences génotypiques et alléliques du gène APOE chez des patients atteints de maladie d'Alzheimer, de démences non-Alzheimer et de MCI et d'étudier l'influence des allèles e2 et e4 sur le risque de survenue de ces pathologies chez une population tunisienne.

Population et méthodes: Au total 118 participants ont été inclus : 62 témoins âgés cognitivement normaux et 56 patients répartis en 8 cas de MCI, 34 cas de maladie d'Alzheimer et 14 cas de démences non-Alzheimer. Le génotype APOE a été déterminé par la méthode PCR-RFLP, en utilisant l'enzyme Hha I puis en procédant à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

Résultats et discussion: La fréquence des allèles e2, e3 et e4 était respectivement de : (6.5%, 92.7%, 0.8%) chez les témoins ; (4.3%, 81.4%, 14.3%) dans la maladie d'Alzheimer ; (3.8%, 76.9%, 19.2%) dans les démences non-Alzheimer et (6.7%, 93.3%, 0%) dans le MCI. L'allèle e4 était significativement associé au risque de la maladie d'Alzheimer ($p=0.005$; $OR=20.175$, IC95%: 2.521-161.494) et des démences non-Alzheimer ($p=0.003$; $OR=28.750$, IC95%: 3.189-259.188), mais pas avec le MCI. Nous n'avons cependant retrouvé aucune association significative de l'allèle e2 ni avec le MCI ($p=0.981$, $OR=1.027$), ni avec les démences ; Alzheimer ($p=0.689$, $OR=0.757$) et non-Alzheimer ($p=0.761$, $OR=0.719$).

Conclusion : L'allèle e4 est un facteur de risque pour la maladie d'Alzheimer et les démences non-Alzheimer, mais il n'est pas associé avec le MCI. L'allèle e2 semble être protecteur de la survenue de démences, ces résultats nécessitent d'être vérifiés sur un échantillon plus large.

Pièce jointe : Résumé Assises de génétique 2020.docx

#20069 : Étude du sécrétome glial d'un modèle murin du syndrome de Rett : implications pathologiques et thérapeutiques.**Auteurs :**

Yann Ehinger (1), Valérie Matagne (1), Emilie Borloz (1), Sandrine Bourgoïn (2), Valérie Cunin (2), Michel Seve (2), Laurent Villard (1), Jean-Christophe Roux (1)

1. , Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France, Marseille, France

2. , PROMETHEE Proteomic Platform, BEeSy, Grenoble Alpes University , Grenoble , France., Grenoble, France

Mots clefs : Mecp2, sécrétome, syndrome de rett

Résumé :

Le syndrome de Rett (RTT) est une maladie neurologique sévère liée à l'X, causée par des mutations dans le gène *MECP2* (Methyl CpG Binding Protein 2). La protéine MECP2 est un régulateur transcriptionnel qui régule finement l'expression de nombreux gènes, majoritairement dans les neurones.

Plusieurs études ont fait le lien entre la perte de Mecp2 dans les astrocytes et l'apparition et progression du phénotype RTT dans des neurones sauvages (Ballas et al., 2009). Inversement, la présence de Mecp2 uniquement dans les astrocytes permet une amélioration du phénotype des neurones RTT en culture, ainsi que du phénotype de la souris *Mecp2*-déficiente (Lioy et al., 2011). Les mécanismes et médiateurs de ce processus sont encore inconnus aujourd'hui.

Afin d'identifier les facteurs gliaux impliqués dans le dysfonctionnement neuronal, nous avons produit des cultures primaires d'astrocytes de souriceaux déficients en *Mecp2*(KO) et sauvages (WT). Nous avons effectué une analyse protéomique du milieu pour identifier les régulations éventuelles de protéines sécrétées. Cette analyse a permis d'identifier 50 protéines. Parmi celles-ci, nous avons vérifié la dérégulation de 3 protéines sécrétées (Lcn2, Lgals3, B2M) et testé leur effet sur la morphologie dendritique des neurones corticaux de souris *Mecp2*-KO, dont l'arborisation est réduite. En utilisant l'analyse Sholl, nous avons constaté que l'incubation avec Lcn2 et Lgals3 pendant 48h était capable de rétablir significativement l'arborisation dendritique du neurone *Mecp2*-KO au niveau du neurone WT.

A notre connaissance, cette étude in vitro est la première à identifier des protéines sécrétées astrogliales qui pourraient être responsables du phénotype neuronal RTT et pourrait ouvrir de nouvelles voies thérapeutiques pour le traitement du syndrome de Rett.

#20578 : Diagnostics génétiques multiples (double hits) par séquençage Whole Exome (WES) : à propos de deux cas.

Auteurs :

Radoslava SARAEVA-LAMRI (1), Alice DOREILLE (2), Vanna GEROMEL (1), Anne Sophie LEBRE (3), Pascal MOUTY (1), Marie Emmanuelle NAUD BARREYRE (1), Francis ROUSSEAU (1), Mohamed TAOUDI (1), Laurent MESNARD (4), Laure RAYMOND (1)

1. BU génétique, Biomnis-eurofins, Lyon, France
2. UNTR, hopital Tenon, Paris, France
3. Departement de Genetique, hopital Tenon, Paris, France
4. INSERM UMR 1155& Service UNTR , hopital Tenon, Paris, France

Mots clefs : Séquençage Whole Exome; retard de développement; insuffisance rénale

Résumé :

Le séquençage Whole Exome (WES) est largement utilisé pour identifier les causes génétiques des pathologies génétiquement hétérogènes. Dans la plupart des cas une variation pathogène dans un gène suffit à poser le diagnostic, mais parfois des variations pathogènes sont identifiées dans deux ou plusieurs gènes et expliquent des symptômes distincts, des symptômes chevauchants ou une seule pathologie. Nous présentons ici 2 cas cliniques.

Patients et méthodes :

Cas 1 Un garçon de 13 mois avec hypotonie, retard de développement, interactions limitées.

Cas 2 Une femme de 22 ans avec une insuffisance rénale stade I, rétinite pigmentaire, obésité, un frère avec une variation pathogène homozygote dans *BBS4*.

L'ADN a été extrait, les régions codantes (33 mégabases) ont été enrichies avec le kit Twist Human Core Exome, puis séquencées en paired-end sur NextSeq500 (Illumina).

Résultats :

Cas 1 Deux variants ont été identifiés dans 2 gènes, à l'état homozygote, et classés pathogènes d'après les critères ACMG :

LARP7 (NM_015454.2): c.834dup, p.Arg279ThrfsTer5: PVS1; PM2; PP5

Les variations pathogènes de *LARP7* sont liés au syndrome d'Alazami (déficience intellectuelle sévère, dysmorphie faciale, retard de croissance, troubles du comportement).

KIAA0556 (NM_015202.3): c.3347-1G > A : PVS1 ; PM2 ; PP3

Les variations pathogènes de *KIAA0556* seraient liées au syndrome de Joubert 26 (retard de développement global, hypotonie variable, tachypnée transitoire et infections récurrentes).

Les deux syndromes ont des manifestations cliniques chevauchantes. Un retour à la clinique avec examens complémentaires et suivi de l'évolution du patient sont nécessaires pour déterminer dans quelle mesure chaque variant contribue au phénotype.

Cas 2 Deux variants ont été identifiés dans 2 gènes, et classés probablement pathogènes d'après les critères ACMG :

BBS4 (NM_033028.4) c. [221-?_405+?del(;):221-?_405+?del], homozygote, présente également chez le frère atteint.

Les variations pathogènes de *BBS4* sont associées au syndrome de Bardet Biedl (obésité, rétinopathie pigmentaire, polydactylie post-axiale, atteinte rénale, difficultés d'apprentissage).

COL4A3 (NM_000091.4) c.4783G > A, p.Gly1595Arg, hétérozygote PM1, PM2; PP3; PP5

Les variations pathogènes de *COL4A3* sont associées au Syndrome d'Alport (atteinte rénale et perte auditive neurosensorielle). La transmission est plus généralement récessive mais des cas de dominance sont possibles.

Il est difficile de dire dans quelle mesure la présence du variant dans *COL4A3* aggrave l'atteinte rénale, mais cette information peut avoir une importance dans le cadre d'une greffe rénale intrafamiliale.

Conclusions :

Avec l'utilisation du WES, les diagnostics multiples pourraient se révéler plus fréquents qu'attendu. Cette information globale permet un diagnostic plus précis et, parfois, une meilleure prise en charge du patient. Une collaboration étroite avec le clinicien est nécessaire pour évaluer correctement la part de chaque variation dans le phénotype.

#20481 : Première description d'un syndrome parkinsonien juvénile atypique associé à une nouvelle mutation homozygote de PNPLA6 dans une fratrie.**Auteurs :**

Ariane Lunati (1, 2), Isabelle Marey (1), Fabienne Clot (1), Solveig Heide (1), Christelle Thesson (2), Hayet Salhi (3), Jésus Gonzalez-Bermejo (4), Suzanne Lesage (2), Alexis Brice (2), Perrine Charles (1)

1. APHP, Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France, Paris, France
2. Unité de recherche INSERM U1127, unité de recherche CNRS UMR 7225, Université Pierre et Marie Curie, Université Paris VI, Universités Sorbonne, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM), Paris, France
3. APHP, Département de Neurologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
4. Département R3S, réanimation, réhabilitation, respiratoire et sommeil, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France, Paris, France

Mots clefs : Parkinson juvénile atypique, exome, PNPLA6, nouvelle mutation

Résumé :

Les maladies de Parkinson (MP) à début précoce (avant 40 ans) représentent moins de 5% des MP. A ce jour environ 12% de causes génétiques ont été identifiées dont certains gènes sont plus souvent associés aux formes juvéniles, avec une présentation souvent atypique et complexe. Nous avons réalisé une analyse de l'ensemble des gènes impliqués en pathologie humaine par les dernières techniques de séquençage à haut débit (Exome) chez deux frères présentant un syndrome parkinsonien juvénile atypique et identifié une mutation homozygote du gène *PNPLA6*.

Les 2 frères, seuls enfants d'un couple de parents apparentés (cousins germains) ont eu un développement psychomoteur normal et présenté des symptômes neurologiques à l'âge de 20 ans pour l'ainé né en 1992 avec un tremblement et un syndrome akinéto rigide asymétrique d'aggravation progressive avec initialement une bonne réponse au traitement par L-DOPA, et pour le second, né en 1997, à l'âge de 14 ans avec des troubles de la marche en rapport avec un syndrome akinéto rigide asymétrique, un syndrome pyramidal et des éléments dystoniques d'aggravation progressive avec un phénotype plus sévère que son frère et une réponse partielle à la L-DOPA. Les 2 patients sont suivis pour un hypogonadisme hypogonadotrophique et traités par Androtardyl.

Le bilan étiologique a comporté une IRM cérébrale subnormale pour l'ainé avec une atrophie cortico sous corticale pour le second, un DAT Scan en faveur d'une dénervation dopaminergique bilatérale. L'EMG, le bilan ophtalmologique (FO et LAF), les bilans du Cuivre et lysosomal sont normaux.

Identification dans le cadre de la recherche, chez les 2 frères d'une mutation homozygote c.1976A > G (p.Gln659Arg) du gène *PNPLA6* héritée de chacun des parents et confirmée en Sanger.

PNPLA6 code pour une neuropathy target esterase, dont les mutations bi-alléliques ont déjà été rapportées dans plusieurs syndromes: Boucher-Neuhäuser, Gordon Holmes, Laurence Moon, Oliver Mc Farlane et SPG 39, avec des spectres phénotypiques variables pouvant associer une ataxie cérébelleuse, une paraplégie spastique, un hypogonadisme hypogonadotrope, une dystrophie chorio-rétinienne, une neuropathie, une obésité, un retard statural et une déficience intellectuelle. A ce jour aucun syndrome parkinsonien n'avait été rapporté.

Ces observations témoignent de l'extension du spectre phénotypique des mutations du gène *PNPLA6* responsables de syndromes parkinsoniens juvéniles atypiques et confirme les observations déjà rapportées d'un continuum clinique et physiopathologique associés aux mutations de nombreux gènes impliqués dans les affections neuro dégénératives, continuum largement démontré ces dernières années grâce au développement des dernières techniques de séquençage à haut débit, techniques qui ont permis de décrire des phénotypes cliniques rares liés à certaines mutations, d'affiner les corrélations phénotype, génotype et de montrer ce continuum et/ou overlap entre différentes affections neuro dégénératives.

#19911 : Syndrome d'Alport lié à l'X : des mutations ponctuelles introniques profondes responsables de la maladie

Auteurs :

Marie Boisson (1, 2), Vincent Morinière (1), Nicolas Cagnard (3), Lamine Coulibaly (4), Olivier Gribouval (2), Julie Delabarre (2), Christine Bole-Feysot (5), Patrick Nitschké (3), Corinne Antignac (1, 2)

1. Génétique moléculaire, Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Laboratoire des Maladies Rénales Héritaires, Institut Imagine, Paris, France
3. Plateforme de Bioinformatique, Institut Imagine, Paris, France
4. Plateforme de Ressources Biologiques, Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Plateforme de Génomique, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : maladies rénales héréditaires, RNAseq, mutations introniques, Sanger

Résumé :

Le syndrome d'Alport est une maladie génétique rare (prévalence 1/5000) se déclarant généralement dans l'enfance et caractérisée par une néphropathie glomérulaire évoluant vers une insuffisance rénale terminale associée à une surdité de perception et des anomalies oculaires variables pour 1/3 des patients. Elle peut être liée à l'X (85%) ou autosomique récessive (15%).

En effet, des mutations dans différents gènes codant pour le collagène de type IV (*COL4A3*, *COL4A4*, *COL4A5*), constituant majeur des membranes basales, sont impliquées dans cette pathologie.

Le syndrome d'Alport lié à l'X (SA-X) est dû à des mutations dans le gène de la chaîne alpha5 du collagène de type IV (*COL4A5*). La forme de la maladie est alors beaucoup plus sévère chez les sujets de sexe masculin.

Bien que la clinique, la ségrégation de la maladie dans la famille et les examens complémentaires (anomalie d'immunofixation de la chaîne alpha 5 du collagène IV sur la biopsie cutanée) ne laissent que peu de doutes quant au gène muté, il est parfois difficile de mettre en évidence la mutation. Ainsi, pour environ 10% des patients, aucune anomalie génétique n'est identifiée.

Cette étude porte sur 10 patients atteints de SA-X pour lesquels aucune mutation de *COL4A5* n'avait été identifiée par les analyses classiques (étude des exons en panel, MLPA, Sanger). Leur cDNA a donc été étudié en séquençage Sanger après extraction de l'ARNm à partir de culots secs de fibroblastes issus d'une biopsie cutanée.

Cela a permis de mettre en évidence une rétention partielle d'intron (44 à 106 nucléotides) chez 5 patients avec pour conséquence protéique un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop précoce. Un séquençage génomique a ensuite été réalisé afin d'identifier la mutation intronique profonde responsable de ces événements. Il s'agit probablement (confirmation en cours) de la création d'un site enhancer d'épissage pour 4 patients et d'un site donneur pour un patient.

Pour deux autres patients, un saut d'exon a été mis en évidence. Celui-ci est la conséquence d'une mutation silencieuse dans l'exon concerné.

Enfin, pour les 3 patients restants, 2 semblent normaux et un ne s'amplifie que partiellement, laissant penser que d'autres mécanismes sont impliqués.

D'autre part, les patients ont aussi bénéficié d'un RNAseq. Des analyses sont en cours afin de déterminer si les modifications d'épissage précédemment décrites sont statistiquement visibles et ainsi d'automatiser la recherche de ce type de variants.

En conclusion, l'analyse en séquençage Sanger du cDNA de *COL4A5* a déjà permis de trouver de nouvelles mutations pour 7 des 10 patients atteints de SA-X dont l'exome ne mettait pas en évidence d'anomalie. Ces résultats très encourageants confirment que les mutations introniques profondes sont la réponse pour beaucoup de patients sans diagnostic moléculaire. Il faut aujourd'hui envisager de les rechercher de manière systématique dès lors que les analyses conventionnelles sont négatives.

Pièce jointe : Abstract assises génétique - Marie Boisson.docx

#19997 : L'oculome du segment antérieur de l'oeil pour le diagnostic d'un éventail diversifié d'anomalies du développement de l'oeil**Auteurs :**

caroline Beugnet (1), Jean-Louis Bourges (2), Sylvain Hanein (3), Cécile Fourrage (1, 4), Matthieu Robert (5), Pascal Dureau (6), Guylène Le Meur (7), Audrey Putoux (8), Camille Andrieu (9), Isabelle Meunier (10), Alejandra Daruich (5), Antoine Rousseau (11), Sandrine Marlin (12), Hélène Dollfus (13), Valérie Pelletier (13), Yaumara Perdomo Trujillo (13), Vincent Borderie (14), Eric Gabison (6), Patrick Nitschké (15), Stanislas Lyonnet (12, 16), Camille Leroy (17), Valérie Malan (17), Bonnefont Jean-Paul (1), Julie Steffann (1), Dominique Brémond-Gignac (5), Sophie Valleix (1)

1. Génétique Moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. OphtalmoPôle, Hôpital Cochin, Paris, France
3. Translational Genetic, Institut Imagine, Paris, France
4. Plateforme Bioinformatique, Institut Imagine, Paris, France
5. Service d'Ophtalmologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Service d'Ophtalmologie, Fondation Adolphe de Rothschild, Paris, France
7. Service d'Ophtalmologie, CHU Nantes, Nantes, France
8. Génétique Médicale, CHU Lyon GH Est-Hopital femme Mère Enfant, Bron, France
9. Génétique Médicale, Fondation Adolphe de Rothschild, Paris, France
10. Service d'Ophtalmologie, Hôpital Gui de Chauliac, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
11. Service d'Ophtalmologie, CHU Kremlin Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
12. Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
13. Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
14. Service d'Ophtalmologie, Hôpital des Quinze-vingts, Paris, France
15. Bioinformatic Core Facility, Institut Imagine, Paris, France
16. UMR-1163 INSERM-Paris Descartes, Institut Imagine, Paris, France
17. Histologie-embryologie-cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : NGS, dysgénésies du segment antérieur de l'oeil, aniridie, cataractes congénitales, dystrophies cornée, glaucome congénital, microphthalmie, anophtalmie, colobome, anomalie de Peters, syndrome d'Axenfeld-Rieger

Résumé :

Introduction : Les approches NGS se sont largement développées pour les pathologies rétinienne, mais restent très limitées, voire inexistantes, pour diverses conditions congénitales altérant le développement antérieur de l'œil alors que celles-ci sont, collectivement, responsables d'une proportion importante de cécité chez l'enfant. Nous avons donc conçu le design d'un panel global « oculome » visant à offrir une couverture de gènes connus pour un éventail de diverses pathologies développementales. L'« oculome » a été subdivisé en 4 sous-panels en fonction de la catégorie phénotypique: microphthalmie, anophtalmie, colobome (MAC); dysgénésie du segment antérieur incluant aniridie congénitale, anomalie de Peters, syndrome d'Axenfeld-Rieger, glaucome congénital, aphakie congénitale, mégalocornée (ASDA); cataractes congénitales et ectopie du cristallin ; dystrophies cornéennes.

Résultats: 600 cas index indépendants ont été sélectionnés et plus de 1000 individus ont été testés pour déterminer le mode de transmission de la maladie dans chaque famille. Le rendement diagnostique varie considérablement selon le type de sous-panel, étant plus élevé pour l'aniridie congénitale, les dystrophies de cornée et les cataractes congénitales, et moindre pour les sous-groupes phénotypiques NAC et ASDA. Parmi les 130 cas index présentant une aniridie congénitale, 114 cas index sont expliqués par un variant altérant *PAX6*, 6 ont des variants pathogènes dans *CYP11B1*, *FOXC1* ou *NDP*, et 11 cas index restent inexpliqués. Par ailleurs, 15 CNVs différents impliquant les gènes *PAX6* et *FOXC1* et leurs régions génomiques de régulation en amont et en aval de ces gènes ont été identifiés et confirmés. L'analyse de ségrégation des variants *PAX6* indique un nombre plus élevé de mutations survenues *de novo* que le pourcentage classiquement rapporté dans la littérature. De nouveaux variants, de classe 4 et 5, ont été identifiés dans différents gènes et ont permis de mettre à jour des associations phénotypiques nouvelles inhabituelles, enrichissant les corrélations phénotype-génotype de ce groupe d'entités oculaires et permettant d'affiner ou de redresser le diagnostic initial suspecté.

Conclusions : Ce panel « oculome » répond au défi de la forte hétérogénéité génétique et phénotypique du diagnostic moléculaire des pathologies altérant le développement des structures du segment antérieur de l'œil. Néanmoins, la rentabilité reste variable selon le sous-panel, notamment MAC et ASDA, dont les caractéristiques phénotypiques sont souvent chevauchantes, complexes ou ambiguës rendant le diagnostic clinique et les interprétations des variants de classe 3 difficiles. Ces résultats, obtenus sur une série de 600 cas index indépendants, suggèrent qu'une analyse moléculaire à l'échelle du génome pourrait offrir un potentiel de découverte de nouveaux gènes ou de mutations dans régions non codantes de gènes connus et, par conséquent augmenter significativement la rentabilité diagnostique de ces entités.

#20059 : Etude pharmacogénétique au cours de la leucémie aigue lymphoblastique : impact du variant A1298C du MTHFR

Auteurs :

Rim Frikha (1, 2), Maha Ben Jemaa (2), Fatma Turki (3), Iness Turki (4), Tarek Rebai (2)

1. Service de génétique médicale, CHU Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Faculté de Medecine de Sfax, université de Sfax, Sfax, Tunisie
3. Service de Génétique Médicale, university of Sfax, Sfax, Tunisie
4. Service d'hématologie clinique, university of Sfax, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Leucémie aigue lymphoblastique, MTHFR, A1298C, Méthotrexate, Toxicité

Résumé :

Introduction : La MTHFR (Methylenetetrahydrofolate réductase), enzyme clé du métabolisme des folates, est une cible du méthotrexate (MTX), couramment utilisé dans le traitement de la leucémie aigue lymphoblastique (LAL). Malgré une efficacité clinique prouvée, le MTX peut être à l'origine de toxicité sévère. La pharmacogénétique de la LAL reste une controverse en ce qui concerne l'effet du polymorphisme A1298C de la MTHFR et le risque de toxicité au MTX.

C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à évaluer la toxicité au MTX chez les patients LAL en fonction du génotype pour une meilleure corrélation génotype-phénotype ; dans le cadre de la médecine personnalisée.

Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective ayant colligé 28 patients avec LAL, ayant reçu le MTX à haute dose (MTX-HD).

Le génotypage a été procédé par une PCR-RFLP ciblant le gène *MTHFR*. La toxicité liée à l'administration du MTX a été colligée d'une manière dichotomique (présence /absence), en spécifiant pour chaque cure le type et le grade de toxicité (selon CTCAE V4). La sommation des grades de toxicité a permis de calculer un score de toxicité au MTX.

Résultat : A l'instar du génotypage réalisé ; seulement 8 patients (soit 28.6%) hétérozygotes (AC1298) ont eu au moins un épisode de toxicité (versus 13 patients normaux AA1298 et ayant une toxicité ; soit 46.4%). De plus ; la notion de toxicité semble être non associée au génotype A1298C chez les patients LAL ayant reçu le MTX-HD (OR=0.46; IC95% [0.08-2.61]; p=0.18).

Par ailleurs, le score de toxicité était plus faible chez les patients porteurs de la mutation comparativement à ceux portant le génotype sauvage sans toutefois être significatif (ST=2.5 ; IC95% [1.9-5.69] versus ST=3; IC95% [0.48-4.77]; p=0.4)

Conclusion : Le polymorphisme A1298C du *MTHFR* ne pourrait pas être un bon marqueur pharmacogénétique pour l'utilisation en pratique clinique du MTX. D'autres transporteurs du MTX pourraient présenter un intérêt mais de futures études sont nécessaires.

Pièce jointe : Résumé 20059.docx

#20369 : Le défaut d'épissage de l'exon 78 du gène DMD de la dystrophine chez la souris et les atteintes oculaires des souris knock-out Dp71 fournissent une hypothèse pour expliquer le phénotype oculaire dans la dystrophie myotonique de type 1 (DM1)

Auteurs :

Tuy Nga Brignol (1), Sandrine Segovia-Kueny (2), Nathalie Sellier (2), Alvaro Rendon (3), Patrice E. Fort (4)

1. Direction des Actions médicales, AFM-Téléthon, Evry, France

2. Direction des Actions médicales, AFM-Telethon, Evry, France

3. , Institut de la Vision, Paris, France

4. Departments of Ophthalmology and Visual Sciences, and Molecular and Integrative Physiology, University of Michigan Kellogg Eye Center, Ann Arbor, Michigan, Etats-Unis

Mots clefs : Dystrophie myotonique de type 1, maladie de Steinert, défaut d'épissage, dystrophine, cataracte, rétine

Résumé :

La dystrophie myotonique de type 1 (DM1) ou maladie de Steinert est une maladie autosomique dominante caractérisée principalement par une myotonie, une dystrophie musculaire, une cataracte précoce, une calvitie, des troubles des fonctions cognitives et de l'humeur, des troubles digestifs et des modifications de l'ECG. En dehors de la cataracte comme manifestations oculaires, la DM1 est aussi associée à une atteinte rétinienne, moins bien connue : dystrophie rétinienne, électrorétinogramme (ERG) altéré.

Le défaut génétique dans la DM1 est lié à des répétitions anormales de triplets de nucléotides CTG d'un gène de la protéine kinase *DMPK* (*dystrophia myotonica protein kinase*). Plus ce triplet est répété, plus la maladie est sévère. La DM1 présente aussi une anticipation génétique, avec une augmentation du nombre de répétitions au fil des générations dépendant du sexe du parent transmetteur.

Les répétitions anormales de triplets CTG sont recopiées dans les ARN messagers où ils forment des structures anormales en boucle, constituant des agrégats nucléaires perturbant les fonctions de protéines de liaison à l'ARN : MBNL (*Muscleblind-like*) et CELF.

Du fait de leur rôle dans la maturation d'autres ARN messagers, les modifications d'activité de MBNL et CELF1 provoquent des perturbations de l'expression d'autres gènes.

Des études expérimentales chez la souris (Rau et al, 2015) ont montré que dans la DM1, la perte de MBNL1 fonctionnelle provoque un épissage anormal de l'exon 78 du gène *DMD*, entraînant l'expression d'une dystrophine embryonnaire altérant gravement l'architecture musculaire. Ces anomalies sont en corrélation avec celles décrites dans les biopsies musculaires des patients DM1.

Le gène *DMD* avec ses 79 exons code la protéine dystrophine, qui est exprimée de façon ubiquitaire dans différents tissus et organes. La dystrophine Dp71, le produit le plus petit mais multifonctionnel du gène *DMD*, participe à différents processus cellulaires tels que l'homéostasie de l'eau, l'adhésion cellulaire, l'architecture nucléaire. Il a été démontré que dans le cerveau et la rétine de souris, différentes isoformes de dystrophine Dp71 sont produites par épissage alternatif des exons 71 à 74 et 78 (Aragon et al, 2017). Dans la rétine des souris *knock-out* Dp71 (*KO-Dp71*), la suppression de Dp71 est associée à une inflammation vasculaire et une dégénérescence capillaire (El Mathari et al, 2015). Par ailleurs, les souris *KO-Dp71* développent aussi une cataracte progressive, suite à une désorganisation des fibres du cristallin (Fort et al. 2014).

Comprendre la part du phénotype oculaire liée à la dystrophine Dp71 dans la DM1 pourrait permettre de mieux appréhender la physiopathologie de la DM1, et d'améliorer les conditions de prise en charge ophtalmologique des patients DM1.

Pièce jointe : Brignol_Assises génétiques 2020_Abstract_Poster_final.docx

#20576 : Utilisation de la méthode Idylla MSI pour la détection des tumeurs instables pour l'immunothérapie et le criblage du syndrome de Lynch

Auteurs :

Odile Cabaret (1), Molka Sebai (1), Nolwenn Lucas (2), Odile Leopold (2), Cassandre François (2), Florence Cocheteux (3), Solenne Fisson (2), Patrick Saulnier (4), Sophie Cotteret (2), Ludovic Lacroix (2, 4), Etienne Rouleau (3, 4)

1. Génétique des tumeurs - génétique constitutionnelle, Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
2. Génétique des tumeurs - tumeurs solides, Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
3. Génétique des tumeurs , Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
4. Plateforme AMMiCa, Gustave Roussy, VILLEJUIF, France

Mots clefs : Lynch, MSI, Validation de méthode, HRM, Analyse de fragment

Résumé :

Introduction

La technique de référence pour détecter l'instabilité des microsatellites est l'analyse de fragments - marqueurs mononucléotidiques choisis ou kit Promega MSI Analysis System V1.2. Le processus est long - amplification par PCR et analyse de fragments sur un séquenceur capillaire. Elle nécessite aussi une certaine expérience pour l'analyse des résultats. Elle est particulièrement adaptée pour une prise en charge de nombreux échantillons. La société Biocartis commercialise maintenant un kit de détection des MSI sur 7 marqueurs avec une approche HRM. L'analyse est individuelle et comprend en 2h30 toutes les étapes techniques et l'analyse des résultats. Nous présentons les performances de cette méthode et son positionnement.

Patients et Méthodes

Trois cohortes ont été mises en place : analyse dans le cadre des indications thérapeutiques sur les cancers (n=148), analyse de cas limite MSI de syndrome de Lynch (n=28) et analyse de patients traités par immunothérapie (n=16). La nature du matériel a été soit de l'ADN issu de tumeur congelée, soit de l'ADN issu de tumeur fixée, soit des copeaux.

Résultats

Les discordances ont été essentiellement associées à des problèmes pré-analytiques (quantité de matériel, cellularité). Les cas les plus sensibles ont été principalement les cancers de l'endomètre et les tumeurs avec des mutations sur les gènes *MSH6* et *PMS2*.

Conclusion

La prise en main de la technique est très facile. L'analyse est limitée à un échantillon à la fois et ne permet pas de récupérer l'ADN dans la cartouche. Par contre, elle pourrait être une technique de choix pour la confirmation des immunohistochimies positives, le pré-criblage pour des indications théranostique et le pré-criblage des cancers colorectaux dans le cadre de Syndrome de Lynch. Le positionnement par rapport aux criblages pour les autres cancers dans une suspicion d'un syndrome de Lynch nécessite d'être validé par des études sur de plus larges cohortes. La sensibilité reste très dépendante de l'hétérogénéité tumorale.

#20332 : Fréquence des variants de *STK11* de novo et en mosaïque dans le syndrome de Peutz-Jeghers : étude monocentrique sur 15 ans

Auteurs :

Albain CHANSAVANG (1), Aurélie TOUSSAINT (1), Véronique DUCHOSSOY (1), Virginie BENOIT (1), Joëlle COHEN (1), Chrystelle COLAS (2), Hélène DELHOMELLE (2), Pierre LAURENT-PUIG (3), Aziz ZAANAN (4), Marion DHOOGHE (5), Romain CORIAT (5), Audrey BRIAND-SULEAU (6, 7), Béatrice PARFAIT (6, 7), Eric PASMANT (6, 7), Nadim HAMZAOU (1, 7)

1. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, APHP.Centre Université de Paris , PARIS, France
2. Département de génétique, Institut Curie, Université de Recherche Paris Sciences et Lettres, Paris, France, PARIS, France
3. Service de Biochimie, Pharmacologie et Biologie Moléculaire, Hôpital Européen Georges-Pompidou, AP-HP, Université Paris Descartes, Paris, France, PARIS, France
4. Service de Gastroentérologie et Oncologie Digestive, Hôpital Européen Georges-Pompidou, AP-HP, Université Paris Descartes, Paris, France, PARIS, France
5. Service de Gastroentérologie et Endoscopie, Hôpital Cochin, APHP.Centre Université de Paris, PARIS, France
6. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, APHP.Centre Université de Paris, PARIS, France
7. Inserm UMR_S1016, Institut Cochin, Université de Paris, PARIS, France

Mots clefs : Mutation de novo ; Mosaïque ; *STK11* ; Syndrome de Peutz-Jeghers

Résumé :

Le syndrome de Peutz-Jeghers (MIM 175200) est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante causée par des variants pathogènes du gène *STK11* (alias *LKB1*) qui se manifeste par des polypes hamartomateux gastrointestinaux, une lentiginose péri-orificielle et une prédisposition à certains cancers (tumeurs gonadiques, colorectales, mammaires).

De précédentes études ont montré que plus de la moitié des cas sont sporadiques. Cependant, la proportion exacte de variants *de novo* n'est pas connue.

Bien que *STK11* soit le seul gène impliqué dans le syndrome de Peutz-Jeghers, il existe des patients pour lesquels aucun variant pathogène n'est identifié. Une partie de ces cas pourrait être causée par des mutations en mosaïque, dont la fréquence exacte est elle aussi inconnue.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer la proportion de variants *de novo* et en mosaïque sur une cohorte de patients atteints du syndrome de Peutz-Jeghers et adressés au service de Génétique et Biologie Moléculaires de l'hôpital Cochin entre 2004 et 2019.

Nous avons analysé le gène *STK11* chez 84 cas index initialement par séquençage Sanger et par MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) puis à partir de 2013 par NGS (*Next Generation Sequencing*). Chaque fois que possible, une analyse moléculaire des parents a été réalisée en cas d'identification d'un variant pathogène de *STK11* chez le cas index.

Sur les 84 cas index répondant aux critères cliniques diagnostiques, un variant pathogène de *STK11* a été identifié dans 90% des cas (76/84). L'histoire familiale était disponible pour 69 patients, dont 42 cas sporadiques (61%). Parmi les cas sporadiques, l'analyse moléculaire de 20 trios a révélé que tous les variants étaient *de novo*. Parmi ces variants *de novo*, 4/20 (20%) étaient retrouvés sous forme de mosaïque chez le cas index (fréquence allélique 15-40% dans l'ADN leucocytaire), suggérant un événement mutationnel post-zygotique précoce.

Notre étude a permis d'établir qu'au moins un quart des patients atteints du syndrome de Peutz-Jeghers étaient porteurs d'un variant pathogène *de novo* de *STK11*, dont une proportion non négligeable de variants en mosaïque (5% de l'ensemble des patients, 20% des variants *de novo*). Etant donné l'impact de l'identification de variants pathogènes dans le gène *STK11* sur la prise en charge et le suivi des patients, les laboratoires en charge du diagnostic du syndrome de Peutz-Jeghers doivent s'assurer de la mise en place de techniques appropriées à la détection de variants en mosaïque.

Pièce jointe : Abstract_STK11_v6.docx

#20452 : Les défis posés par l'identification de variants rares dans les gènes soumis à empreinte génomique parentale : l'exemple des variants du gène UBE3A**Auteurs :**

Florence Riccardi (1, 2), Svetlana Gorokhova (3, 2), Mathieu Cerino (4, 2), Marie Antoinette Voelckel (3), Catherine Vovan (3), Charlène Chaix (3), Laurent Villard (2, 3), Catherine Badens (3, 2), Anne Moncla (5), Nicole Philip (3, 2), Perrine Malzac (3, 6)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital d'enfant La Timone, CHU de Marseille, AP-HM, Marseille, France
2. MMG, Inserm U1251, Faculté de Médecine Marseille, Université Aix Marseille 2, Marseille, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants La Timone, CHU de Marseille, AP-HM, Marseille, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants La Timone, CHU de Marseille, AP-HM, Marseille, France
5. Université Aix Marseille 2, Marseille, France, Marseille, France
6. Centre d'Ethique Médicale Paca-Corse, Hôpital La Timone, CHU de Marseille, AP-HM, Marseille, France

Mots clefs : UBE3A ; empreinte génomique parentale ; NGS

Résumé :

Le génome humain compte plus de 40 régions soumises à empreinte génomique parentale. Parmi elles, 11 loci sont impliqués en pathologie humaine (Mackay-Temple, 2017). Les anomalies moléculaires à l'origine de ces pathologies sont diverses: variations de séquence (CNV, SNV), disomie uniparentale (UPD) ou plus rarement anomalie de l'empreinte. A l'heure actuelle, 6 gènes soumis à empreinte génomique parentale peuvent être analysés en routine par les laboratoires de génétique moléculaire: *CDKN1C*, *GNAS*, *IGF2*, *MAGEL2*, *MKRN3* et *UBE3A*. L'interprétation des variants dans ces gènes soumis à empreinte génomique parentale soulève des difficultés d'interprétation liées au mode d'hérédité.

L'absence ou l'inactivation du transcrit maternel du gène *UBE3A* est à l'origine du syndrome d'Angelman. Seul l'allèle maternel de ce gène est normalement exprimé dans les neurones humains. Environ 10% des cas de syndrome d'Angelman sont dus à des variants ponctuels dans le gène *UBE3A* et le phénotype associé est moins sévère. L'interprétation de ces variants est délicate car dépendante de l'origine parentale de l'allèle : un variant potentiellement pathogène, hérité d'une mère asymptomatique peut être considéré comme pathogène ; ce même variant s'il est hérité du père ne permet pas d'expliquer le trouble du neurodéveloppement de l'enfant mais peut être une information importante pour le reste de la famille.

Nous avons étudié l'ensemble des variants identifiés dans le gène *UBE3A* par notre laboratoire depuis 1997 (554 demandes d'analyse ciblées). La nomenclature des variants a été mise à jour et leur pathogénicité a été réévaluée selon les recommandations. Nous avons identifié 77 variants rares, hérités de la mère dans 83% des cas. En cas de variants de signification inconnue (VUS), l'analyse de ségrégation a été étendue aux grands-parents maternels. Cette stratégie nous a permis d'améliorer la classification des VUS dans 11 cas (44%). Neuf variants hérités de la mère et du grand-père maternel ont ainsi pu être reclassés comme étant «pathogène ou probablement pathogène». Deux variants hérités de la mère et de la grand-mère maternelle ont été reclassés comme étant «bénin».

Le gène *UBE3A* est maintenant inclus dans tous les panels de gènes de déficience intellectuelle (DI) ou d'épilepsie. Nous sommes confrontés à une nette augmentation des demandes d'avis pour des variants d'*UBE3A* d'interprétation difficile.

Les approches diagnostiques par analyse de l'exome ou du génome en trio se généralisent. Dans la DI modérée à sévère, les variants *de novo* dans les gènes autosomiques dominants sont les plus fréquemment en cause (Hamdan et al. 2017). Or, la stratégie d'analyse bioinformatique priorisant les variants *de novo* risque d'ignorer à tort un variant pathogène, hérité d'un parent sain, dans un gène soumis à empreinte parentale. Nous proposons des recommandations pour l'interprétation des variants du gène *UBE3A*, transposables aux autres gènes soumis à empreinte génomique parentale.

Pièce jointe : Abstract_UBE3A_vf.docx

#20290 : Trisomie 9 libre, complète et homogène sur signes d'appel échographiques, un diagnostic pré-natal de cytogénétique conventionnelle

Auteurs :

Agathe PAUBEL (1), Maud DURAND (2), Elisabeth BENSARD (3), Sylvie GAUDISSARD (1), Christophe LOIRET (1), Karine LUBINEAU (1), Mélanie JIMENEZ (1)

1. Génétique Humaine, Laboratoire ABO+, Groupe Laborizon, CHAMBRAY LES TOURS, France
2. Gynécologie-Obstétrique, Pôle Santé Léonard de Vinci, CHAMBRAY LES TOURS, France
3. Centre d'échographie - Doppler 3D, Pôle Santé Léonard de Vinci, CHAMBRAY LES TOURS, France

Mots clefs : cytogénétique conventionnelle pré-natale, analyse chromosomique sur puce à ADN, Trisomie 9

Résumé :

La trisomie 9 libre, complète et homogène est une anomalie chromosomique rare qui est habituellement associée à des fausses couches précoces.

Nous rapportons le cas d'une grossesse pour laquelle a été dépisté échographiquement, au terme de 12 SA, un ensemble de signes d'appel non spécifiques qui, couplés à des marqueurs sériques atypiques, ont fait préconiser un contrôle échographique précoce à 3 semaines.

Le contrôle échographique de 16 SA a confirmé la présence d'un fœtus polymalformé associant, entre autres, une tétralogie de fallot, une dysplasie rénale bilatérale avec rein en fer à cheval, une fosse postérieure kystique avec agénésie vermiennienne, un rétrognatisme marqué et un oligoamnios.

Devant le tableau clinique, une ponction de liquide amniotique pour caryotype a été prescrite. La stratégie diagnostique retenue a été, dans un premier temps, l'analyse du prélèvement en cytogénétique conventionnelle (FISH interphasique et caryotype). Une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) a été préconisée en deuxième intention en cas d'absence d'anomalie cytogénétique.

La FISH interphasique a permis d'exclure les aneuploïdies des chromosomes 13, 18, 21, X et Y. La culture cellulaire a mis en évidence une formule chromosomique cytogénétiquement déséquilibrée avec présence d'une trisomie 9 libre, complète et homogène.

Bien que l'ACPA, dans le contexte de signe(s) d'appel(s) échographique(s) (SAE) ait démontré sa valeur ajoutée au regard du caryotype conventionnel en terme de rendement diagnostique (6 à 7% supplémentaire), aucun consensus professionnel n'a été clairement établi à l'heure actuelle quant à son positionnement au regard du caryotype.

A une époque où l'emballage pour les nouvelles technologies fait prescrire des ACPA en première intention dans le cas de SAE, ce cas est l'illustration manifeste que la cytogénétique conventionnelle a toujours bien sa place dans le parcours du diagnostic pré-natal des anomalies chromosomiques.

Le maintien du diagnostic en cytogénétique conventionnelle en première intention a notamment pour avantages de maintenir des compétences techniques spécifiques indispensables (dont la nécessité de maintien de culture cellulaire en parallèle des ACPA pour permettre notamment de réaliser les vérifications et de déterminer la mécanique chromosomique indispensable au conseil génétique) et d'éviter les problèmes suscités par la découverte de variants de signification inconnue et de données incidentales.

Il nous semble important que restent discutées et concertées les indications d'ACPA pré-natale afin de décider de leur réalisation en première ou deuxième intention. Bien entendu, en cas de résultat normal en cytogénétique conventionnelle un délai de rendu de résultat par ACPA n'excédant pas les recommandations (6 semaines) doit pouvoir être garanti par l'organisation du laboratoire en charge du diagnostic pré-natal.

Pièce jointe : Trisomie 9 LCH en pré-natal.docx

#20075 : L'hypomotilité gastro-intestinale liée au syndrome de Rett est-elle induite par une dérégulation cholinergique du système nerveux entérique ?**Auteurs :**

Emilie Borloz (1), Camille Fulachier (1), Marie-Solenne Felix (1), Yann Ehinger (1), Laurent Villard (1), Jean-Christophe Roux (1)

1. , Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France, Marseille, France

Mots clefs : syndrome de rett, mecp2, acétylcholine, système nerveux entérique

Résumé :

Le syndrome de Rett (RTT) est une pathologie neurologique grave liée à l'X, affectant presque exclusivement les filles et dont les symptômes apparaissent au cours du développement postnatal. Ce syndrome est principalement causé par des mutations *de novo* du gène *MECP2* (Methyl CpG binding Protein 2), codant pour un modulateur transcriptionnel qui s'exprime principalement dans les neurones post-mitotiques et favorise la fonction neuronale.

Bien que les anomalies neurologiques soient les principales manifestations cliniques dans le RTT, des troubles gastro-intestinaux (GI) et nutritionnels ont fréquemment été signalés chez les patientes (92 %), dont 80% souffrent de constipation (Motil et al., 2012). De plus, une enquête sur la douleur réalisée auprès des parents révèle que l'atteinte gastro-intestinale est la principale source de souffrance (66%) chez les patientes (Symons et al., 2013).

Des troubles GI ont également été observés chez un modèle murin du syndrome de Rett (souris *Mecp2*-déficiente) (Wahba et al., 2016). Ils se traduisent par une hypomotricité intestinale dont la cause pourrait être un dysfonctionnement des neurones entériques dû à leur déficit en *Mecp2*.

Nous avons étudié, chez la souris *Mecp2*-KO, les neurones myentériques de l'intestin qui contrôlent la motricité intestinale. Nous avons pu mettre en évidence une dérégulation de la neurotransmission cholinergique, la principale voie de transmission excitatrice dans le système nerveux entérique (SNE). Chez la souris *Mecp2*-déficiente, l'expression de l'enzyme de synthèse et de dégradation de l'acétylcholine (ACh) est diminuée par rapport à celui observé chez les souris sauvages. Par ailleurs, la quantification protéique de choline et d'ACh montre une réduction de 47% dans les neurones myentériques de la souris *Mecp2*-déficiente alors que, parallèlement, le taux de choline, précurseur de l'ACh, est augmenté de 15%. Ces résultats laissent supposer un défaut d'enzyme de synthèse.

Une meilleure compréhension des mécanismes neuronaux impliqués dans l'atteinte gastro-intestinale permettrait de trouver des cibles thérapeutiques pour améliorer la qualité de vie des patientes atteintes du RTT.

#20531 : Beckwith-Wiedemann ou anomalie d'IGF1R ? A propos d'un cas de remaniement chromosomique complexe.**Auteurs :**

Frédéric Brioude (1), Sandra Chantot-Bastarud (2), Eloise Giabicani (1), Sandra Whalen (3), Irene Netchine (1)

1. Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Trousseau - APHP, Paris, France
2. Département de Génétique, Hôpital Trousseau - APHP, Paris, France
3. Département de Génétique Médicale, Hôpital Trousseau - APHP, Paris, France

Mots clefs : Beckwith Wiedemann, empreinte parentale, IGF1R, croissance foetale

Résumé :

Parmi les facteurs contrôlant la croissance foetale et post-natale, le système des IGF représente un acteur majeur. Ce système comprend deux ligands (IGF1 et IGF2) qui stimulent la croissance foetale et post-natale via l'activation du récepteur IGF1R. Le gène IGF2 est un gène soumis à empreinte parentale, exprimé uniquement à partir de l'allèle paternel dans la région 11p15. Des anomalies du gène IGF2 sont responsables des syndromes de Silver Russell (retard de croissance) et de Beckwith Wiedemann (croissance excessive). Les anomalies du gène IGF1R sont responsables de retards de croissance pré et post nataux, associés habituellement à une microcéphalie.

Nous rapportons le cas d'une patiente présentant un remaniement chromosomique complexe, associant une délétion 15qter incluant le gène IGF1R (habituellement responsable de retard de croissance), et une duplication paternelle de la région 11p15 en mosaïque (habituellement responsable de syndrome de Beckwith Wiedemann). L'enfant est né avec des paramètres de naissance normaux, suggérant une compensation du défaut d'IGF1R par une surexpression d'IGF2. En revanche, la patiente présentait un retard de croissance post-natal, suggérant un rôle moindre d'IGF2 dans la croissance post natale.

Ce cas complexe permet une meilleure compréhension du rôle respectif des différents éléments du système des IGF, et permet une meilleure connaissance de la physiopathologie des anomalies de la croissance foetale et post-natale.

#20317 : Deux variants récurrents de novo à effet gain de fonction du gène CACNA1G responsables d'un tableau d'ataxie congénitale sévère avec dysmorphie et anomalies des extrémités**Auteurs :**

Leila QEBIBO (1), Alexandra AFENJAR (1), Jeanne AMIEL (2), Nadia BAH-BUISSON (3), Laurence FAIVRE (4), Alice GOLDENBERG (5), Bronwyn GRINTON (6), Helen MCCULLAGH (7), Kimberly MCDONALD (8), Marwan SHINAWI (9), Annick TOUTAIN (10), Yael WILNAI (11), Vincent CANTAGREL (12), Lydie BURGLEN (1)

1. CRMR Malformations et Maladies congénitales du cervelet, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Département de génétique, Hôpital Necker, Paris, France
3. service de neuropédiatrie, Hôpital Necker, Paris, France
4. Département de génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
5. Département de génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Epilepsy research centre, University of Melbourne, Melbourne, Australie
7. service de neuropédiatrie, Leeds teaching hospitals-NHS trust, Leeds, Royaume Uni
8. service de neuropédiatrie, University of Mississippi Medical Center, Mississippi, Etats-Unis
9. Département de génétique, Washington University School of Medicine, Washington, Etats-Unis
10. Département de génétique, CHU de Tours, Tours, France
11. Département de génétique, "Dana" Children Hospital-Tel Aviv Sourasky Medical Center, Tel Aviv, Israël
12. Developmental Brain Disorders Lab, Institut IMAGINE, Paris, France

Résumé :

Le gène *CACNA1G* code pour un canal de la grande famille des canaux calciques voltage dépendant qui jouent un rôle important dans l'excitabilité neuronale. Il existe plusieurs types de canaux calciques, à haut voltage comme le canal L,P/Q,N,R ou à bas voltage comme les canaux calciques de type T.

CACNA1G code pour la sous-unité Cav3.1 des canaux calciques de type T, très fortement exprimée au niveau des cellules de Purkinje et des noyaux cérébelleux profonds et dont des mutations ont été décrites initialement dans des ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes progressives à début tardif.

Récemment, un tableau d'ataxie cérébelleuse congénitale avec atrophie et/ou hypoplasie cérébelleuse a été rapporté chez 4 patients présentant des mutations dominantes *de novo* à effet gain de fonction de *CACNA1G*.

Nous rapportons une série de 10 patients présentant ce tableau congénital, associant un retard du développement psychomoteur sévère avec déficience intellectuelle, ataxie, épilepsie non constante, anomalies des extrémités (syndactylies, brachydactylies) et dysmorphie (Cheveux et sourcils fins et clairsemés, narines hypoplasiques antéversées, philtrum lisse et plat, front large et grandes oreilles basses implantées). L'IRM montre une atrophie cérébelleuse. Seuls 2 variants récurrents de *CACNA1G* (p.Ala961Thr et p.Met1531Val) sont à ce jour associés à ce tableau sévère et précoce. Ces variants sont situés au niveau de la partie intracellulaire du segment S6 des domaines protéiques II et III respectivement, ils impactent la fonction du canal calcique en causant une augmentation significative d'activité du canal et attestant ainsi de l'effet gain de fonction. Ce changement de propriétés du canal entraînerait une augmentation de l'excitabilité neuronale des noyaux cérébelleux profonds.

Nous confirmons à travers cette étude, une nouvelle entité d'ataxie cérébelleuse autosomique dominante à début précoce lié au gène *CACNA1G* associée à la présence de deux variants récurrents à effet gain de fonction.

#20196 : Implication des familles de patients dans la description du syndrome MED13L, apport de la base de données GENIDA pour la caractérisation de syndrome rare**Auteurs :**

Roseline Caumes (1), Jamal Ghoumid (1, 2), Sylvie Manouvrier-Hanu (1, 2), Jean-Louis Mandel (3, 4), Florent Colin (5), Thomas Smol (6, 2)

1. Clinique de Génétique, CHU Lille, Lille, France
2. EA7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
3. INSERM U964 - CNRS UMR7104 - Univ. Strasbourg, IGBMC, Strasbourg, France
4. USIAS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
5. INSERM U964 - CNRS UMR7104 - UNIV. Strasbourg, IGBMC, Strasbourg, France
6. Institut de génétique médicale, CHU Lille, Lille, France

Mots clefs : MED13L, GENIDA,

Résumé :

Le syndrome MED13L, lié à des variations pathogènes du gène *MED13L*, est caractérisé par une déficience intellectuelle, un retard de langage et une hypotonie. Environ 70 patients sont rapportés dans la littérature scientifique selon des observations génétiques et neurologiques. Avec le site collaboratif GENIDA, les familles peuvent enrichir la description phénotypique de ce syndrome rare.

Les informations phénotypiques partagées par les familles *MED13L* dans la base de données GENIDA ont été comparées aux données de la littérature afin de pouvoir mieux définir leurs difficultés et adapter la prise en charge des patients.

Les descriptions de 26 patients *MED13L* d'âge moyen de 13 ans ont été analysées. Aucun problème médical majeur n'est rapporté par 73% des familles. Les difficultés associées au langage expressif sont présentes pour 87% (22/24) des patients de plus de 2 ans. Seuls 42% des patients possèdent une communication verbale compréhensible par l'entourage avec des premiers mots vers 3 ans. Le langage réceptif est considéré comme meilleur avec une bonne compréhension dans 88% (22/25) des cas. Les patients sont décrits comme souriants (10/25) et sociables (9/25). Le développement moteur est marqué par une tenue assise à 12 mois et une marche autonome vers 30 mois avec instabilité et fatigabilité pour 72% des patients. Les infections ORL et les affections respiratoires semblent fréquentes dans les premières années de vie avec nécessité de pose de drains et de traitement de fond pour l'asthme. Parmi les différences avec la littérature, les anomalies ophtalmologiques sont présentes chez 76 % des patients contre 33% avec une forte prévalence de l'hypermétropie (85%) et la nécessité d'appareillage (78%).

Grâce à l'apport des familles dans la description des patients *MED13L* dans GENIDA, un suivi particulier pourrait être proposé orienté sur les difficultés neurosensorielles (ORL et ophtalmologique) et orthopédiques, ainsi que le développement d'outils de communication non verbale.

#19930 : Whole Exome Sequencing of tumors. What did you expect?

Auteurs :

Stelly BALLET (1), Mégane BOUVET (1), Virginie BERNARD (2), Camille BENOIST (2), Eve LAPOUBLE (1), Tiphaine ADAM-DE-BEAUMAIS (3), Birgit GEOERGER (3), Laurence BRUGIERES (4), Gudrun SCHLEIERMACHER (5, 6), Franck BOURDEAUT (5), Gaelle PIERRON (1)

1. Unité de Génétique Somatique, Institut Curie, PARIS, France
2. Bio-informatique clinique, Institut Curie, PARIS, France
3. Oncologie Pédiatrique et de l'adolescent, Institut Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
4. Service de Pédiatrie, Institut Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
5. SIRIC-Recherche Translationnelle, Institut Curie, PARIS, France
6. Oncologie Pédiatrique, Institut Curie, PARIS, France

Mots clefs : Cancer pédiatrique, rechute, Exome, constitutionnel, prédispositions, conseil génétique, consentement, Cancer Gene Census

Résumé :

Les projets de séquençage massif permettent d'avoir accès à une multitude de données génomiques aussi bien au niveau tumoral que constitutionnel.

Ainsi, ces études prospectives de preuve de concept évaluent-elles les possibilités de stratifier le traitement des patients selon le profil moléculaire des tumeurs en rechute ou réfractaires de l'enfant au moyen de la génomique à haut débit.

L'identification des tumeurs potentiellement sensibles à une molécule thérapeutique existante quel que soit le type de cancer permet d'optimiser la prise en charge de ces enfants et adolescents en situation d'échec thérapeutique.

Dans ce cadre, des couples d'Exome tumoral et d'Exome constitutionnel, ont été analysés par séquençage à très haut débit (NGS). En 4 ans, les profils génomiques et transcriptomiques (RNAseq) individuels de près de 600 patients dont 300 à l'Institut Curie ont été établis (programme MAPPYACTS). Les données constitutionnelles servent essentiellement à soustraire les polymorphismes et variants privés du patient. Ainsi, les variants impliquant des gènes non liés ou non impliqués dans le processus tumoral (Cancer Gene Census list) sont filtrés. Cependant, outre les potentielles cibles thérapeutiques et marqueurs analysés, des variations présentes dans des gènes pouvant être associés à une prédisposition génétique chez ces patients sont mises en évidence de façon « fortuite ».

Le décalage entre la signature du consentement et le rendu de résultats est généralement important, et alors que l'objectif principal de l'étude est d'identifier des cibles thérapeutiques de patients en situation oncologique grave d'échappement au traitement, les analyses de l'ADN constitutionnel peuvent révéler des informations inattendues, considérées comme secondaires mais importantes. Dans ce contexte, une concertation pluridisciplinaire entre biologistes, généticiens et onco-hématopédiatres discutant les résultats, est essentielle afin de les restituer de façon adaptée à chaque famille dans le cadre d'un conseil génétique.

Dans le contexte de la nouvelle loi de bioéthique 2019 face aux découvertes incidentes et des grands projets nationaux comme France Médecine Génomique 2025, l'étude et l'évaluation de ces gènes de prédispositions au cancer identifiés lors d'études tumorales ouvrent le champ d'information disponible à proposer aux patients et leur famille.

Pièce jointe : WES_of_tumors_What did you expect_final.doc

#20334 : Is BRCA2 involved in early onset colorectal cancer risk?

Auteurs :

Mathilde GAY-BELLILE (1, 2), Maud PRIVAT (1, 2), Mathias CAVAILLE (1, 2), Alexandra MARTINS (3), Sandrine CAPUTO (4), Céline PEBREL-RICHARD (5, 6), Sandrine VIALA (1, 2), Carole CORSINI (7), Michael RODRIGUES (8), Nicolas BARNICH (8), Yannick BIDEZ (1, 2), Nancy UHRHAMMER (1, 2), Yves-Jean BIGNON (1, 2)

1. Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
2. INSERM, U1240 Imagerie Moléculaire et Stratégies Théranostiques, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France
3. INSERM U1245 Genomics and Personalized Medicine in Cancer and Neurological Disorders, UNIROUEN, Normandie Université, Normandy Centre for Genomic and Personalized Medicine, Rouen, France
4. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
5. Service de Cytogénétique Médicale, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
6. Imagerie Moléculaire et Stratégies Théranostiques, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France
7. Département de Génétique Médicale, unité d'oncogénétique clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
8. Laboratoire Microbes Intestin Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte (M2iSH), Inserm U1071, M2iSH, USC-INRA 2018, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : colorectal cancer risk, biallelic BRCA2 variants, Fanconi anemia, HBOC syndrome

Résumé :

BRCA2 codes for a DNA repair protein involved in homologous recombination. Heterozygous germline pathogenic variants in *BRCA2* are involved in hereditary breast and ovarian cancer (HBOC) syndrome and biallelic pathogenic variants are responsible for Fanconi anemia (FA). Here we report two families harbouring biallelic *BRCA2* variants and presenting early-onset CRC without signs of FA.

In both families, a multigene panel analysis was proposed in context of early-onset colorectal cancer and did not reveal any variant in the major genes known to be involved in CRC risk (*MMR*, *APC/MUTYH*, *POLD1/POLE*, *BMPRI1/SMAD4*) and in three additional genes recently described in CRC risk (*NTHL1*, *GREM1* and *RNF43*).

In the first family, two brothers presented a CRC at 37 and 38 years old. Our analysis identified biallelic *BRCA2* variants in these two probands: the pathogenic frameshift alteration c.4471_4474del; p.(Leu1491Lysfs*12) in exon 11, and the splice variant c.9648+1G > A. Both RNA and minigene splicing studies confirmed that this latter variant results in the skipping of *BRCA2* exon 26.

In the second family, the proband presented a CRC at 39 years old and genetic analysis revealed a pathogenic nonsense variant c.9196C > T; p.(Gln3066*) in exon 24, and an in-frame insertion c.44_45insATT; p.(Ile14_Phe15insLeu) in a highly conserved amino acid region.

In these two families, no patient presented signs of FA, and cytogenetic studies did not reveal any chromosome breakage or radial forms suggestive of FA diagnosis.

In both cases we observed an association *in trans* between a pathogenic variant and a variant of unknown significance (according to the ACMG guidelines). These latter variants are absent or very rare in general population database, they have an impact on *BRCA2* protein structure and they co-segregate with early onset CRC phenotype suggesting that they could be hypomorphic variant.

A similar report of two sisters with biallelic *BRCA2* variants and CRC predisposition was described by Degrolard-Courcet *et al* (2014).⁶ Both sisters declare CRC at 31 and 35 years-old for the first one and at 27 years old for the second one. Genetic analysis revealed a pathogenic frameshift variant in exon 10 (c.1845_1846del) and a missense variant (c.7802A > G) resulting in partial splicing defect.

This study and ours suggest that a *BRCA2* pathogenic variant associated *in trans* with a hypomorphic variant could confer intermediate or no FA symptoms but instead be associated with a high risk of developing CRC.

These observations suggest that *BRCA2*, in a biallelic manner, could be implicated in familial CRC inheritance. They also show that multigene panel testing can reveal genetic predisposition, irrespective to the clinical familial phenotype. Thereby, this kind of analysis could help us to better understand genotype-phenotype correlations and determine if systematic colorectal screening should be recommended for biallelic *BRCA2* variant carriers.

Pièce jointe : Abstract assises 2020.docx

#20327 : Un nouveau cas du syndrome de Houlston Ironton Temple associé à une délétion 3q22.1-q24.

Auteurs :

Marie CLEMENCEAU (1), Chloé PUISNEY-DAKHLI (1), Dima JOUNI (1), Nolwenn LE SACHE (2), Nada ANDEWICKELE-SEMAAN (2), Romain DIOT (1), Gérard TACHDJIAN (1), Aline RECEVEUR (1)

1. Histologie, embryologie et cytogénétique, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
2. Service de réanimation pédiatrique et néonatale, Hôpital Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France

Mots clefs : Syndrome Houston Ironton Temple, blépharophimosis syndrome, ACPA, FOXL2

Résumé :

En 1994, Houlston, Ironton et Temple ont décrit un syndrome « HITs » qui associe : une cardiopathie, un blépharophimosis, une anomalie radiale et anale, dans une fratrie. Ce syndrome est en lien avec une délétion intercalaire du bras long d'un chromosome 3 (3q23). Nous rapportons un deuxième cas avec ce syndrome HITs, comportant : un blépharophimosis, une antéposition anale associée à une fistule recto-vaginale, une tétralogie de Fallot, une microcéphalie, une dysmorphie faciale et une épilepsie.

L'analyse en ACPA effectuée sur une puce Agilent 180K a mis en évidence une délétion intercalaire du bras long d'un chromosome 3, en 3q22.1-q24, de 13 Mb de novo, emportant des gènes OMIM dont FOXL2, SCOLCE2, ATR, COXPD5, NS11 et RYK. Le « blépharophimosis syndrome » ou BPES de type I et II, a été rapporté dans de nombreux cas, impliquant le gène FOXL2 dans la région 3q23.

L'haploinsuffisance de FOXL2 est responsable d'une tétrade clinique (Blépharophimosis, ptosis, épicanthus inversus et télécanthus). Des signes cliniques supplémentaires sont dus à un syndrome des gènes contigus en fonction de la taille de la microdélétion.

La délétion 3q22.1-q24 chez notre patiente concerne plusieurs gènes pouvant être impliqués dans le phénotype : ATR responsable de la microcéphalie, du retard mental et de croissance ; PCOLCE2 impliqué dans les cardiopathies ; COXPD5 ayant un rôle dans la dysmorphie faciale et l'épilepsie ; NS11 responsable de dysmorphie faciale et de cardiopathies ; RYK à l'origine du syndrome de Seckel associant une microcéphalie, une petite taille et un retard mental ; ZIC1, ZIC4, FOXL2, BFSP2, RBP1, EPHB1, ATR, TRPC1, RYK et AGTR1 ont été rapportés comme étant liés au développement embryonnaire.

Notre cas est identique au cas princeps décrit par Houlston, Ironton et Temple avec des malformations ano-génitales (anus antéposé et fistule recto-vaginale). L'association du BEPS à une anomalie génitale implique possiblement un gène du développement embryonnaire du sinus urogénital et des canaux de Muller à l'origine de la formation du tractus génital féminin.

L'étude d'autres cas permettrait de mieux appréhender la complexité phénotypique des patients présentant des délétions interstitielles comme celle présentée par notre patient.

#19854 : A propos de 2 cas de « Nanisme Microcéphalique » avec mutations dans le gène PHGDH.

Auteurs :

Chloé Quélin (1), Philippe Loget (2), Dominique Aussel (3), Maia Proisy (4), Laurent Pasquier (5), Sylvie Odent (6), Annie Laquerrière (7), Nicolas Chatron (8, 9), Gaetan Lesca (8, 9), Patrick Edery (8, 10), Audrey Putoux (8, 10)

1. Génétique Clinique, Hôpital Sud, Rennes, France
2. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU Pontchaillou, Rennes, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Clinique La Sagesse, Rennes, France
4. Département de Radiologie et d'Imagerie Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
5. Génétique Clinique, CHU Hôpital sud, Rennes, France
6. Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
7. Laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Rouen, Rouen, France
8. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
9. Institut Neuromyogène, Equipe Métabolisme énergétique et développement neuronal, CNRS UMR 5310, INSERM U1217, Université Lyon 1, Lyon, France
10. Equipe GENDEV, INSERM U1028 CNRS UMR5292 UCBL1, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : défauts de synthèse de la L-Sérine, microcéphalie, Neu-Laxova, PHGDH, Taybi-Linder

Résumé :

Introduction : Les défauts de synthèse de la L-Sérine sont associés à des pathologies sévères de transmission autosomique récessive avec un spectre phénotypique large allant de formes précoces létales (syndrome de Neu-Laxova) à des formes juvéniles voire de l'adulte, en passant par des formes de l'enfant présentant microcéphalie, déficience intellectuelle sévère, épilepsie précoce réfractaire et tétraparésie spastique progressive. Ce groupe de pathologies est associé à des mutations dans les trois gènes codant les enzymes de la voie de synthèse de la L-Sérine et comprend le déficit en 3-phosphoglycérate déshydrogénase (mutations du gène *PHGDH*), le déficit en phosphosérine aminotransférase (mutations du gène *PSAT1*) et le déficit en phosphosérine phosphatase (mutations du gène *PSPH*). Nous rapportons les observations de 2 fœtus présentant un phénotype de nanisme primordial microcéphalique, porteurs de mutations dans le gène *PHGDH*.

Cas cliniques : Fœtus 1 : IMG à 32 SA pour RCIU, microcéphalie et anomalies de gyration. A l'autopsie, le fœtus présentait un RCIU homogène avec microcéphalie majeure, un retard de maturation osseuse, un syndrome dysmorphique, une arthrogrypose distale, une cataracte congénitale bilatérale et une microcéphalie à gyration extrêmement simplifiée (sans trouble de la migration) associée à une hypoplasie vermienne, une hypoplasie des faisceaux pyramidaux et une agénésie partielle du corps calleux. Un exome trio a mis en évidence 2 mutations pathogènes du gène *PHGDH*, à l'état hétérozygote composite, chacune des mutations étant héritée d'un parent. Fœtus 2 : IMG à 31 SA (couple consanguin) pour RCIU sévère et homogène, anomalies cérébrales (agénésie du corps calleux, cervelet petit, retard de gyration), varus d'un pied et ensellure nasale peu marquée. Le fœtus présentait un RCIU homogène, un retard de maturation osseuse, une dysmorphie faciale et des malpositions des extrémités. Il n'a pas été réalisé de vérification autopsique (refus parental). Un exome en trio a mis en évidence une mutation homozygote dans le gène *PHGDH* déjà rapportée dans le syndrome de Neu-Laxova.

Discussion/Conclusion : Le syndrome de Neu-Laxova est un syndrome rare, léthal, associant un RCIU sévère, une microcéphalie, des anomalies cérébrales (anomalies de gyration, agénésie du corps calleux, hypoplasie cérébelleuse, agénésie vermienne, ...), une dysmorphie faciale, une ichtyose, des contractures articulaires, des anomalies ophtalmologiques et des malformations viscérales. Moins de 10 fœtus atteints de syndrome de Neu-Laxova lié au gène *PHGDH* sont rapportées à ce jour. Nous discutons le chevauchement phénotypique de ce syndrome avec le syndrome de Taybi-Linder ou MOPD I/III (TALS, OMIM 210710), une forme sévère de nanisme primordial microcéphalique avec anomalies cérébrales en lien avec des mutations dans le gène *RNU4ATAC*, diagnostic initialement suspecté chez ces fœtus.

L'ensemble de ces résultats nous a permis de montrer que la voie NOTCH régule l'activité SHH dans la région antérieure de l'hypothalamus, pendant une courte fenêtre temporelle du développement cérébral. La voie NOTCH peut donc être ajoutée à la multitude de régulateurs impliqués dans le maintien d'une activité SHH compatible avec un développement normal du cerveau. Cette étude contribue à caractériser les mécanismes moléculaires qui sont engagés dans les pathologies complexes à transmission oligogénique.

#20515 : Description d'un nouveau patient porteur d'une mutation CDC42 et élargissement du spectre phénotypique.

Auteurs :

Tiphany LAURENS (1), Mireille IRABE (1), Domitille DUBOIS (2), Marie-Line JACQUEMONT (3)

1. UF de Génétique Médicale, CHU La Réunion - site St Pierre, St Pierre, France
2. SESSAD, Fondation Père Favron, St Louis, France
3. UF de Génétique Médicale, CHU La Réunion - site St Pierre, St Pierre, Réunion

Mots clefs : CDC42, syndrome de Takenouchi-Kosaki, limitations articulaires multiples, syndrome polymalformatif, imperforation anale

Résumé :

Les mutations du gène *CDC42* ont été décrites en pathologie constitutionnelle humaine en 2015, initialement avec un tableau de macrothrombocytopénie syndromique, le syndrome de Takenouchi-Kosaki, puis chez 15 patients au phénotype hétérogène. Il est caractérisé par une très grande variabilité : aucun signe clinique ne semble constant, ce qui en rend le diagnostic ciblé particulièrement difficile. Martinelli et al. ont classé les mutations en 3 groupes en fonction de leur localisation et de leur impact, mais cette corrélation génotype-phénotype n'explique pas complètement la variabilité d'expression.

Les principaux signes cliniques rapportés sont une dysmorphie faciale, des anomalies cérébrales variées, une déficience intellectuelle, une surdité, un retard statural, une microcéphalie et des anomalies immuno-hématologiques. Un tableau polymalformatif est également décrit, ainsi que des anomalies lymphatiques.

Nous rapportons ici le cas d'un garçon de 15 ans, connu depuis la période anténatale pour une ambiguïté sexuelle, une microcéphalie et une agénésie rénale gauche, opéré après la naissance d'un hypospadias, d'une cryptorchidie et d'une imperforation anale, qui présente une dysmorphie faciale, une atteinte cognitive hétérogène, une insuffisance vélaire, une surdité mixte légère appareillée et des limitations articulaires multiples notées dès l'âge de 2 ans, qui n'ont pas semblé évolutives sur la durée du suivi, induisant une gêne fonctionnelle significative. Son imagerie cérébrale montre une atrophie de la substance blanche périventriculaire. Son atteinte hématologique se résume à une anisothrombocytose et de rares macrothrombocytes, sans thrombopénie.

Les explorations anténatales n'avaient pas été souhaitées. Après plusieurs années de suivi et d'examens post-nataux infructueux (caryotype, recherche de syndrome de Smith-Lemli-Opitz, de syndrome ATRX, de maladie de surcharge, CGH-array), la réalisation d'un WES a permis la mise en d'une mutation hétérozygote faux-sens du gène *CDC42*, vraisemblablement *de novo* (père décédé).

A ce jour, 2 autres cas sur les 18 rapportés sont porteurs de la même mutation ; ni l'imperforation anale ni les contractures articulaires ne sont décrites. Parmi les patients porteurs d'une autre mutation de ce gène, seule une camptodactylie est répertoriée. Néanmoins, la lecture attentive des données supplémentaires permet de retrouver chez 3 autres patients la notion de contractures intéressant une ou plusieurs articulations autres que les doigts.

Nous décrivons un nouveau patient porteur d'une mutation du gène *CDC42* avec un tableau très malformatif et des limitations articulaires au 1^{er} plan. Nous comparons notre cas à ceux de la littérature et confirmons l'extrême variabilité du tableau clinique. Nous élargissons le spectre phénotypique et mettons l'accent sur un nouveau symptôme, faisant de *CDC42* un nouveau gène impliqué dans les limitations articulaires syndromiques.

#20601 : Des mutations délétères dans le gène ALDH1L2 suggèrent une nouvelle cause de syndrome neuro-ichtyosique

Auteurs :

Cathy SARRET (1), Imen DORBOZ (2), Eleonord EYMARD PIERRE (3), Christine FRANCANNET (4), Natalia KRUPENKO (5), Odile BOESPFLUG-TANGUY (2), Sergey A KRUPENKO (5)

1. Pédiatrie, CHU de Clermont Ferrand, Clermont Ferrand, France
2. Neuropédiatrie, APHP, Hopital Robert Debré, PARIS, France
3. cytogenetique, CHU de Clermont Ferrand, Clermont Ferrand, France
4. Genetique, CHU de Clermont Ferrand, Clermont Ferrand, France
5. Nutrition Research Institut, University North Carolina Chapel Hill, CHAPEL HILL, Etats-Unis

Mots clefs : Icthyose, deficiencie intellectuelle, leucodystrophie, formyltetrahydrofolate deshydrogenase

Résumé :

Les syndromes neuro-ichtyosiques sont un groupe de maladies génétiques rares comprenant des troubles du métabolisme lipidique, des anomalies du transport vésiculaire intracellulaire ou de la synthèse glycoprotéique. Nous rapportons l'observation d'un patient présentant un syndrome neuro-ichtyosique avec déficience intellectuelle, leucodystrophie et ichtyose prurigineuse congénitale associé à des mutations délétères dans ALDH1L2 (aldehyde dehydrogenase family member L2). Ce gène code pour la formyltetrahydrofolate deshydrogenase (FHD) mitochondriale. A partir des cultures de fibroblastes issues du patient, nous avons pu démontrer que la perte de cette enzyme induisait une perte de fonction mitochondriale affectant d'une part la morphologie mitochondriale, d'autre part la beta-oxydation des acides gras (accumulation des dérivés des acylcarnitines et des intermédiaires du cycle du Krebs, diminution de la production d'ATP et augmentation d'ADP/AMP indiquant un faible index énergétique). La ré-expression de l'enzyme FHD fonctionnelle dans les cellules déficientes permettait de restaurer la morphologie mitochondriale et le profil métabolique des fibroblastes identiques à ceux des sujets sains. Cette étude suggère l'importance d'ALDH1L2 dans le maintien de la fonction mitochondriale et son implication dans le phénotype du patient.

#20066 : MAN1B1-CDG : un désordre congénital de la glycosylation de diagnostic difficile

Auteurs :

Soraya SAKHI (1), Samuel WEHBI (2), Bertrand ISIDOR (3), Benjamin COGNE (3), Trost DETLEF (4), Nikolett SZABO (1), Sandrine VUILLAUMIER-BARROT (1, 5), Thierry DUPRE (1, 5), Katell PEOC'H (1), Sophie CHOLET (6), François FENAILLE (6), Nathalie SETA (1), Christine MUTI (7), ARNAUD BRUNEEL (1, 8)

1. Service de Biochimie Métabolique et Cellulaire, AP-HP Hôpital Bichat, Paris, France
2. Service de neuropédiatrie, Hôpital André Mignot, Versailles, France
3. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
4. Unité de génétique humaine, Laboratoire Cerba, Saint Ouen l'Aumône, France
5. INSERM UMR 1149, INSERM, Paris, France
6. UMR 0496, CEA, INSERM, Paris, France
7. Unité de génétique constitutionnelle, Hôpital André Mignot, Versailles, France
8. INSERM UMR 1193 équipe 4, INSERM, Paris, France

Mots clefs : MAN1B1, Déficience intellectuelle, CDG syndrome, glycomique, transferrine, endo-beta-N-acetylglucosaminidase H

Résumé :

Introduction : Les désordres congénitaux de la glycosylation (CDG) sont un groupe de maladies génétiques rares liées à un déficit de la glycosylation des protéines et des lipides. Parmi les CDG, le MAN1B1-CDG (déficit en alpha-1,2 mannosidase) est relativement fréquent avec plus de 40 cas diagnostiqués dans le monde. On retrouve chez les MAN1B1-CDG un tableau clinique aspécifique à prédominance neurologique. Leur dépistage biochimique par les techniques usuelles est souvent difficile et peu contributif.

Matériel et méthode : Les 2 patients ont été adressés pour suspicion de MAN1B1-CDG après WES, dans le cadre de l'exploration d'une déficience intellectuelle (DI) inexpliquée. Ces deux premiers cas français sont un garçon de 5 ans (Pt1) et une fille de 4 ans (Pt2). L'analyse glycomique de leur sérum a inclus une électrophorèse capillaire (EC) de la transferrine (Trf), une électrophorèse 2D des glycoprotéines sériques et des études par spectrométrie de masse des N-glycanes circulants libérés après différentes digestions enzymatiques.

Résultats : Cliniquement, les 2 patients présentaient un tableau neurologique avec une DI, un retard global du développement et une hypotonie, comme l'ensemble des cas décrits. Il a été également noté un bavage dû à une hypotonie bucco-faciale et n'ayant jamais été décrit par ailleurs. S'il était inconstant chez le Pt1, il est apparu important et continu chez le Pt2. Des dysmorphies et des atteintes ostéo-articulaires associant plagiocéphalie et hyperlaxité étaient également présentes. Le Pt 1 avait une obésité tronculaire comme la plupart des cas décrits, alors que le Pt2 avait un IMC normal. Leur IRM cérébrale et leurs bilans biologiques n'ont pas retrouvé d'anomalie notable.

Après WES, la causalité de 3 variants du gène *MAN1B1* a été suspectée. Chez le Pt1 de parents consanguins, une mutation homozygote c.1210G > A :p.(Glu404Lys) a été trouvée. Pour le Pt2, le variant c.1581C > G :p.(Cys527Trp) a été hérité du père, et le variant c.244C > T :p.(Gln82*) de la mère. Ces variants n'ont jamais été décrits et ne sont pas répertoriés dans les bases de données de SNP.

Les analyses de la glycosylation par EC et électrophorèse 2D ont montré une anomalie apparemment restreinte à la Trf avec augmentation isolée de la fraction tri-sialylée. L'analyse par spectrométrie de masse des glycanes sériques après digestion à la PNGase n'a pas montré d'anomalie tandis que celle réalisée après digestion par l'endoglycanase H a révélé un profil signature pour le MAN1B1-CDG.

Conclusion : En raison de l'absence de spécificité de ses signes cliniques, le MAN1B1-CDG doit être systématiquement envisagé devant une DI inexpliquée. L'apport des différents laboratoires est majeur, que ce soit pour le dépistage, le diagnostic moléculaire, mais aussi pour le suivi des familles à risque. Un diagnostic prénatal a été réalisé pour la famille du Pt1. Le fœtus étant porteur homozygote de la mutation, une IMG a pu être proposée.

Pièce jointe : Abstract MAN1B1-CDG Soraya Assises Tours.docx

#20263 : Retour d'expérience : Le conseil génétique en France et en Israël

Auteurs :

Sarah Funtowicz (1), Vardiella MENIER (1), Joël Zlotogora (1)

1. Department of Human Genetics, Hadassah Ein Kerem, jerusalem, Israël

Mots clefs : conseil génétique, France, Israël, diagnostic antenatal, oncogénétique

Résumé :

Conseillère en génétique à Paris pendant 10 ans, je suis partie en Israël. Ne pouvant pas consulter sans un niveau de langue élevé et une reconnaissance de mon diplôme, j'assiste en tant qu'observatrice depuis 8 mois aux consultations de génétique prénatale et d'oncogénétique au service de génétique de l'hôpital Hassadah Ein kerem à Jérusalem en Israël. Ma pratique française et mes observations au sein de ce service me permettent de faire un retour d'expérience comparative à plusieurs niveaux comme l'organisation nationale, la place du conseiller en génétique, l'anamnèse (questions sur les origines géographiques spécifique en fonction des populations) et les financements des analyses génétiques.

Genetics counselor in Paris for 10 years, I move to Israel. I can not consult without a high level of language and recognition of my diploma, I attend as an observer for 8 months at consultations of prenatal genetics and oncogenetics at the genetics department of Hassadah Ein Kerem Hospital in Jerusalem in Israel. My french practice and my observations within this service allow me to make a return of comparative experience on several levels like the national organization, the place of the counselor in genetics, the anamnesis (questions about geographic origins specific to populations) and funding for genetic analyzes.

#20197 : Retentissement psychologique du Syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire - Projet REPERE -

Auteurs :

Khadija LAHLOU-LAFORET (1), Jean-Michael MAZZELLA (2), Salma ADHAM (3), Michaël FRANK (3), Armelle ARNOUX (4), Xavier JEUNEMAITRE (5), Juliette ALBUISSON (6)

1. Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares ; U.F. de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgences, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, HUPO, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares ; Département de Génétique , Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, HUPO, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, HUPO, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
4. Unité de Recherche Clinique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, HUPO, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares ; Département de Génétique ; Faculté de médecine Paris Descartes, Université de Paris , Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, HUPO, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
6. Département de Biologie et Pathologie des Tumeurs, Centre Georges Francois Leclerc, Dijon, France

Mots clefs : impact psychologique, syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire, qualité de vie, anxiété

Résumé :

Introduction

Le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SEDv) est une pathologie génétique rare due à une mutation du gène Col3A1, de transmission autosomique dominante. Les complications artérielles et digestives sont potentiellement sévères. Le projet REPERE, projet interdisciplinaire de Sciences Humaines et Sociales, a pour but d'évaluer le retentissement professionnel, psychologique et de l'Errance diagnostique dans le SEDv.

Objectif

Le volet psychologique a pour but d'évaluer l'impact psychologique du diagnostic de SEDv, chez les patients participant à l'étude REPERE.

Méthodes

44 patients (28 femmes (64 %)) âgés en moyenne de 44 ans ($\pm$ 12.5 ans) ont rempli des questionnaires d'auto-évaluation de qualité de vie (SF36) ; HAD (anxiété et dépression), MINI (trouble panique et agoraphobie) et impact traumatique de l'annonce diagnostique (IES-R).

Résultats

Les scores moyens de qualité de vie à la SF36 (échelle de 0 à 100) sont de $63,3 \pm 20,4$ (composante physique) et de $60,4 \pm 18,9$ (composante mentale).

50 % des patients ont un score supérieur à la valeur seuil de l'échelle d'anxiété HAD-A.

24 % des patients ont un score supérieur à la valeur seuil de l'échelle de dépression HAD-D.

52 % des patients rapportent des attaques de panique, 25% un trouble panique, et 32% une agoraphobie au MINI.

44 % des patients présentent plusieurs symptômes de stress post-traumatique et 31 % un état de stress post-traumatique à l'IES-R.

Aucune différence significative n'est observée entre hommes et femmes, pour chacune des variables psychologiques évaluées.

Conclusion

La fréquence élevée du trouble anxieux, du trouble panique et de l'agoraphobie, ainsi que des symptômes de stress post-traumatique incite au dépistage systématique de ces troubles afin de les traiter.

L'analyse des corrélations avec les autres variables du projet (Errance et retentissement socio-professionnel) permettra une meilleure compréhension des facteurs associés.

#20199 : Automatisation du process de séquençage massif en parallèle au laboratoire d'oncogénétique moléculaire de l'institut paoli-calmettes**Auteurs :**

Audrey Remenieras (1), Violaine Bourdon (1), Anne-Sophie Alary (2), Tetsuro Noguchi (1), Hagay Sobol (1)

1. Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
2. laboratoire d'oncogénétique moléculaire, institut paoli calmettes, MARSEILLE, France

Mots clefs : SPM, NGS, automatisation

Résumé :

Avec la mise en place du séquençage massif en parallèle (SMP) à l'IPC en 2015, la recherche séquentielle et unitaire de mutations a été remplacée par l'étude du statut mutationnel d'un panel de gènes orienté sur une thématique médicale précise. Cette démarche a permis d'améliorer la qualité des résultats par une meilleure exhaustivité, le délai de rendu et donc *in fine* la prise en charge du patient. Par la suite, dans une volonté permanente d'efficience, le laboratoire d'oncogénétique moléculaire a réfléchi à une optimisation du flux par automatisation des étapes techniques.

Pour ce process de SMP, nous nous sommes munis d'un Miseq ILLUMINA en complément des 2 robots de distribution HAMILTON déjà présents. Le circuit était semi-automatisé car les robots HAMILTON ne pouvaient être utilisés que pour certaines étapes.

Pour le passage à un circuit totalement automatisé, nous avons opté pour une mise à disposition de 2 robots PERKIN ELMER en collaboration avec la société Sophia Genetics.

Cette organisation n'a pas généré un gain de temps technique à proprement parler. En effet, la majorité des phases du circuit sont incompressibles. Seules les étapes de lavages du matériel biologique à l'aide de billes magnétiques ont pu être raccourcies. Cependant, grâce à l'automatisation, le temps de travail des techniciens a été optimisé. En diminuant le temps consacré à la partie technique du SMP, les postes ont pu être réorganisés et les techniciens ont pu développer de nouvelles compétences, notamment sur le versant informatique (récupération et analyse préliminaire des données) améliorant ainsi les délais de la phase post-analytique.

Les avantages de l'automatisation ont été:

- l'homogénéisation des pools de bibliothèques entraînant une diminution du nombre des échecs techniques, donc limitant d'éventuels repassages et par conséquent éviter des retards de rendu
- la sécurisation du process en réduisant le nombre de transferts de matériel biologique dans certaines étapes du circuit pour minimiser les risques d'erreur.

Le seul inconvénient identifié pour l'automatisation a été le surcoût de la manip par patient. Celui-ci a été évalué à 15€ par patient.

En conclusion, l'automatisation des étapes du SMP a permis l'amélioration et la sécurisation du process avec une diminution des délais tout en répondant aux exigences de qualité liée à l'obtention d'une accréditation selon la norme ISO15189 depuis 2014.

#19805 : Les enjeux du dépistage génétique préconceptionnel en France : étude qualitative

Auteurs :

Eugénie Hoarau (1, 2), Valérie Bonneau (1, 2), Mathilde Nizon (3), Xénia Latypova (4, 5), Stéphane Bézieau (6), Guy Minguet (7), Mauro Turrini (8), Maud Jourdain (1, 2), Bertrand Isidor (6, 9)

1. Département de Médecine Générale, Université de Nantes, Nantes, France
2. USR 3491, Maison des Sciences de l'Homme Ange Guepin, Nantes, France
3. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
5. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
6. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
7. , Ecole des Mines, Nantes, France
8. Droit et Changement Social UMR 6297, Maison des Sciences de l'Homme Ange Guépin, Université de Nantes, Nantes, France
9. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France

Mots clefs : dépistage génétique préconceptionnel, pathologie génétique récessive, médecine de la reproduction

Résumé :

Le dépistage génétique préconceptionnel est disponible dans de nombreux pays et est actuellement discuté en France dans le contexte de la révision des lois de bioéthiques. Le dépistage génétique préconceptionnel soulève de nombreuses interrogations médicales, éthiques, et sociétales. L'objectif de notre étude était de déterminer les différents enjeux du dépistage génétique préconceptionnel.

La méthodologie a consisté à réaliser 4 entretiens individuels et 3 entretiens collectifs suivis d'une analyse horizontale et verticale des données. Nous avons réalisé deux entretiens de familles ayant l'expérience du handicap, deux entretiens avec des experts scientifiques du sujet et trois entretiens collectifs : un entretien de médecins de différentes spécialités, un entretien intra-comité éthique et un entretien de chercheurs en sciences humaines et sociales.

Les différents points de vue se sont avérés complémentaires invitant à poursuivre le débat dépassant les frontières des disciplines professionnelles et non professionnelles. Les enquêtés exprimaient l'importance du fait que le dépistage reste un choix libre et éclairé mais ce choix ne peut se réduire à une liberté individuelle dans la mesure où l'existence même de ce test a une valeur normative. L'enjeu économique du test est apparu comme un déterminant majeur expliquant son développement. Les participants s'interrogeaient sur l'utilisation des données génétiques et craignaient une dérive eugéniste. Les pathologies à rechercher, l'accessibilité au test, son encadrement et le rôle du médecin généraliste étaient sans consensus. Il est fondamental d'améliorer rapidement l'information relative au dépistage génétique préconceptionnel de la population et d'organiser les conditions d'accès à ce test afin que les futurs parents puissent se forger un avis éclairé et décider librement d'y avoir recours ou non.

Pièce jointe : Les enjeux du dépistage génétique préconceptionnel en France.docx

#20400 : Déficience intellectuelle sans épilepsie et variants pathogènes dans le gène KCNQ2 : élargissement du spectre phénotypique d'une canalopathie grâce au HTS.**Auteurs :**

Laura MARY (1), Elsa NOURISSON (2), Claire FEGER (2), Claire REDIN (3), Bertrand ISIDOR (4), Gaëtan LESCA (5), Thierry BILLETTE DE VILLEMEUR (6), Dorothée VILLE (7), Boris KEREN (8), Alexandra AFENJAR (9, 10), Cécile CIEUTA-WALTI (11), Detlef TROST (12), Jean-Louis MANDEL (3), Bénédicte GERARD (1), Elise SCHAEFER (13), Amélie PITON (3)

1. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
3. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch, France
4. Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
5. Service de Génétique, Hôpitaux Civils de Lyon, Bron, France
6. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
7. Service de Neuropédiatrie, Hôpitaux Civils de Lyon, Lyon, France
8. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Service de Neuropédiatrie et Génétique - CR Cervelet, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France
10. Génétique médicale et clinique, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France
11. Institut Lejeune, Institut Lejeune, Paris, France
12. CERBA HEALTHCARE, CERBA HEALTHCARE, Paris, France
13. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, Épilepsie, NGS, KCNQ2, Canalopathie

Résumé :

Introduction : L'utilisation en routine du séquençage haut débit (HTS) dans l'exploration des étiologies de la déficience intellectuelle (DI) isolée, associée à la création de projets collaboratifs internationaux, ont permis d'améliorer le taux diagnostique dans ces cohortes de patients. Des approches non biaisées (exome ou WGS) ont également permis d'élargir le spectre phénotypique des pathologies associées à des gènes décrits préalablement. Ce travail décrit 6 patients présentant une DI isolée et porteurs d'un variant de classe 4 dans le gène *KCNQ2*, un gène associé à l'épilepsie infantile bénigne (BFNS) ou à une encéphalopathie épileptique de survenue précoce (EOEE).

Matériels et Méthodes : Quatre patients, adressés à notre laboratoire pour DI isolée, ont été diagnostiqués par HTS ciblé. Un appel à collaboration via GeneMatcher a permis de récolter les données clinico-biologiques de 2 autres patients (diagnostic par exome). Les outils in silico SIFT, VEP, UniProt, PyMol ont été utilisés pour prédire la pathogénicité des variants et les changements structuraux induits.

Résultats : L'âge des patients au diagnostic était compris entre 8 mois et 6 ans. Un patient a présenté trois crises convulsives hyperthermiques, les cinq autres n'avaient aucune manifestation épileptique. Aucun patient ne présentait d'activité ictale à l'EEG. Ils présentaient une DI légère à sévère avec une déficience prédominant sur le langage. Hypotonie et traits autistiques étaient fréquents (4 et 3 cas). Tous les patients portaient un variant faux sens dans *KCNQ2*. Quatre de ces variants modifiaient le même résidu (Arg144, modification déjà rapportée dans l'EOEE). Tous les variants étaient très conservés et prédits délétères. Le variant était de novo dans 5 cas, hérité dans 1 cas. Pour étudier la corrélation phénotype-génotype, nous avons rassemblé tous les variants pathogènes préalablement rapportés (> 130). Nous avons montré que les variants faux sens dans les segments S4, H5 et S6 de la protéine sont significativement associés à l'EOEE. Aucun des variants retrouvés chez nos patients n'étaient situés dans ces domaines. Toutefois, il existe un fort chevauchement entre les variants responsables d'EOEE, ceux donnant une BFNS et ceux causant une DI isolée : près de 20% des variants pathogènes sont responsables à la fois de BFNS et d'EOEE et 36% des cas familiaux rapportés montrent une variabilité phénotypique intrafamiliale.

Conclusion : Nous avons démontré que la DI isolée fait également partie du spectre phénotypique des pathologies liées à *KCNQ2* mais qu'il n'est pas possible de définir de corrélations génotype-phénotypes claires. Une seconde variation pathogène, le cumul de variants rares ou d'autres facteurs extrinsèques

pourraient expliquer une telle variabilité phénotypique. Cependant, ce travail montre l'intérêt d'étudier les gènes responsables d'encéphalopathies épileptiques chez des patients présentant une DI isolée.

#20406 : Génétique du cancer colorectal de la population Marocaine : revue de la littérature**Auteurs :**

Hind Dehbi (1, 2), Hossam Hilal El Idrissi (1), Oum Kaltoum Ait Boujmia (3), Bouchaïb Gazzaz (4), Mehdi Karkouri (5)

1. Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc, CASABLANCA, Maroc
2. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd,, CASABLANCA, Maroc
3. Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca-Maroc, CASABLANCA, Maroc
4. Institut d'analyse Génétique, Gendarmerie Royale, Rabat, Maroc
5. Laboratoire d'Anatomopathologie, CHU Ibn Rochd, CASABLANCA, Maroc

Mots clefs : MYH, MMR, KRAS, BRAF, MTHFR, LEIDEN Factor, NRAS, P21, P53 and colorectal cancer Morocco.

Résumé :

Colorectal cancer (CRC) is a major cause of cancer morbidity and mortality in the world. The literature review revealed that the most common genetic abnormalities in this cancer are: APC, KRAS, p53, NRAS, P21, P53 genes and loss of heterozygosity (LOH).

- Objectives:

To our Knowledge, this is the first study that gives a holistic picture of genetic studies to describe genetic markers and their frequency in Moroccan population.

- Methods:

A profound research in ScienceDirect and PubMed of articles treated colorectal cancer in Morocco, this research based on these following keywords: colorectal Morocco, colon cancer Morocco, and rectum cancer Morocco.

- Results:

We found only eleven research articles on genomic alteration of MYH, MMR, KRAS, NRAS, P21, P53, BRAF, MTHFR, and LEIDEN Factors Genes.

Pièce jointe : Revue Pr.docx

#20281 : Réarrangement chromosomique complexe dans la région 4p16.3 du Wolf Hirschorn chez une fillette de 3 mois

Auteurs :

Pierre BITOUN (1), Eva PIPIRAS (2), Brigitte Benzacken (2)

1. Génétique Clinique , Groupe Médical Jarente, Paris, France

2. Embryo-Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean Verdier, CHU Paris Nord, BONDY, France

Mots clefs : inv del dup, ACPA, Wolf Hirschorn , 4p16.3

Résumé :

Nous présentons une fillette de 3 mois vue en consultation pour un syndrome malformatif associant : une dysmorphie faciale avec brachycéphalie, oreilles basses en cupule en rotation postérieure, un cou court avec plis redondants postérieurs du cou, des pouces bas implantés, un eczéma du visage, un cutis marmorata, un ralentissement de la croissance staturale et une fossette sacrée.

IRM montre un filum sacré atypique avec lipome médullaire à opérer.

Une varicelle sévère hospitalisée à 5 mois avec bilan immunitaire complet normal.

L'analyse en ACPA sur plateforme illumina 730k a montré un remaniement chromosomique complexe de novo correspondant à une grande inversion duplication délétion (inv dup del) de la région 4p16.3. Wolf Hirschorn. L'analyse des parents est normale.

Arr[GRCh37]4p16.3(715668_1501899)xish del(4p16.3)(36p21,)

,4p16.3p15.1(1507198_29892538)x3 .ish dup (4p15.32) (WHSCR++,RP11-478G20++)dn

Formule féminine

Le phénotype sera décrit et semble a priori différent du syndrome de Wolf Hirschorn.

#20015 : Les connaissances des femmes enceintes au sujet du syndrome de Down et des options de diagnostic prénatal influencent-elle leurs décisions?

Auteurs :

Anne-Marie Laberge (1), Stanislav Birko (2), Jessica Le Clerc-Blain (3), Marie-Ève Lemoine (2), Hazar Haidar (2), Aliya Affdal (2), Charles Dupras (2), Vardit Ravitsky (2)

1. Service de génétique médicale, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, Canada
2. Bioéthique, Université de Montréal, Montréal, Canada
3. Centre de recherche, CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada

Mots clefs : DPNI, génétique prénatale, dépistage, syndrome de Down

Résumé :

Objectif : Évaluer les connaissances des femmes enceintes au sujet du syndrome de Down et des options de diagnostic prénatal dans le cadre de l'introduction du test prénatal non invasif (TPNI) en pratique clinique.

Méthode : Questionnaire auprès de femmes enceintes à travers le Canada, dans le cadre de l'étude PEGASUS.

Résultats: 882 femmes enceintes ont répondu au questionnaire. La majorité des femmes enceintes ont entendu parler de syndrome de Down (89%), trisomie 21 (85%), dépistage prénatal pour le syndrome de Down (83%) et amniocentèse (88%). Seulement la moitié (50%) avaient entendu parler du TPNI. Lorsque questionnées sur le syndrome de Down à l'aide de 6 questions de type vrai ou faux, 47% ont eu toutes les bonnes réponses. Le nombre moyen de bonnes réponses est de 5.2/6. Lorsque questionnées sur le dépistage prénatal et le diagnostic prénatal à l'aide de 7 questions de type vrai ou faux, 21% ont eu toutes les bonnes réponses. Le score moyen est de 5.4/7.

Deux vignettes ont été présentées aux femmes, pour évaluer les facteurs jouant dans leur processus décisionnel quant à l'utilisation du TPNI comme test de dépistage et à son éventuelle utilisation comme test diagnostique. La première vignette portait sur le choix d'un test de dépistage. La majorité des femmes choisiraient le TPNI (77%) plutôt que le dépistage sérique conventionnel (20%). Celles qui ont choisi le TPNI avaient de meilleures connaissances au sujet du syndrome de Down et des options de dépistage et diagnostic prénatal que celles qui ont choisi le dépistage conventionnel ($p < 0.001$). Celles qui ont choisi le TPNI étaient plus fortement influencées par la performance plus élevée du TPNI ($p < 0.001$) et sa disponibilité plus tôt en grossesse ($p < 0.001$). La deuxième vignette portait sur le choix du TPNI comme test diagnostique. La majorité des femmes choisiraient le TPNI (71%) plutôt que l'amniocentèse (25%). Celles qui ont choisi le TPNI avaient des connaissances équivalentes sur le syndrome de Down et plus faibles sur les options de dépistage et diagnostic prénatal que celles qui ont choisi l'amniocentèse ($p > 0.05$ et $p < 0.05$ respectivement). Celles qui choisiraient l'amniocentèse accordent plus d'importance à la précision de l'amniocentèse ($p < 0.001$). Celles qui choisiraient le TPNI accordent plus d'importance au risque d'avortement spontané, au fait que le TPNI peut détecter les aneuploïdies les plus fréquentes et au fait que le TPNI se fait par prélèvement sanguin ($p < 0.001$).

Conclusion: Les femmes canadiennes ont de bonnes connaissances sur le syndrome de Down et les options de dépistage et diagnostic prénatal. Le choix de recourir au TPNI est influencé par leurs connaissances et les caractéristiques de ce test. Ces résultats sont utiles pour optimiser l'implantation du TPNI en pratique dans le cadre de programmes de dépistage de la trisomie 21 au Canada et ailleurs.

#19867 : Le recours à la chirurgie prophylactique dans une population de 233 femmes porteuses d'une prédisposition génétique BRCA1 ou BRCA2**Auteurs :**

Emilie Bernichon (1), Francis Ramond (1), Caroline Kientz (1), Marine Lebrun (1), Renaud Touraine (1), Fabienne Prieur (1)

1. genetique, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France

Mots clefs : BRCA, chirurgie de réduction de risque, mastectomie, ovariectomie, prophylaxie

Résumé :

En comparaison avec la population générale, les femmes porteuses de variants pathogènes des gènes BRCA1 ou BRCA2 sont à risque plus élevé de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire, surtout à un âge précoce. La pénétrance varie principalement selon le gène en cause et l'âge, mais le risque cumulé de développer un cancer du sein à 80 ans est de 70% contre environ 11% en population générale. Une chirurgie de réduction de risque peut être envisagée dans ces situations. La mastectomie prophylactique, réalisée précocement, permet une réduction majeure de ce risque. On évaluait à environ 5% la proportion de patientes qui y avait recours en France dans le cadre d'une prédisposition en 2009. Actuellement, l'ovariectomie est systématiquement conseillée à partir de 40 ans en présence de variant pathogène BRCA1 et de 45 ans pour BRCA2 car il n'existe pas, actuellement, de moyen de dépistage efficace du cancer de l'ovaire. La médiatisation de la situation d'Angelina Jolie en 2013 a impacté directement les consultations d'oncogénétique et augmenté significativement le nombre de chirurgies prophylactiques Outre-Atlantique. Les anglo-saxonnes ont même appelé ce phénomène « l'effet Angelina ».

Dans cette étude mono centrique nous avons comparé les caractéristiques des femmes ayant recours ou non à la chirurgie de réduction de risque dans le cadre d'une prédisposition génétique BRCA1 ou BRCA2.

Nous avons inclus 233 patientes dont le diagnostic de prédisposition génétique a été posé dans notre service. L'âge moyen de diagnostic était de 47 ans. Une majorité d'entre elles avaient un antécédent de maladie néoplasique (142, soit 61%), 124 (53%) ont été traitées pour un cancer du sein, et 20 (9%) pour un cancer de l'ovaire. 77 patientes (33%) ont eu recours à une mastectomie prophylactique et 29 (12%) étaient indemnes au moment de l'intervention. Plus de la moitié des procédures ont été réalisées dans les 2 ans qui ont suivi l'annonce de la prédisposition. L'âge médian de l'intervention était de 48 ans. A plus de 45 ans, 66% des patientes ont eu une ovariectomie prophylactique. La fréquence des antécédents de cancer n'était pas significativement différente entre les groupes BRCA1 et BRCA2 (64% vs 58%), de même que l'âge de l'atteinte (42 vs 46 ans). Les patientes qui ont réalisé la mastectomie avaient beaucoup plus fréquemment recours à l'ovariectomie (OR 7.03 IC 95% (3.71-13.67)). L'existence d'un antécédent de cancer, de même que le degré de filiation à l'apparenté atteint, ne modifiait pas significativement la fréquence de recours à la mastectomie prophylactique. L'année 2013 ne semble pas marquer un changement dans la prise en charge de ces patientes.

En conclusion, dans notre cohorte, 1/3 des patients ont eu recours à une mastectomie prophylactique, les femmes ayant eu cette intervention ont plus fréquemment eu recours à l'ovariectomie. La proportion du recours à la mastectomie reste stable depuis plus de 10 ans et l'effet Angelina Jolie n'est pas retrouvé.

#20162 : Des variants de WNK3 (kinase sans lysine) sont responsables d'une pathologie neurodéveloppementale liée à l'X**Auteurs :**

Sébastien KÜRY (1, 2), Thomas BESNARD (1), Hong LI (3), Anne-Sophie DENOMME-PICHON (4), Benjamin COGNE (1), Erin TORTI (5), Boris KEREN (6), Solveig HEIDE GUIHARD (7), Perrine CHARLES (8), Marlène RIO (9), Consortium WNK3 (10), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (11, 12), Séverine AUDEBERT-BELLANGER (13), Sylve ODENT (14, 15), Laurent PASQUIER (14, 15), Dominique BONNEAU (16, 17), Annick TOUTAIN (18, 19), Richard REDON (2), Francisco MARTINEZ (20), Kristopher KAHLE (21), Stéphane BEZIEAU (1), Bertrand ISIDOR (1)

1. Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. l'Institut du Thorax, INSERM, CNRS, Université de Nantes, Nantes, France
3. Department of Human Genetics, Emory University, School of Medicine, Atlanta, Etats-Unis
4. Service de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
5. -, GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
6. Département de Génétique, APHP, Paris, France
7. UF de Génétique Clinique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Département de génétique, Hôpital de La Salpêtrière, Paris, Etats-Unis
9. IHU Necker Enfants Malades, IMAGINE, Paris, France
10. Service de Génétique, CHU de Nantes, Nantes, France
11. Service de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
12. EA3808, Université de Poitiers, Poitiers, France
13. Service de Génétique médicale et de biologie de la reproduction, Centre Hospitalier Régional Universitaire Brest, Brest, France
14. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
15. CNRS UMR 6290, Université de Rennes, Rennes, France
16. Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, France
17. Equipe MitovascLab, Institut MitoVasc, UMR CNRS 6015, INSERM U1083, Université d'Angers, Angers, France
18. UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France
19. UMR U930, INSERM, Tours, France
20. Unidad de Genética, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Espagne
21. NIH-Rockefeller Center for Mendelian Genomics, Yale School of Medicine, New Haven, Etats-Unis

Mots clefs : pathologie du neurodéveloppement, WNK3, pathologie liée à l'X, signalisation GABAergique

Résumé :

WNK3 est un des quatre membres de la famille de sérine/thréonine kinases WNK3 (*with no lysine [K] kinase*) qui présentent la particularité d'être dépourvus du résidu lysine catalytique classique du sous-domaine II commun à toutes les autres sérine/thréonine kinases. De manière générale, les kinases WNK participent à la régulation de l'homéostasie ionique dans les reins et le système nerveux central. WNK3 est fortement exprimé dans le cerveau où il joue un rôle important dans la régulation du volume cellulaire et la signalisation GABAergique. Dans le cadre d'une étude collaborative internationale, nous avons identifié 14 variants nucléotidiques rares (12 faux-sens, 1 non-sens, 1 site d'épissage) du gène WNK3 chez 18 individus (17 hommes et 1 femme) de 14 familles non apparentées présentant une déficience intellectuelle (DI) ou un retard du développement psychomoteur. La majorité des individus atteints porte un variant hémizygote hérité d'une mère saine. La plupart d'entre eux présentent une DI non syndromique. Certains individus présentent une microcéphalie ou l'épilepsie parfois associées à des anomalies à l'imagerie cérébrale. Par contraste, deux variants *de novo* ont été trouvés chez une fille et un garçon non apparentés présentant une déficience intellectuelle respectivement syndromique sévère (associée à une très petite taille et à une dysmorphie) et non syndromique. En parallèle, une étude indépendante menée par des collaborateurs a mis en évidence un variant faux-sens dans une famille atteinte de déficience intellectuelle liée à l'X décrite sous le nom de syndrome de Prieto. Des études fonctionnelles préliminaires réalisées sur des cellules neuronales ont montré qu'une grande partie des variants testés réduisait la stabilité de la protéine WNK3 et induisait une diminution des taux protéiques dans les cellules.

#20535 : Difficultés d'interprétation des CNVs: exemple des microdélétions impliquant le gène NRXN1

Auteurs :

Emilie LANDAIS (1), Céline POIRSIER (2), Marta SPODENKIEWICZ (2), Mélanie JENNESSON-LYVER (3), Nathalie BEDNAREK (4), Rodolphe DARD (5), Monique MOZELLE_NIVOIX (2), Martine DOCO-FENZY (6)

1. Plate-forme Régionale de Biologie Innovante, CHU de Reims, Reims, France
2. Génétique, CHU de Reims, Reims, France
3. American Memorial Hospital, Pôle de pédiatrie, Service de pédiatrie; Centre de référence des épilepsies rares et de la sclérose tubéreuse de Bourneville, CHU de Reims, Reims, France
4. Pédiatrie, CHU de Reims, Reims, France
5. Hôpital Maison Blanche, Pôle de biologie, Secteur de génétique, CHU de Reims, Reims, France
6. Hôpital Maison Blanche, Pôle de biologie, Secteur de génétique, SFR CAP-SANTE, EA 3801, CHU de Reims, Reims, France

Mots clefs : CNVs ; ACPA; NRXN1

Résumé :

L'interprétation des variations de nombre de copies mise en évidence par l'analyse chromosomique sur puce à ADN repose sur différents critères notamment la taille, le caractère hérité ou de novo du CNV, la présence ou non de variants similaires dans les populations contrôle et de gènes d'intérêt dans la région concernée.

Observation: Nous rapportons dans cette étude des microdélétions du locus 2p16.3 de petite taille (< 500 Kb) chez des patients présentant certains signes cliniques communs. Pour 6 d'entre eux, la délétion emporte plusieurs exons du gène *NRXN1*. Chez le 7ème patient, une des jonctions du TAD comportant le gène *NRXN1* est altérée. Parmi les 7 patients, 6 présentaient un déficit intellectuel léger ou des difficultés scolaires, 5 avaient des troubles du comportement (dont 3 seulement ont été identifiés autistes) et 2 une épilepsie. Le caractère *de novo* était identifié chez un seul patient qui présentait un phénotype "classique" (avec entre autre un autisme, des difficultés scolaires, une épilepsie associés à une dysmorphie).

Discussion: Ces variants souvent hérités et présents également dans le population contrôle (database of genomics variants) ont initialement été classés de signification incertaine. Néanmoins plusieurs arguments de la littérature en 2018 et 2019 nous ont décidés à reclasser ces variants dans la majorité des cas en probablement pathogènes. En effet, Al Shehhi a décrit en mars 2019 une cohorte de 34 familles avec des délétions exoniques de *NRXN1* (le plus souvent hérité d'un parent) chez des patients présentant notamment des troubles envahissants du développement (70% des patients). Depuis, en août 2019, ClinGen a décidé de classer les variants de *NRXN1* en pathogène pour les indications de déficit intellectuel et autisme (nstd 45).

Conclusion: Cette étude est le reflet des difficultés d'interprétation des CNVs de petite taille, en partie décrits dans les populations contrôles qui peuvent être également présents chez un parent asymptomatique. Cette difficulté est d'autant plus importante en présence de patients ayant été référencés en consultation de génétique pour des signes non spécifiques comme les troubles du comportement ou les difficultés scolaires. Nous mettons également l'accent sur la ré-analyse nécessaire des variants de signification inconnue voire classés comme probablement bénins en fonction des données de la littérature.

#19895 : Une nouvelle mutation dans le gène RLIM. A propos de deux cas en foetopathologie

Auteurs :

Catherine YARDIN (1), Sophie MARTIN (2), Alexandre PERANI (1)

1. Génétique Médicale, CHU Limoges, Limoges, France

2. Gynécologie, CHU Limoges, Limoges, France

Mots clefs : RLIM, foetopathologie, syndrome polymalformatif

Résumé :

Nous rapportons le cas de deux fœtus issus du même couple présentant un syndrome de Tonne-Kalscheuer diagnostiqué moléculairement. Ce syndrome (OMIM #300978) est une entité nosologique de description récente associant une déficience intellectuelle, des anomalies génitales, une hernie diaphragmatique, et éventuellement des malformations des extrémités. La majorité des cas décrits a essentiellement été rapportée en post-natal. Le syndrome a été identifié grâce aux avancées technologiques en matière de séquençage en raison de la présence d'une anomalie moléculaire commune, à savoir une mutation du gène *RLIM* (situé en Xq13.2), dont le rôle n'est pas clairement défini à l'heure actuelle. Très peu de variants de ce gène ont été rapportés dans les bases de données jusqu'à présent, et les anomalies moléculaires consistent aussi bien en des mutations ponctuelles, qu'en des anomalies du nombre de copies détectées en ACPA. Les deux fœtus présentent une mutation c.131A > G transmise par la mère asymptomatique, chez laquelle a été retrouvé un biais d'inactivation du chromosome X. Nous comparons nos deux cas à ceux déjà décrits et proposons une revue de la littérature afin de préciser le spectre de ce syndrome.

#19947 : Choix de procréation et enjeux de la transmission dans les maladies cardiaques héréditaires : étude PROCREACOEUR.

Auteurs :

Céline Bordet (1), Marcela Gargiulo (2, 3), Carole Maupain (1), Estelle Gandjbakhch (4, 1), Isabelle Evrard (5), Philippe Jonveaux (5), Angelique Curjol (1), Ibticem Raji (1), Nathalie Roux Buisson (6), Florence Kyndt (7), Pascale Richard (8), Philippe Charron (1, 9)

1. Centre de référence des maladies cardiaques héréditaires, service de génétique clinique, CHU Pitié Salpêtrière , Paris, France
2. Institut de Myologie, CHU Pitié Salpêtrière , Paris, France
3. Sorbonne Université, INSERM, Institut Pierre Louis de Santé Publique, Medical Information Unit, , CHU Pitié Salpêtrière , Paris, France
4. Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 6, ICAN, Département de Cardiologie, CHU Pitié Salpêtrière , Paris, France
5. Agence de la Biomédecine, Agence de la Biomédecine, Paris, France
6. Laboratoire de Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU de Grenoble et des Alpes, Grenoble, France
7. Centre de référence - Maladies rythmiques cardiaques, CHU de Nantes - Hôpital Nord Guillaume et René Laënnec, Nantes, France
8. UF de cardiogénétique et myogénétique moléculaire et cellulaire, CHU Pitié Salpêtrière , Paris, France
9. Sorbonne Université, INSERM, UMR_S 1166 and ICAN Institute for Cardiometabolism and Nutrition, CHU Pitié Salpêtrière , Paris, France

Mots clefs : maladies cardiaque héréditaires, diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire.

Résumé :

Introduction : Les maladies cardiaques héréditaires (cardiomyopathies et troubles du rythme isolés) exposent au risque de mort subite et/ou d'insuffisance cardiaque et elles ont un mode de transmission le plus souvent autosomique dominant. La prise en charge médicale réduit significativement le risque de complications sans pour autant guérir la maladie avec une morbi-mortalité résiduelle non négligeable. Si la mutation causale est identifiée, les couples ayant un projet de grossesse peuvent être amenés à solliciter ou à s'informer sur le recours à un diagnostic prénatal (DPN), un diagnostic préimplantatoire (DPI) ou à un don de gamètes. Le recours à un DPN ou à un DPI dans ces pathologies est controversé et les enjeux médicaux, éthiques et psychologiques sont particulièrement complexes. Aucune étude ciblée sur ces maladies héréditaires n'est par ailleurs disponible.

Objectifs : Les objectifs de cette recherche sont (i) de faire un état des lieux du nombre de DPN, de DPI et de dons de gamètes réalisés en France dans le cadre d'une maladie cardiaque héréditaire non syndromique (ii) de recueillir l'avis de patients sur ce sujet.

Méthodes et Résultats : Les données exhaustives sur les procédures de DPN/DPI ont été récoltées auprès de l'Agence de Biomédecine et des laboratoires français : 18 DPN ont été réalisés en France entre 2009 et 2017 et 13 DPI entre 2013 et 2017 (majoritairement pour des cardiomyopathies). Le nombre de DPN et de DPI réalisés pour une maladie cardiaque héréditaire n'est donc pas exceptionnel mais relativement rare comparativement à la fréquence relativement élevée de ces maladies.

L'avis de 20 patients, suivis au sein du CRMR de la Pitié Salpêtrière pour une maladie cardiaque héréditaire (95% atteint d'une cardiomyopathie) a été recueilli via des auto-questionnaires. Leurs réponses montrent que peu connaissent les alternatives pour ne pas transmettre la maladie (DPN, DPI, don de gamètes, adoption) : seuls 25% connaissant l'ensemble de ces alternatives. Malgré cela, 45% des patients ont indiqué qu'ils ne souhaiteraient pas plus d'informations sur ces techniques en consultation de conseil génétique. Par ailleurs, 45% considèrent comme tout à fait acceptable ou acceptable le recours à un DPN et 75% le recours à un DPI, sans pour autant être demandeur d'y avoir recours pour eux-mêmes.

Conclusion : Nos résultats constituent les premières données disponibles dans le domaine des maladies cardiaques héréditaires non syndromiques en France. La perspective est de pouvoir progresser dans l'accompagnement des couples s'interrogeant sur leur risque de transmettre leur maladie et d'étayer les discussions au sein des CPDPN/centres de DPI.

#19938 : Single-fiber studies for assigning pathogenicity of eight unclassified mitochondrial DNA variants associated with mitochondrial disorders

Auteurs :

Elamine Zereg (1), Annabelle Chaussenot (2), Sylvie Bannwarth (2), Konstantina Fragaki (2), Godelieve Morel (1), Samira Ait-El-Mkadem (2), Sabrina Sacconi (3), Marie-Hélène Soriani (3), Sharam Attarian (4), Aline Cano (5), Jean Pouget (4), Rémi Bellance (6), Christine Tranchant (7), Bernadette Chafino (1), Mathieu BERTHET (8), Véronique Paquis-Flucklinger (2), Cécile Rouzier (8)

1. Department of Medical Genetics, National Centre for Mitochondrial Diseases, CHU de Nice, NICE, France
2. Department of Medical Genetics, National Centre for Mitochondrial Diseases, Nice Teaching Hospital, NICE, France
3. Department of Neurology, CHU de Nice, NICE, France
4. Department of Neurology, CHU de Marseille, Marseille, France
5. Reference Centre for Inherited Metabolic Diseases, CHU de Marseille, Marseille, France
6. Centre de Référence Caribéen des maladies neuromusculaires rares, Hôpital Pierre-Zobda-Quitman, Fort de France, France
7. Département des pathologies du mouvement, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Service de Génétique, CHU de NICE, NICE, France

Mots clefs : Single-fiber studies, mitochondrial DNA, ARNt, respiratory chain deficiency

Résumé :

Whole mtDNA sequencing is now systematically used in diagnosis laboratories to screen patients with phenotype suggestive of mitochondrial disorders. NGS made it possible to increase dramatically the number of pathogenic mtDNA variants identified. In the same time, the number of VUS has increased even more and their interpretation remains challenging. Correct classification of variant pathogenicity is essential for an optimal patient management including treatment and genetic counselling. Here we describe the characterization, by single-fiber study, of eight heteroplasmic mtDNA variants, including three novel variants. Through the application of the pathogenicity scoring system, we have classified four variants as “definitely pathogenic” (m.590A > G, m.12293G > A, m.15958A > T, m.9166T > C). Two variants remain “possibly pathogenic” (m.5672T > C, m.4327T > C) but a future report of those variants in separate family would be sufficient for reclassification as “definitely pathogenic”. We thus confirmed definitively the diagnosis in four patients and brought strong arguments for two others, an essential prerequisite for genetic counseling and for better management of therapeutics. We also illustrate, with one patient, the contribution of single-fiber studies to the diagnostic strategy, in patients with pathogenic variants at low level of heteroplasmy. To conclude despite the fact that single-fiber study is time and cost consuming, it remain a gold-standard investigation that should be extensively used in clinical laboratories to confirm the pathogenicity of the identified variants.

#20342 : Stratégie TUMCO ou comment optimiser les inclusions dans les études TUMOSPEC et CoF-AT2 pour étudier les risques de cancer associés à un variant sur ATM ou sur l'un des gènes du complexe MRN**Auteurs :**

Juana Beauvallet (1), Dorothée Le Gal (1), Sarah Bonnet-Boissinot (1), Eve Cavaciuti (1), Marie-Gabrielle Dondon (1), Catherine Nogues (2, 3), Olivier Caron (4), Dominique Stoppa-Lyonnet (5), Fabienne Lesueur (1), Nadine Andrieu (1), Séverine Eon-Marchais (1)

1. Inserm U900, Institut Curie - PSL Research University - Mines ParisTech, Paris, France
2. Institut Paoli-Calmettes, Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers, Oncogénétique clinique, Marseille, France
3. Université Aix Marseille, INSERM, IRD, SESSTIM, Sciences Economiques et Sociales de la Santé & Traitement de l'Information Médicale, Marseille, France
4. Service d'Oncologie Génétique, Institut de Cancerologie Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Service de Génétique -, Institut Curie, Inserm U830, Université Paris-Descartes, Paris, France

Mots clefs : cancer du sein, prédisposition génétique, stratégie d'étude, investigation en épidémiologie génétique, ATM, complexe MRN

Résumé :

Aujourd'hui, les tests génétiques sont intégrés à la pratique clinique courante en oncogénétique pour adapter la prise en charge d'une personne et de sa famille. Depuis quelques années de « nouveaux » gènes de prédisposition au cancer du sein ont été identifiés et sont analysés en parallèle de *BRCA1* et *BRCA2*, cependant le bénéfice clinique de l'analyse de la plupart de ces gènes reste à évaluer. C'est pourquoi le Groupe Génétique et Cancer d'Unicancer en collaboration avec la Plateforme d'Investigation en Génétique et Épidémiologie (PIGE) (Inserm U900) ont mis en place des études d'épidémiologie génétique pour répondre à cette question.

Deux études, l'étude CoF-AT2 et l'étude TUMOSPEC sont en cours. CoF-AT2 est une cohorte nationale familiale prospective dont le but est d'estimer le risque de cancer associé aux gènes de l'Ataxie-Télangiectasie (A-T) comme *ATM*, ou les gènes du complexe MRN (*MRE11A*, *RAD50* et *NBN*) (1^{res} inclusions en 2003). Les familles invitées à participer à cette étude sont les familles d'enfants atteints d'A-T (ou d'un syndrome proche) ou des familles prédisposées au cancer. TUMOSPEC a pour but de déterminer le spectre tumoral et d'estimer la pénétrance de variants constitutionnels identifiés dans 24 gènes de prédisposition aux cancers du sein et/ou de l'ovaire autre que *BRCA1* et *BRCA2* (1^{res} inclusions en 2017).

Ces deux études ont en commun d'inclure des personnes porteuses d'un variant sur *ATM* (ou sur l'un des gènes du complexe MRN) et leurs apparentés, porteurs ou non porteurs du variant familial. Les critères d'éligibilité des variants étant identiques dans les deux études, TUMOSPEC identifie et inclut en amont des cas index éligibles à CoF-AT2 qui propose un suivi d'au moins dix ans aux participants inclus dans les deux études.

La stratégie TUMCO, mise en place par la PIGE, permet de faciliter l'adhésion de ces familles aux deux études. L'identification d'un variant dans l'un de ces gènes dans le cadre de TUMOSPEC rend éligible le participant à CoF-AT2. Lors de la consultation de rendu de résultat TUMOSPEC, COFAT2 peut être directement proposée. La logistique de ces deux études étant assurée par la PIGE, les données familiales, moléculaires, cliniques et épidémiologiques (questionnaires) sont facilement mutualisées avec l'accord des participants.

La stratégie TUMCO permet d'augmenter le nombre d'inclusions dans CoF-AT2. En effet, l'étude TUMOSPEC inclut environ 1500 cas index par an et la fréquence dans la population dite générale des variants éligibles pour l'étude CoF-AT2 est d'environ 2,8 % pour *ATM* et d'environ 2,2 % pour les gènes MRN. On s'attend donc à ce que l'étude TUMOSPEC identifie au moins 42 nouvelles familles *ATM* par an et 33 familles avec un variant dans l'un des trois gènes du complexe MRN.

Depuis le début de l'étude pilote de TUMOSPEC, 106 familles où ségrège un variant sur *ATM* (ou sur l'un des gènes du complexe MRN) ont été identifiées et sont invitées à participer à l'étude CoF-AT2.

Pièce jointe : AGHM2020_EonMarchais_Tumco.pdf

#19841 : MITOMATCHER: Une base de données clinico-biologique française pour faciliter la priorisation des variants de l'ADN mitochondrial

Auteurs :

Alice CHOURY (1), Thangavelu DHIWAGARAN (2), Veal COLIN (2), Céline BRIS (1), Sylvie BANNWARTH (3), David GOUDENEGE (1), Patrizia AMATI-BONNEAU (1), Valérie DESQUIRET-DUMAS (1), Cécile ROUZIER (3), Samira AIT-EL-MKADEM SAADI (3), Marie-Laure MARTIN-NEGRIER (4), Aurélien TRIMOUILLE (4), Stéphane ALLOUCHE (5), Gaëlle HARDY (6), Aurore DEVOS (7), Cécile ACQUAVIVA-BOURDAIN (8), Cécile PAGAN (8), Sophie VASSEUR (8), Pauline GAIGNARD (9), Abdel SLAMA (9), Claude JARDEL (10), Benoit RUCHETON (10), Giulia BARCIA (11), Jean-Paul BONNEFONT (11), Anne-Sophie LEBRE (12), Pascal REYNIER (13), Anthony BROOKES (2), Véronique PAQUIS-FLUCKINGER (3), Vincent PROCACCIO (1)

1. Département de Biochimie-Génétique, UMR CNRS 6015 INSERM 1083, CHU Angers, Angers, France
2. Department of Genetics, University of Leicester, Leicester, Royaume Uni
3. INSERM U1081, CNRS UMR7184, IRCAN, CHU de Nice, Nice, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
5. Laboratoire de Biochimie, CHU Caen, Caen, France
6. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Grenoble, Grenoble, France
7. Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
8. Maladies héréditaires du métabolisme, CHU de Lyon, HCL-GH Est, Centre de biologie et Pathologie Est, Bron, France
9. Service de Biochimie, CHU Bicêtre, AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre, France
10. UF Cardio et Myogénétique-Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
11. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
12. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Maison Blanche, CHU de Reims, Reims, France
13. Département de Biochimie-Génétique, UMR CNRS 6015 INSERM 1083, CHU Angers, Angers, France

Mots clefs : ADN mitochondrial, bioinformatique, base de données, maladies mitochondriales, Phentips

Résumé :

INTRODUCTION. L'avènement des techniques de séquençage haut débit (NGS) a révolutionné le diagnostic génétique des maladies mitochondriales avec une augmentation de la quantité de données générées mais également de leur complexité, notamment avec l'identification de nombreux variants de signification inconnue (VSI) dans les génomes nucléaires et mitochondriaux (ADNmt). L'objectif du réseau MitoDiag, 11 laboratoires hospitaliers français spécialisés dans le diagnostic de maladies mitochondriales et soutenus par la filière Filnemus, a donc été de créer une base de données clinico-biologique française, MitoMatcher, colligeant pour chaque patient l'ensemble des variants de l'ADNmt, des données cliniques et démographiques afin de faciliter les échanges entre les différents laboratoires du réseau et l'analyse des données NGS.

METHODES. La base de données MitoMatcher a été conçue autour de 3 modules : une base de données clinique, une base de données génétique de variants de l'ADNmt et une interface de requête. La base de données clinique est assurée par PhenoTIPS, logiciel spécialisé dans la collecte et l'analyse d'informations phénotypiques de patients atteints de maladies génétiques et utilisant la terminologie HPO. La base de données génétique contient, pour chaque patient, l'ensemble des informations contenu dans le fichier VCF ainsi que des métadonnées (nature de l'échantillon, type d'analyse). Pour l'interface de requête et de partage des informations entre les laboratoires, CafeVariome a été mis en place, en collaboration avec Anthony Brookes coordonnant le projet européen GEN2PHEN.

RESULTATS. Dans un premier temps, le projet MitoMatcher s'est focalisé sur l'analyse des données NGS de l'ADNmt. Après avoir développé la structure de la base de données de variants génétiques, celle-ci a été testée en intégrant les données de près de 800 patients d'une précédente étude menée par les laboratoires du réseau. L'interopérabilité entre les informations cliniques issues de PHENOTIPS et la base de données génétique a été rendue possible par l'intégration de CafeVariome dans MitoMatcher. L'interface a été développée pour permettre un partage des informations entre laboratoires et à l'extraction de nouvelles connaissances grâce à la technologie « elastic search ».

CONCLUSION ET PERSPECTIVES. Mitomatcher est une base données clinico-biologique française simplifiant le partage des informations génétiques et phénotypiques entre les laboratoires et faciliter l'interprétation des VSI de l'ADNmt. Le déploiement de l'outil au sein du réseau est prévu pour l'année 2020. Dans un second temps, son utilisation est envisagée pour des requêtes plus complexes (co-occurrence de variants, influence des haplogroupes mitochondriaux ...). Enfin, à moyen terme, l'outil pourra être élargi aux variants des gènes nucléaires impliqués dans les maladies mitochondriales, et l'architecture de Mitomatcher utilisée pour d'autres pathologies.

Pièce jointe : MITOMATCHER Version finale.docx

#19985 : Approche combinée de la recherche des CNV et SNV : performance du OneSeq sur une série de 14 patients à génotype connu

Auteurs :

Mathilde PUJALTE (1), Sara COSTANTINI (2), Gilles MORIN (2), Florence JOBIC (2), Henri COPIN (1), Guillaume JEDRASZAK (1)

1. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
2. Génétique Médicale, CHU Amiens Picardie, Amiens, France

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

Résumé :

Les anomalies du développement sont un problème important de santé publique. Bien qu'en grande partie d'origine génétique, le diagnostic étiologique reste compliqué en raison d'une grande hétérogénéité génétique (chromosomique et monogénique).

Après évaluation clinique, et en l'absence d'orientation évidente vers une cause chromosomique ou génique, une analyse de premier niveau telle que l'ACPA (Analyse Chromosomique sur Puce à ADN) est réalisée. Puis, dans un second temps, une analyse par NGS (Séquençage Haut Débit) sera réalisée (panel de gènes orienté par le phénotype, exome clinique ou exome complet). Ainsi, l'association de l'analyse par ACPA et par étude d'un grand panel permet d'obtenir un diagnostic dans 30 à 40% des cas.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à une technologie de NGS basée sur la capture des séquences codantes de 5227 gènes associée à la capture de régions intergéniques réparties de façon homogène sur l'ensemble du génome (sondes « backbone ») (technologie OneSeq Constitutional Research Panel, Agilent Technologies). Cette technologie permet, au cours d'une technique unique, de rechercher les variants nucléotidiques dans un panel de 5227 gènes impliqués en pathologie, de détecter les délétions et duplications chromosomiques par l'étude de la profondeur de séquençage des sondes « backbone » et d'identifier les régions d'homozygotie.

Nous avons étudié 14 patients présentant diverses anomalies du développement avec un génotype chromosomique connu (délétion 22q11.21, dérivé de translocation, délétion 15q11.2, recombinant, tétrasomie 12p...). La technologie OneSeq a permis de retrouver 11 variants préalablement identifiés en ACPA avec un chevauchement médian des coordonnées génomiques de 96% (minimum 27%, maximum 99%). Trois autres patients présentant une trisomie 13 en mosaïque (~23%) diagnostiquée par FISH, une disomie uniparentale du chromosome 15 diagnostiquée par marqueurs microsatellites et une trisomie 13 homogène diagnostiquée par QF-PCR ont également été correctement identifiés.

Ces premières données semblent indiquer que la technologie OneSeq pourrait à terme être discutée comme une alternative à l'association de l'ACPA et de l'étude d'un panel de gènes en première intention dans le diagnostic des anomalies du développement. Cette technologie permet en effet de combiner ces deux approches en une seule technique, et ainsi diminuer le délai et le coût analytique. La poursuite de cette étude avec l'analyse d'une plus grande série de patients est en cours pour confirmer ces résultats et améliorer la sensibilité.

Une étude médico-économique devra être réalisée afin d'envisager les possibilités de pérennisation de cette technologie.

Pièce jointe : Résumé performance du OneSeq.docx

#19961 : RFLP markers for thrombophilic pathology

Auteurs :

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Fatma Abid (2), Sonda Kammoun (3), Rim Louati (3), Samir Aloulou (4), Balkiss Abdelmoula (3), Souad Mallek (3), Takoua Sammouda (3), Samir M'rabet (4), Nawel Abdellaoui (3), Oldez kaabi (3), Kays Chaker (3), Mustapha Ben Aziza (3), Akram Sbai (4), Amir Karra (3), Walid Smaoui (3)

1. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research , Sfax, Tunisie
2. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Mahdia, Tunisie
3. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Sfax, Tunisie
4. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Gabes, Tunisie

Mots clefs : PCR-RFLP, Thrombophily, SNP, MTHFR, FII, FV, Leiden

Résumé :

Background and Purpose: Thrombophilic pathology, defined by clinical situations characterized by the occurrence of recurrent venous thrombosis or by biological hypercoagulability, may be associated at the genetic level with recurrent mutations and polymorphisms such as factor 2 G20210A mutation and Factor 5 Leiden mutation. Objective: In this study, we report the development of a panel of molecular techniques that have been established in our laboratory to explore the RFLP markers of the thromboembolic pathology.

Methodology: Mutations of factor 5 G1691A, prothrombin gene (factor 2) G20210A and MTHFR gene C677T as well as A1298C were targeted. The primers pairs were chosen for the amplification by PCR of exon 10 of the F5 gene, the 3'UTR region of the factor 2 gene and respectively of exons 4 and 7 of the MTHFR gene. Enzymatic digests were performed using two MnlI restriction enzymes for F5 and F5 and HinfI amplification products as well as MbolI for MTHFR amplicons.

Results and Discussions: The PCR-RFLP reactions of the four fragments comprising the polymorphisms of interest in our study revealed several types of profiles according to the presence or absence of the polymorphism and according to its homozygous or heterozygous status. The molecular techniques of RFLP markers identification in thromboembolic disease that we have developed are reproducible, simple and inexpensive. Their use in both biological practice and basic research is still relevant.

#20469 : Les techniques de séquençage ciblé d'ARN, une évolution par rapport aux techniques FISH et IHC?

Auteurs :

Gaëlle Tachon (1), Ulrich Cortes (1), Sophie Richard (2), Serge Milin (2), Sébastien Martin (1), Camille Evrard (3), Corinne Lamour (3), Lucie Karayan-Tapon (1)

1. Laboratoire de cancérologie biologique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
2. Service d'anatomopathologie, CHU de Poitiers, Poitiers, France
3. Service de cancérologie clinique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Mots clefs : Cancer du poumon, séquençage de nouvelle génération, RNASeq, ALK, ROS1

Résumé :

Introduction: Les réarrangements *ALK* et *ROS1* sont des cibles moléculaires de plusieurs inhibiteurs de tyrosine kinases. Les approches par séquençage d'ARN sont annoncées comme la nouvelle référence pour la détection des gènes de fusion, représentant une alternative aux techniques standards d'immunohistochimie (IHC) et d'hybridation in situ en fluorescence (FISH).

Patients et méthodes: Dans cette étude, nous avons comparé deux techniques de séquençage ciblé d'ARN, le kit *FusionPlex® Alk Ret Ros1 v2* (Archer®) et le kit *FHS-003Z-12 - Human lung cancer panel* (Qiagen®), et corrélé leurs résultats avec ceux d'IHC et de FISH. Pour ce faire, 37 échantillons de cancers du poumon non à petites cellules, fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE), initialement explorés par IHC et FISH, ont été sélectionnés pour analyse par séquençage d'ARN.

Résultats: Les kits Qiagen® et Archer® ont produit des résultats similaires et ont correctement identifié respectivement 85,1% (23/27) et 81,5% (22/27) des échantillons IHC / FISH *ALK* ou *ROS1* positifs et 100% (6/6) des échantillons négatifs. En ce qui concerne quatre cas ambigus de la cohorte, IHC-positifs / FISH négatifs, le séquençage de l'ARN a confirmé le résultat FISH dans 75% (3/4) des cas. Bien que non statistiquement significatif, la survie globale et la survie sans progression des patients avec des variants de fusion *EML4-ALK* fréquents, identifiés par séquençage d'ARN, étaient plus courtes que celles des patients porteurs de variants de fusion rares. Enfin, le coût technique du séquençage d'ARN s'est révélé bien plus élevé que le coût des techniques conventionnelles.

Conclusion: Les tests de séquençage ciblé d'ARN dans le cancer du poumon sont réalisables et fournissent des informations intéressantes sur le gène partenaire de la fusion. Les kits *FusionPlex® Alk Ret Ros1 v2* (Archer®) et *Human lung cancer panel* (Qiagen®) requièrent un temps technique équivalent et ont fourni des résultats similaires à partir d'échantillons FFPE. En revanche, leur sensibilité n'atteignent pas 100% et l'emploi de ces techniques se trouvent limité par leur coût supérieur et la nécessité d'une quantité d'ARN tumoral relativement importante. À l'heure actuelle, en l'absence d'exigences relatives aux informations sur le gène partenaire avant le traitement ciblé, les analyses par séquençage ciblé d'ARN ne semblent pas destinées à remplacer les techniques conventionnelles mais plutôt à permettre la résolution des cas discordants FISH vs IHC.

Pièce jointe : Abstract_assises de genetique.docx

#20338 : Disomie fonctionnelle de l’X : observation du syndrome de duplication du gène MECP2 chez une fille

Auteurs :

Mario Abaji (1), Jérémie Mortreux (1, 2), Florence Riccardi (1, 2), Maude Grelet (1), Nicole Philip (1, 2), Chantal Missirian (1, 2)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone Enfants, AP-HM, Marseille, France

2. Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France

Mots clefs : MECP2, disomie fonctionnelle chromosome X, duplication, translocation

Résumé :

Un mécanisme épigénétique assure normalement une compensation de dosage de gènes entre les deux sexes. Ainsi la majorité des gènes localisés sur le chromosome X a le même niveau d’expression chez les hommes XY et les femmes XX par le phénomène de l’inactivation du chromosome X. La double expression des gènes localisés sur le chromosome X, normalement exprimés en une seule copie, est appelée disomie fonctionnelle.

Les mécanismes responsables d’un gain d’une région du chromosome X peuvent être une duplication intra-chromosomique, une translocation déséquilibrée X/autosome ou X/Y, ou une insertion interchromosomique. Ces duplications sont le plus souvent pathogènes chez le garçon. Chez les filles, le phénotype sera fonction du mécanisme chromosomique à l’origine du déséquilibre et du profil d’inactivation du chromosome X.

Nous rapportons l’observation d’une patiente adressée en consultation à l’âge de 8 mois pour un retard de croissance majeur (T < -4DS) à début anténatal. A l’examen clinique, sont observés : une microcéphalie (PC < -3DS), une dysmorphie faciale, une hypotonie, un contact peu satisfaisant et des stéréotypies manuelles. L’ACPA réalisée a mis en évidence deux variations du nombre de copies (CNV), considérées comme pathogènes, traduisant la présence d’un dérivé du chromosome 9 issu d’une translocation réciproque déséquilibrée survenue *de novo* : délétion terminale du bras court d’un chromosome 9 d’environ 459 kb, associé à une duplication terminale du bras long d’un chromosome X (régionXq27.1-q28) d’environ 16 Mb. Cet intervalle dupliqué contient plusieurs gènes dont *MECP2*, *SOX3*, *FMR1*, *ABCD1*, *L1CAM* et *IRAK1*.

Le syndrome de duplication du gène *MECP2* secondaire à une duplication interstitielle est bien connu et décrit chez les garçons. Chez les filles, cette duplication interstitielle est asymptomatique en raison du biais d’inactivation de l’X remanié. De rares observations de filles à phénotype modéré sont décrites en raison d’une inactivation aléatoire de l’X. Un phénotype sévère identique à celui du garçon est observé chez les filles, si la région du chromosome X dupliqué échappe à l’inactivation. Ceci est décrit en cas de translocation réciproque déséquilibrée X/autosome ou d’insertion interchromosomique (Bijlsma et al, 2012 ; Sanlaville et al, 2005).

La sévérité du phénotype de cette patiente correspond au syndrome de duplication du gène *MECP2*, conséquence de la disomie fonctionnelle de la région Xq28 localisée sur le dérivé du chromosome 9.

Pièce jointe : ASSISES_TOURS_ABSTRACT.docx

#20189 : Histoire naturelle du syndrome de Wiedemann Steiner par une approche orientée par les données fournies par un entrepôt de données de santé**Auteurs :**

Clothilde Ormieres (1), Marlène Rio (1), sophie Rondeau (2), Giulia Barcia (2), Antoine Neuraz (3), Vincent Benoit (4), Caroline Michot (1), Lyonnet Stanislas (1), Geneviève Baujat (1), Valérie Cormier-Daire (1), Nicolas Garcelon (4)

1. service de génétique clinique, Hôpital Necker Enfants Malades , Paris, France
2. Laboratoire de biologie moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades , Paris, France
3. Département d'informatique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades , Paris, France
4. Data Science Platform, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : Wiedemann Steiner, KMT2A, entrepôt de données, intelligence artificielle

Résumé :

Le syndrome de Wiedemann Steiner, décrit pour la première fois en 1989, est un syndrome qui associe un retard statural, une hypertrichose en particulier des coudes, une dysmorphie faciale reconnaissable, et un trouble du neurodéveloppement variable. Le gène *KMT2A* impliqué dans ce syndrome a été identifié en 2012 et moins de 100 cas ont été rapportés dans la littérature médicale. La description du phénotype est parfois succincte, et l'histoire naturelle et de l'évolutivité mal décrites.

Nous nous proposons d'utiliser l'entrepôt de données de santé de l'hôpital Necker et le logiciel d'exploitation développé par l'institut Imagine (Dr Warehouse) pour étudier l'histoire naturelle du syndrome de Wiedemann Steiner. En effet, l'utilisation d'entrepôts de données de santé peut être utile pour enrichir la description phénotypique car il permet de rassembler en une seule interface les données de différents systèmes d'information (comptes rendus médicaux, compte rendus d'imagerie, courriers, résultats biologiques...). Dr Warehouse permet de réaliser une recherche textuelle sur l'ensemble de ces documents hospitaliers contenus dans l'entrepôt. Cette étude rétrospective longitudinale inclut 12 patients suivis à l'hôpital Necker Enfants Malades avec confirmation moléculaire. La cohorte étudiée a un sex ratio de 0,7 (masculin 5, féminin 7), et comprends 5 adultes, le patient le plus âgé ayant 19 ans. A partir des données textuelles de l'entrepôt de données, un algorithme de traitement automatique du langage extrait automatiquement les phénotypes des patients. Un PheWAS (Phenome Wide Association) est réalisé sur ces phénotypes afin de visualiser les plus pertinents et de repérer d'éventuelles associations phénotypiques non référencées par OMIM ou ORPHADATA. Les photographies des patients seront également analysées.

#20023 : Confirmation de l'identité des prélèvements par PCR multiplexe fluorescente au laboratoire de Génétique du CHU de La Réunion

Auteurs :

Patrick MUNIER (1), Eric CHANE THIEN (1), Christine PAYET (1), Bérénice DORAY (1), Paul GUEGUEN (1)

1. Service de Génétique, CHU de La Réunion, SAINT DENIS, France

Mots clefs : Identitovigilance, PCR multiplex

Résumé :

Contexte : Nous avons développé, dans le cadre de notre procédure d'identitovigilance, une PCR multiplexe permettant de tracer l'identité des échantillons lors du processus pré-analytique (extraction d'ADN) et analytique (ACPA et NGS).

Matériels & Méthodes : Cinq microsatellites (D15S1021, D16S3089, D6S1657, D22S1157, D16S3080) et un amplicon ciblant le chromosome Y (*AMELY*) sont amplifiés sur l'ADN extrait ainsi que sur une seconde extraction d'1µl de sang du tube primaire avec le kit Genereleaser (Eurogentec). Les amorces sens sont modifiées en 5' avec une queue universelle. Une amorce universelle fluorescente de séquence, identique à la queue des amorces sens, est ajoutée au mix d'amorces à la concentration finale de 0,5µM (d'après Schuelke M, Nature Biotechnology, 2000). L'amorce universelle fluorescente est marquée en FAM pour l'extraction de l'ADN et en HEX pour l'extraction Genereleaser. De plus, des PCR spécifiques d'allèles comportant 4 SNP (rs216903, rs2704051, rs2044613 et rs10789387) et un amplicon sur le gène *AMELX* sont amplifiées dans le mélange PCR « ADN ». La discrimination des deux allèles des SNP se fait par la taille (ajout en 5' d'une séquence de 4 bases sur l'amorce spécifique de l'allèle minoritaire). Brièvement, 1µl de sang total est mélangé à 10µl du réactif Genereleaser dans un microtube avant une incubation dans un thermocycleur selon les recommandations du fournisseur. A ce mélange sont ajoutés 15µl du mix multiplex Qiagen (Qiagen) et 4µl du mélange d'amorces. La PCR « ADN » est réalisée sous 10µl et comprend 5µl du mix multiplex Qiagen, 4µl du mélange d'amorces et 1µl d'ADN. Chaque PCR est réalisée de manière indépendante en utilisant le même programme de PCR (dénaturation initiale à 95°C pendant 15 minutes, 40 cycles comprenant 30 secondes à 95 °C, 90 secondes à 59°C et 30 secondes à 72°C, puis une élongation finale de 10 minutes à 72°C). A la fin des PCR, un mélange de 2µl de la PCR « Genereleaser » (marqué en HEX), 0,5µl de la PCR « ADN » (marqué en FAM et NED), 0,2µl de ROX et 7,3µl de formamide est analysé sur le séquenceur 3130XL (ThermoFischer). Les données sont interprétées par le logiciel Genemapper V6 (ThermoFischer).

Résultats : Des tests en limite de détection montrent que l'analyse des microsatellites et des SNP est possible jusqu'à 1ng/µl de l'ADN extrait. Le génotype des SNP est parfaitement concordant avec l'analyse en ACPA (ThermoFischer) sur 30 échantillons. Enfin, des tests de contamination inter échantillons ont été effectués et objectivent par l'analyse des microsatellites une détection de contamination à 5%.

Conclusions : Cette approche simple et robuste permet de vérifier la concordance entre l'ADN extrait et le tube primaire (utile en cas d'extraction manuelle ou semi-automatique), de vérifier l'absence de contamination de l'ADN extrait et de tracer l'échantillon tout au long du processus analytique par la comparaison des 4 SNP avec les données issues de l'ACPA ou du NGS.

#19789 : Nouvelles techniques en anténatal, les parents ont-ils vraiment le choix

Auteurs :

Eva TOUSSAINT (1)

1. génétique médicale, chu Pellegrin, Bordeaux, France

Mots clefs : psychologie, éthique, anténatal, nouvelles techniques

Résumé :

Mon propos sera d'exposer ici comment, d'un côté: les avancées des techniques médicales et de la génétique et de l'autre les attentes des parents se mêlent, se répondent et s'entrechoquent. Mon support théorique viendra de la psychologie et de la systémie, mais aussi de l'éthique et de la philosophie. Et des situations cliniques viendront mettre en perspective cette réflexion. « C'est donc bien aux influences réciproques de la vie psychique et de la vie somatique qu'est confrontée la médecine d'aujourd'hui, l'obligeant à repenser ou à reformuler ses avancées » .

Peu de comportements humains aussi naturels que la procréation n'auront connus en si peu de temps autant de transformations artificielles. En effet, le champ de la médecine prénatale s'est transformé avec le développement des techniques issues de la génétique médicale, de l'imagerie et de l'assistance médicale à la procréation et a permis d'importants progrès dans la gestion du désir d'enfant. Parmi ces nouvelles technologies, c'est actuellement la génétique qui est au premier plan. La génétique médicale de par sa projection familiale et ses potentialités, touche à la filiation et questionne la potentielle normalisation de l'être humain : Si on offre aux parents la possibilité de choisir leur enfant, cela nourrit le rêve de l'enfant idéal que tout le monde porte au fond de lui . Alors avons-nous créé le fantasme de l'enfant génétiquement parfait ? Les futurs parents à trop désirer ne vont-ils pas être déçus par cet objet/bébé médicalement normalisé mais forcément humain et donc source d'insatisfaction. L'enfant rêvé parfait risque d'être bien éloigné de l'enfant réel. On en arrive à un désir d'enfant sacralisé, médicalisé, comme un nouvel objet médical.

#20072 : Étude moléculaire du gène GH1 en rapport avec le déficit isolé en hormone de croissance

Auteurs :

CHAIMA SAHLI (1), EMNA SGHAIRI (2), FADHEL NAJJAR (2), Taieb MESSAOUD (1)

1. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire , hôpital d'enfants Bechir Hamza Tunis , tunis, Tunisie

2. laboratoire de biochimie , CHU FATOUMA BOURGHIBA MONASTIR , MONASTIR , Tunisie

Mots clefs : Déficit en hormone de croissance, gène GH1, population Tunisienne, polymorphisme.

Résumé :

La prévalence du déficit isolé en GH est estimé à 1/10 000 à 1/4000 naissances dont 3 à 30% sont des cas familiaux, suggérant une origine génétique. Le diagnostic du déficit familial en GH repose sur l'étude des données cliniques, biologiques et moléculaires des membres vivants de chaque famille renfermant aux moins deux membres étiquetés déficitaires. Il s'agit d'une étude rétrospective portée sur sept familles ayant au moins deux déficitaires connus ou de morphologie en faveur de déficit en GH. Une étude clinique, biologique et moléculaire a été réalisée auprès de chaque membre de la famille. L'âge moyen au moment de diagnostic des propositus est de 9.4 ans. La taille moyenne en déviation standards (DS) est de -2.9. Le poids moyen est de -2,1. La consanguinité était présente dans 30% des cas. Le diagnostic de DGH était retenu sur la base de deux tests de stimulation. Le déficit en GH dans notre étude est isolé. Neuf propositus ont subis les deux tests et un seul cas avait une hypoglycémie néonatale. La corrélation entre les deux tests était faible, cinq propositus ayant répondu au test de tolérance à l'insuline(TTI) n'ont pas répondu au test au glucagon. L'étude moléculaire, après le séquençage de quatre exons du gène GH1 n'a pas révélée de mutations suspectes mais trois cas de polymorphismes au niveau de l'exon 1 ont été signalés dont deux cas étaient des membres non déficitaires connus et un cas était un déficitaire connu. Notre étude confirme les limites des tests de stimulation, l'étude moléculaire devait être plus extensive ciblant d'autres gènes pouvant être impliqués dans le DGH. L'épigénétique est encore un des axes sur lequel on peut s'appuyer pour expliquer la notion de GH bio-inactive.

Pièce jointe : ASSISES 2020.docx

#19887 : Caractérisation d'éléments cis-régulateurs du gène GJB2 du locus DFNB1

Auteurs :

Anaïs LE NABEC (1), Alicia QUILLVERE (2), Cédric LE MARECHAL (1, 3), Claude FEREC (2, 3), Stéphanie MOISAN (2, 3)

1. Génétique constitutionnelle, Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, brest, France
2. Génétique constitutionnelle, Univ Brest, Inserm, EFS, UMR 1078, GGB, Brest, France
3. , Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHRU de Brest,, Brest, France

Mots clefs : DFNB1, organisation chromatinienne, cis-régulation, régulation de gène, GJB2

Résumé :

La régulation transcriptionnelle est modulée par des éléments *cis*-régulateurs, ils peuvent interagir avec le promoteur d'un gène *via* la formation de boucle d'ADN. Cette L'architecture chromatinienne va donc jouer un rôle essentiel dans la régulation génique. L'altération d'e ces éléments *cis*-régulateurs ou de l'organisation tridimensionnelle du génome peuvent conduire à des pathologies de type « *cis-ruption disorder* ».

Les surdités correspondent à la pathologie sensorielle la plus commune et touchent 6 à 8 % de la population mondiale. Dans 80% des cas, ces surdités sont d'origine génétique. Les surdités non-syndromiques, non associées à d'autres pathologies, sont dans 30 % des cas liées au locus *DFNB1*. En effet, cCes surdités récessives sont associées à des mutations du gène *GJB2* (*Gap Junction Beta 2*) et à des grandes délétions du locus. La mutation la plus fréquemment retrouvée est la 35delG avec une prévalence élevée dans la population entendante, d' environ 2%, dans la population entendante. Cet excès de porteurs hétérozygotes sains dans la population Néanmoins,ainsi que des cas de surdités *DFNB1* restent encore non inexpliqués., De plus, cet excès de porteurs hétérozygotes sains dans la population nous laisse supposer la présence d'éléments *cis*-régulateurs à distance du gène *GJB2*.

La conformation chromatinienne du locus *DFNB1* a été analysée par la technique 5C (*Chromosome Conformation Capture Carbon Copy*). Ces analyses ont permis de mettre en évidence plusieurs contacts chromatiens avec le promoteur *GJB2*. Ces régions ont ensuite été analysées par gène rapporteur pour identifier de potentiels éléments régulateurs de *GJB2*. Nous avons alors identifié qQuatre régions ayant un effet enhancer et deux régions ayant un effet silencer sur l'expression de *GJB2* ont été identifiées. De plus, nous avons analysé IL'architecture du locus *DFNB1* a également été analysée en étudiant les sites de fixation du facteur de transcription CTCF (*CCCTC-binding factor*) par ChIP-qPCR. Cette protéine insulatrice joue un rôle essentiel dans l'organisation et dans l'architecture de la chromatine. Ici, nous mettons en évidenceAinsi, des sites préférentiels de fixation de la protéine CTCF ont été mis en évidence, ce qui nous permet permettant de proposer un modèle de régulation 3D du locus *DFNB1*. Les régions *cis*-régulatrices seraient alors rapprochées du promoteur *GJB2* par la formation d'une boucle chromatinienne permettant ainsi sa régulation.

Pièce jointe : Résumé_Caractérisation d'éléments cis-regulateurs de GJB2_Anaïs LE NABEC.docx

#20299 : Diagnostic prénatal d'une hexasomie 12p en mosaïque associée à une hernie diaphragmatique

Auteurs :

Chloé PUISNEY-DAKHLI (1), Marie CLEMENCEAU (1), Dima JOUNI (1), Romain DIOT (1), M VALDUGA (2), Jean-Marc COSTA (2), Jelena MARTINOVIC (3), Julien SAADA (4), Gérard TACHDJIAN (1), Alexandra BENACHI (4), Aline RECEVEUR (1)

1. Service d'Histologie, Embryologie, Cytogénétique, Hopital Antoine Béchère (AP-HP), CLAMART, France
2. Cytogénétique, CERBA, Saint-Ouen-L'Aumône, France
3. Unité de Foetopathologie, Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hopital Antoine Béchère (AP-HP), CLAMART, France
4. Service de Gynécologie Obstétrique, Hopital Antoine Béchère (AP-HP), CLAMART, France

Mots clefs : Diagnostic prénatal, Pallister-Killian, hernie diaphragmatique, hexasomie, 12p

Résumé :

Le syndrome de Pallister-Killian (PKS, OMIM 601803) est une maladie rare qui se caractérise par des anomalies congénitales associées à un déficit intellectuel sévère. Cependant, en diagnostic prénatal ou postnatal, une variation phénotypique assez importante a été rapportée, allant des malformations cliniques (Retard de développement mental et psychomoteur, macrosomie, épilepsie, surdité, dysmorphie faciale) à la mort fœtale in utero (en raison particulièrement de la hernie de coupole diaphragmatique). Le PKS est lié à la présence d'un isochromosome du bras court d'un chromosome 12 (i12p) surnuméraire, en mosaïque, provenant d'une non disjonction chromosomique lors de la deuxième division méiotique maternelle suivie d'un réarrangement.

Nous rapportons ici le cinquième cas d'une hexasomie 12p en mosaïque, détectée par une analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) et par FISH à partir du liquide amniotique dans le cadre d'une hernie de coupole diaphragmatique. L'ACPA a montré un gain de la région 12p. La technique de FISH a mis en évidence deux marqueurs surnuméraires d'i12p en mosaïque faible dans 3 à 4 % des amniocytes. Le caryotype fœtal conventionnel à partir des amniocytes cultivés n'a pas mis en évidence d'anomalie chromosomique.

L'étude de foetopathologie a confirmé la hernie de coupole diaphragmatique gauche qui était associée à une avance staturo-pondérale, une dysmorphie faciale et une camptodactylie. L'ACPA et la FISH réalisées sur des prélèvements tissulaires ont confirmé le mosaïcisme avec une disparité du taux de mosaïque selon les tissus. En effet, le taux de mosaïcisme de l'hexasomie était en FISH de 5% dans le liquide amniotique cultivé, mais était respectivement à 16% et 19% à partir du poumon et du diaphragme. Par ailleurs, un faible pourcentage de cellules ne présentaient qu'une tétrasomie 12p : 7,3% dans le poumon et le diaphragme, contre 2% dans le liquide amniotique. Le caryotype fœtal conventionnel réalisé à partir du poumon était sans anomalie.

En conclusion, l'étude de ce cas de PKS nous permet de décrire le cinquième cas rare d'hexasomie 12p dans un contexte prénatal de hernie de coupole diaphragmatique. Cette étude permet par ailleurs de confirmer la variabilité tissulaire du taux de présence en mosaïque du ou des marqueurs surnuméraires et corrèle avec la description dans la littérature de génotypes variables (trisomie, une tétrasomie et une hexasomie seules ou combinées) lors d'une atteinte par le PKS. Par ailleurs, cette étude permet de souligner la meilleure sensibilité de l'analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) par rapport à la FISH.

#19934 : Que nous apprend le bilan cardiologique précoce des apparentés porteurs d'une mutation sarcomérique responsable de cardiomyopathie hypertrophique ?**Auteurs :**

Aurélien PALMYRE (1), Nicolas MANSENCAL (2), Sophie MALLET (2), Jean François PRUNY (3), Marc SIROL (4), Philippe CHARRON (3), Olivier DUBOURG (2)

1. Génétique, Hôpital Ambroise Paré, BOULOGNE BILLANCOURT, France
2. Cardiologie, Hôpital Ambroise Paré, BOULOGNE BILLANCOURT, France
3. Génétique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Cardiologie, Hôpital Ambroise Paré, Paris, France

Mots clefs : CMH, Cardiomyopathie hypertrophique, test génétique prédictif, mort subite, pénétrance

Résumé :

La cardiomyopathie hypertrophique (CMH) est une maladie cardiaque héréditaire et il est recommandé lors du diagnostic de CMH chez un propositus, d'initier, chez les apparentés, un dépistage cardiologique et/ou génétique.

Notre objectif était d'étudier le bilan cardiaque d'apparentés au stade précoce, sans CMH connue au moment du test génétique prédictif, afin de déterminer (1) l'impact du test génétique prédictif sur la proportion d'apparentés débutant la surveillance cardiaque, (2) estimer la pénétrance de la CMH et (3) déterminer la prévalence des facteurs de risque (FDR) de mort subite (MS) à ce stade sans expression cardiaque avérée.

Nous avons étudié les bilans cardiaques de 60 apparentés porteurs de mutation causale (31 femmes/ 29 hommes, âge 7 à 68 ans), n'ayant pas de CMH connue au moment du test génétique prédictif réalisé au CHU Ambroise Paré.

Les analyses montrent que 37% (22/60) de la cohorte seulement avaient initié le bilan cardiaque avant le test génétique, puis 63% (38/60) après.

La pénétrance au moment de ce premier bilan était de 16,7% (10/60). [PA1] La pénétrance semblait plus importante chez l'homme (28%) que chez la femme (6%). [PA2] La pénétrance semblait plus élevée pour les variants MYH7 (33%) que les variants TNNT2 (17%), MYBPC3 (7%) et TNNI3 (0%)[PA3] .

Les trois FDRs majeurs identifiés au stade précoce avant expression de l'hypertrophie (n=50) sont la tachycardie ventriculaire non soutenue (TVNS) (n=1, 2%), la syncope inexpliquée (n=2, 4%) et les antécédents familiaux de MS (n=5, 10%). Par ailleurs, les individus sans CMH, 10% (2/21) avaient de la fibrose cardiaque en IRM, 14% (7/50) une oreillette gauche dilatée, 3% (1/32) une hyperexcitabilité ventriculaire (ESV > 240/24h), 2% une mutation à haut risque et 8% (4/50) pratiquaient de l'exercice physique intense.

Conclusion : L'identification d'un variant génétique causal chez un apparenté est une étape essentielle pour initier la surveillance cardiologique chez ces apparentés qui ne l'ont majoritairement pas fait auparavant. La pénétrance semble varier selon le sexe et le gène impliqué. Le stade précoce sans hypertrophie peut parfois être associé à des facteurs de risques personnels de mort subite. Cette étude pourrait être élargie sur un plus grand nombre d'apparentés.

#20468 : Différences transcriptomiques entre des sujets non obèses, obèses et anciennement obèses.

Auteurs :

Marine Tessarech (1), Enrichetta Mileti (2), Kelvin Kwok (2), Peter Arner (3), Mikael Rydén (3), Carsten Daub (2)

1. Département de biochimie et génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Department of Biosciences and Nutrition, Karolinska Institutet, Stockholm, Suède
3. Department of Medicine, Karolinska University Hospital Huddinge, Stockholm, Suède

Mots clefs : Obésité; Transcriptome; chirurgie bariatrique.; Cage-sequencing

Résumé :

Obesity is a worldwide public health associated with many comorbidities. Understanding its underlying causes and mechanisms is one of the keys to prevent and treat this condition. Besides obvious environmental causes, as physical inactivity or poor nutrition, genetics is one of the main component of obesity. Here, we perform a transcriptomic study by 5'Cap-mRNA sequencing of subcutaneous white adipose tissue of non-obese (NO), obese (OB) and previously obese (POB) subjects, at fasting and hyperinsulinemia states.

Differential gene expression analysis showed few difference in the analysis of NO compared to POB subjects, while the comparison of OB subjects versus NO and versus POB displayed many transcriptomic changes, with most of the genes in common in both comparison. Moreover, many genes were specifically involved in expression changes between OB and POB subjects. Gene ontology analysis revealed that those genes were involved in metabolic and cellular process pathways and in cardiovascular diseases. Fasting and hyperinsulinemia metabolic states had little influence on the results.

This study demonstrates that a major gene expression difference is observed between obese and lean subjects, whether they were never obese or got rid of their fat mass after a weight loss surgery, and that after this kind of surgery, many changes in gene expression appear. Further studies are needed to identify precisely which genes are involved and if they can be a target for personalized medicine in the treatment of obesity by weight loss surgery.

#20447 : Séquençage à haut débit pour le diagnostic des maladies lysosomales : avantages et limites

Auteurs :

Jean-Philippe PUECH (1), Sarah SNANOUDJ-VERBER (1), Orlane VATEL (1), Sylvain HANEIN (2), Sabine LEROY (1), Cécile FOURRAGE (3), Partick NITSCHKE (3), Catherine CAILLAUD (1, 4)

1. Laboratoire de Biochimie, Métabolomique and Protéomique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris, France, PARIS, France
2. Plateforme de Génétique Translationnelle, Institut Imagine, UMR 1163, Paris, France, PARIS, France
3. Plateforme de Bioinformatique, UMR 1163, Université Paris Descartes, Institut Imagine, Paris, France, PARIS, France
4. INSERM U1151, Institut Necker Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France, PARIS, France

Mots clefs : Maladies lysosomales, séquençage haut débit

Résumé :

Un panel spécifique a été développé pour le diagnostic moléculaire par séquençage à haut débit (SHD) de patients atteints de maladies de surcharge lysosomale (MSL). Il couvre 60 gènes impliqués dans les MSL, incluant les 13 gènes responsables de céréïde-lipofuscinoses neuronales (CLN). Ce panel a été utilisé pour analyser soit des patients déjà diagnostiqués par dosage enzymatique, soit des patients non encore caractérisés (notamment suspects de CLN). Chez les patients ayant eu un diagnostic enzymatique préalable, tous les allèles ont pu être déterminés (*GAA*, *IDUA*, *GALNS*, *GLB1*, ...). De nombreuses femmes présentant des signes potentiels de maladie de Fabry ont été testées ; la plupart d'entre elles ne présentaient aucun variant pathogène sur le gène *GLA* permettant d'exclure définitivement cette hypothèse diagnostique. Chez un patient atteint de maladie de Hunter, une délétion de l'exon 5 du gène *IDS* a été révélée par l'analyse des CNV (*copy number variations*) et ultérieurement confirmée par séquençage Sanger. Chez un autre patient ne montrant aucune anomalie ni en Sanger, ni en SHD, une inversion a été suspectée, puis confirmée à l'aide d'oligonucléotides spécifiques. Chez un patient avec un déficit en hexosaminidase A et une seule mutation caractérisée par Sanger, le panel a confirmé la présence d'une délétion des exons 2 à 5 du gène *HEXA*. Par contre, un patient avec une forte suspicion de gangliosidose à GM2 sans déficit en hexosaminidases présentait une mutation homozygote (c.427-2A > G) sur le gène *GM2A* codant l'activateur du GM2. L'analyse des CNV a permis de mettre en évidence des délétions nouvelles chez des patients atteints de maladie de Gaucher, suggérant que ces anomalies ne sont pas rares et pourraient être ratées par séquençage Sanger. 55 patients avec une suspicion clinique de CLN ont été testés. 18 étaient positifs (33%) : 2 *PPT1* et 3 *TPP1* (diagnostic enzymatique préalable), 1 *CLN3*, 2 *CLN5*, 6 *CLN6*, 1 *MFSD8*, 2 *KCTD7* et 1 *GRN*. Dans une famille libanaise, le trio familial a été analysé et un variant *TPP1* caractérisé (c.225A > G). De façon surprenante, les parents étaient non seulement hétérozygotes pour cette mutation, mais également pour un variant pathogène (c.1250C > T) sur le gène *HEXB* confirmant un double risque dans cette famille (maladie de Sandhoff). Au total, notre approche par SHD est un nouvel outil pour le diagnostic fiable et rapide des patients atteints de MSL. Il constitue une avancée majeure pour la détection de grandes délétions, même si la détermination de leurs bornes requiert des étapes supplémentaires (relativement complexes pour les gènes *GBA* et *IDS* du fait de la présence de pseudogènes très homologues). Ce panel MSL est tout particulièrement utile pour la caractérisation des diverses formes de CLN, ceci par comparaison avec la stratégie précédemment utilisée (séquençage Sanger gène par gène). Cependant, pour les cas non résolus, d'autres approches (panels, exome, génome) restent nécessaires.

#20545 : Caractérisation du contenu génique de petits chromosomes marqueurs surnuméraires par analyse chromosomique sur puce à ADN chez des patients infertiles

Auteurs :

Paul Rollier (1, 2), Marion Beaumont (2), Vincent Jauffrey (3), Linda Akloul (1), Erika Launay (2), Saloua Toujani (2), Adélie Perrot (2), Guilhem Jouve (4), Anne-Sophie Neyroud (4, 5), Laurent Pasquier (1), Sylvie Odent (1), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (2, 5), Sylvie Jaillard (2, 5)

1. Génétique clinique, CHU de Rennes, RENNES, France
2. Cytogénétique et biologie cellulaire, CHU de Rennes, RENNES, France
3. Laboratoire de cytogénétique, Cytogen, Saint Herblain, France
4. Biologie de la reproduction, CHU de Rennes, RENNES, France
5. UMR_S 1085, Irset, RENNES, France

Mots clefs : infertilité, marqueur surnuméraire, ACPA

Résumé :

Introduction/Objectifs :

L'observation de petits chromosomes marqueurs surnuméraires (sSMC) sur le caryotype est plus fréquente lors d'une infertilité que dans la population générale (0,125% vs 0,043%) [Liehr et al., 2007]. La survenue d'une infertilité peut être due à une perturbation de la méiose [Olszewska et al., 2015] mais aussi potentiellement à une amplification de certains gènes. Néanmoins, bien que 30% des sSMC soient associés à un déséquilibre de l'euchromatine, le contenu génique précis n'est pas toujours caractérisé [Armanet et al., 2015].

Matériels/Patients et Méthodes

Nous avons réalisé depuis 2011 au sein du service de Cytogénétique du CHU de Rennes une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) pour tous les sSMC identifiés chez des patients masculins et féminins infertiles, afin de mettre en évidence la présence de gènes sur ces sSMC.

Résultats :

Sur notre cohorte de patients infertiles, 7 (4 hommes/3 femmes) présentent un sSMC, dont 4 sont en mosaïque. 3 sSMC proviennent des chromosomes 15 ou 13/21 (ACPA normale). Pour 4 sSMC, l'ACPA montre un gain de matériel chromosomique: un der(1) (gain 1p121q12 de 22,5 Mb), un psu idic(14) (gain 14q11.2 d'1 Mb), un r(18) en mosaïque (gain 18p11.31q11.2 de 15,2 Mb) et un idic(22) en mosaïque (tétrasomie 22q11.1q11.21 de 2.5 Mb) caractéristique d'un syndrome Cat Eye de type 1.

Ces gains impliquent entre 10 et 76 gènes. Certains d'entre eux sont des gènes candidats pour l'infertilité impliqués dans la division cellulaire ou la gonadogenèse (ex. : *ESCO1*, *CABYR*, ...) ou sont des gènes connus pour être impliqués dans l'infertilité chez un individu de sexe opposé (ex. : *TAF4B* responsable de défaut de spermatogenèse [Ayhan et al., 2014] présent au niveau du sSMC d'un sujet féminin).

Conclusion :

Des informations additionnelles concernant les gènes impliqués sont nécessaires pour établir un lien clair avec le phénotype (mise en évidence d'une surexpression génique et conséquences attendues dans des études fonctionnelles, confrontation aux données récentes de séquençage d'exome réalisé chez des patients infertiles).

#20374 : Bilan des différentes investigations génétiques réalisées par séquençage haut-débit (TES, ES, WGS, RNA-seq) chez des individus avec déficience intellectuelle et autisme.**Auteurs :**

Claire Feger (1), Francesca Mattioli (2), Elsa Nourrisson (1), Celine Cuny (3), Sylvie Friedmann (3), Carmen Fruchart (3), Antony Le behec (3), Vincent Zylliox (3), Sinthuja Pachchek (3), Samuel Nicaise (3), Damien Plassard (4), Celine Keime (4), Veronique Geoffroy (5), Jean-francois Deleuze (6), Anne Boland (6), cliniciens généticiens (7), Salima El Chehadeh (8), Jamel Chelly (9), Elise Schaefer (10), Jean muller (5), Jean-Louis Mandel (9), Bénédicte Gerard (11), Amélie Piton (2)

1. laboratoire de génétique moléculaire, hopitaux universitaires de strasbourg, strasbourg, France
2. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, strasbourg, France
4. plateforme genomeast, IGBMC, illkirch, France
5. Inserm U1112, , strasbourg, France
6. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Institut de Biologie François Jacob, evry, France
7. , serves de génétique médicale, toutes, France
8. Service de génétique clinique, hopitaux universitaires de strasbourg, strasbourg, France
9. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Illkirch, France
10. Département de Génétique, CHU de Haute-pierre, Strasbourg, France, , Array, France
11. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, , Strasbourg, France

Mots clefs : séquençage, déficience intellectuelle, autisme, WGS; RNA-seq

Résumé :

Une stratégie ciblée de séquençage de 220 à 556 gènes connus (TES) a été réalisée sur un total de plus de 1,500 patients avec Déficience Intellectuelle/Autisme, avec une efficacité diagnostique constante autour de 25% et un taux plus élevé chez les filles (33%) que chez les garçons (21%). Dans 70% des cas il s'agit de formes autosomiques dominantes, dans 5% de formes récessives et dans un peu plus de 20% de formes liées à l'X, avec une répartition étonnamment similaire dans les deux sexes. Les variants pathogènes se répartissent de façon équitable entre les classes 1) faux-sens, 2) frameshift et 3) stop et épissage.

Dans 13% des cas, le séquençage ciblé a abouti à l'identification de variations de signification inconnue, qui sont de façon attendue très majoritairement des faux-sens (> 60%). Les gènes qui en accumulent le plus sont *HUWE1*, *MED12*, *PAK3* pour les formes liées à l'X et *ANKRD11*, *DYNC1H1* ou *TRIO* pour les formes dominantes.

En parallèle ou en complément de ces analyses ciblées, nous avons réalisé des séquençages d'exome (ES) sur plus d'une centaine de patients avec DI/TSA, en solo (16%), en trio (35%) ou en utilisant des pools parentaux (la moitié des cas). Ce séquençage a permis d'aboutir à un diagnostic dans environ 30% des cas, mais également à identifier de nouveaux gènes de DI dont nous avons pu confirmer l'implication grâce à la réalisation d'études fonctionnelles (*BRPF1*, *NARS*, *UNC13A*, etc) et de nouveaux gènes candidats dont l'implication reste à confirmer (*SLITRK2*, *ATP6V0E2*, etc).

Pour une trentaine de patients, nous avons choisi de séquencer le génome en entier (WGS), à la recherche de variants ponctuels ou structuraux. Ces analyses ont permis de mettre en évidence des mutations pathogènes dans gènes de DI identifiés assez récemment (*WAC*, *POU3F3*, etc) ou dans des nouveaux gènes (*DDX6*).

Enfin, des séquençages d'ARN ont été réalisés à partir d'ARNm extraits sur des tissus facilement accessibles, sang et fibroblastes. Une proportion significative (> 70%) de gènes impliqués dans la DI sont exprimés dans au moins un des deux tissus. Nous avons effectué une analyse combinée incluant 1) la détection/annotation des variants 2) détection d'altérations d'épissage 3) l'étude d'expression différentielle. Huit patients avec des mutations connues (épissage, perte d'expression d'un allèle) ont été inclus, ainsi que trois patients avec DI sans diagnostic après TES ou ES. Pour une des patiente, l'analyse a révélé une variation faux-sens pathogène connue dans un gène récemment impliqué dans une forme sévère de DI, *MIPEP* et exprimée de façon monoallélique. Le retour aux données d'exome nous a permis d'identifier en trans une variation tronquante, menant probablement à une dégradation des transcrits par le système NMD. Dans beaucoup de cas d'investigations génétiques poussées (WGS ou RNA-Seq), c'est donc plus la progression des connaissances plus que les progrès techniques qui ont permis d'obtenir un diagnostic moléculaire.

#20193 : Quantification de marqueurs de la synthèse de l'élastine dans le syndrome de Williams-Beuren et dans le syndrome de microduplication 7q11.23.**Auteurs :**

Severine RUET (1), Thibaud ARMAND (2), Patrick Edery (3, 4), Cecile ACQUAVIVA (1), Massimiliano Rossi (3, 5)

1. Service Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est, UF Maladies héréditaires du métabolisme, CHU Lyon, Bron, France
2. Service de génétique, Centre de Référence des Anomalies du développement, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Service de Génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Inserm U1028, UMR 5292, Université Claude Bernard, Bron, France
5. Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Inserm U1028, UMR 5292, Université Claude Bernard, Bron, France

Mots clefs : biomarqueur, élastine, ELN, syndrome de Williams-Beuren, microduplication 7q11.23

Résumé :

Introduction. Le syndrome de Williams-Beuren (SWB) est une maladie génétique rare causée par une microdélétion 7q11.23 incluant plusieurs gènes dont *ELN* (codant pour l'élastine), dont l'haploinsuffisance est responsable d'une atteinte vasculaire caractéristique (sténoses artérielles/hypertension). La microduplication 7q11.23 (dup7q11.23, comportant 3 copies d'*ELN*) cause une vasculopathie syndromique « en miroir » (dilatation aortique) ; la pathogenèse de la dilatation aortique dans la dup7q11.23 n'est pas connue et une anomalie du métabolisme de l'élastine n'est pas prouvée. La vasculopathie est la principale cause de mortalité dans le SWB et il n'existe pas de traitement spécifique. Un premier essai thérapeutique a évalué l'effet d'un inducteur de l'élastine, le Minoxidil, sur l'atteinte vasculaire de 21 enfants SWB (NCT00876200). Cette étude avait été limitée par l'absence de biomarqueur pouvant être utilisé comme critère de jugement. La caractérisation de biomarqueurs de la biosynthèse de l'élastine pour les pathologies caractérisées par une anomalie du nombre de copies d'*ELN* (SWB et dup7q11.23) est donc une étape essentielle pour développer des essais thérapeutiques ultérieurs. Les dérivés des acides aminés, desmosine et isodesmosine (D&I), retrouvés uniquement dans l'élastine, sont des candidats idéaux.

Sujets et méthodes. La technique de dosage plasmatique et urinaire de D&I a été développée par LC-MS/MS. Ces métabolites ont ensuite été dosés chez 39 témoins sains, 11 patients SWB et 8 patients dup7q11.23.

Résultats. Les taux plasmatiques de D&I ne sont pas influencés par l'âge des sujets et il n'y a pas de différence significative entre les témoins et les patients SWB/dup7q11.23. En revanche, les taux urinaires de D&I varient en fonction de l'âge chez les sujets témoins : <1an, médiane = 52,5 nmol/mol créat (37,2-71,6) ; 1 à 2 ans ; médiane = 15,6 (10,1 - 20,8) ; 2-16 ans : médiane = 6,6 (4,3 - 9) ; >16 ans : médiane = 2,3 (1,8 - 2,7). Chez les patients SWB, les taux urinaires sont bas ou à la limite inférieure de l'intervalle de référence pour les patients de moins de 16 ans : < 1 an (n = 1) : 18,6 ; 1 - 2 ans (n=2) : 7,1 et 11,2 ; 2 - 16 ans (n=5) : 1,7 à 5,7. Les patients SWB adultes et les patients dup7q11.23 présentent des taux comparables aux témoins.

Conclusion : La mise au point d'une technique de dosage de D&I a permis d'établir des intervalles de référence de ces métabolites urinaires en fonction de l'âge. L'excrétion urinaire de D&I chez les enfants SWB est tendanciellement basse par rapport aux témoins, comme conséquence très probable du déficit de la biosynthèse de l'élastine due à l'haploinsuffisance d'*ELN*. D'autres métabolites de l'élastine (peptides de l'élastine) vont être dosés chez les patients SWB et dup7q11.23. L'ensemble de ces biomarqueurs pourra être utilisé comme critère de jugement intermédiaire dans des futurs essais thérapeutiques avec des médicaments modulant la biosynthèse de l'élastine.

Pièce jointe : Abstract DEF.docx

#20514 : Au delà de la corrélation génotype-phénotype: Perspectives thérapeutiques ?

Auteurs :

Yasmine AYEB (1), Afef Jalloul (2), Selmene WANNES (3), Hamza Ben Abdallah (2), Molka Kammoun (2), NAJLA SOYAH (4), ALI SAAD (2), Soumaya Mougou-Zerelli (2)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie., sousse, Tunisie
3. Service de Pédiatrie, Mahdia, Tunisie, Faculté de Médecine de Monastir, Tunisie., Tunis, Tunisie
4. Service de Pédiatrie, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie., sousse, Tunisie

Résumé :

La situation du médecin généticien n'est pas toujours une des plus plaisantes. Celui ci pourra toujours se réjouir au moment où sera posé le diagnostic d'une maladie génétique, mais se confrontera au sentiment d'impuissance face à la demande de solutions curatives. Est-ce envisageable d'outrepasser la corrélation génotype-phénotype et d'envisager des solutions thérapeutiques pour ces malades considérés par certains cliniciens comme "condamnés", "sans espoirs" ?

Dans ce travail nous rapportons l'exemple de quatre patients ayant consulté pour exploration d'un retard de croissance associé à une dysmorphie faciale dans trois cas et pour troubles du spectre autistique et épilepsie pour le quatrième cas. Une exploration par les techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire a été menée.

Ces explorations ont mis en évidence une del18(q21), une del18 (q23.33) et un r(15) pour trois cas ainsi qu'une del1p34.2 pour le 4^{ème} cas.

La corrélation génotype phénotype a permis d'identifier une délétion des gènes GALR1, IGF1R et GLUT1 respectivement dans le cas des délétion 18q23.33, l'anneau du 15 et la délétion 1p34.2. Au-delà et en se basant sur les conséquences de l'haplo insuffisance de ces gènes, nous avons pu proposer une prise en charge adaptée à ces patients. Un traitement par de la GH a été administré pour les trois premiers afin d'améliorer le retard de croissance mais aussi curieusement, le développement psychomoteur. Le quatrième patient a suivi un régime cétogène pour pallier au déficit en GLUT1 et ainsi prévenir les crises d'épilepsie.

Une fois n'est pas coutume, et tenant compte de ces exemples qui démontrent bien l'aspect thérapeutique d'une maladie génétique, pourrions-nous dans un futur proche espérer défier les croyances et offrir à travers une médecine personnalisée un conseil génétique incluant un vrai traitement curatif ou du moins palliatif aux patients ?

#20466 : The PARIS study: a resource to identify subgroups of individuals with autism by integrating clinical, brain imaging and genetics data**Auteurs :**

Claire Leblond (1), Freddy Cliquet (1), Alexandre Mathieu (1), Julien Fumey (1), Florence Campana (1), Simon Malesys (1), Amaury Vaysse (1), Thomas Rolland (1), Roberto Toro (1), Guillaume Dumas (1), Nicolas Traut (1), Nathalie Lemièrre (1), Aline Lefebvre (2), Anna Maruani (2), Anne Beggiato (2), Frederique Amsellem (2), Anne Boland (3), Jean François Deleuze (3), Marion Leboyer (4), Richard Delorme (2), Thomas Bourgeron (1)

1. Neuroscience, Institut Pasteur, PARIS, France
2. , Hopital Robert Debré APHP, PARIS, France
3. , Centre National Recherche Génomique Humaine, Evry, France
4. , Fondation Fondamental, Créteil, France

Mots clefs : autism, MRI, EEG, whole genome sequencing

Résumé :

Introduction: Autism is characterized by deficits in social communication and restricted pattern of interest and stereotypies. But beyond this unifying classification, lies a very heterogeneous group of individuals with different clinical symptoms. This heterogeneity hampers the development of targeted clinical trials on homogeneous subgroups of patients sharing similar causes of autism. Our multidisciplinary team made of clinicians, psychologists, neuroscientists and geneticists has collected and analyzed a large dataset of clinical, brain and genetics data on a large group of patients with autism collected through the PARIS cohort. This resource can be used to identify new genetic pathways and mechanisms for autism, but also to develop new clinical classifications.

Results: The PARIS study consists of a deep-phenotyped cohort of 4,503 individuals including 1,102 probands with autism, 2,745 relatives and 656 controls. For all the patients and most of the first-degree relatives, we have clinical data and DNA. We have SNP data for 2,815 participants (1,085 patients, 1,089 relatives and 641 controls), whole exome/genome sequencing (WES/WGS) data for 1,938 participants (481 patients, 1,018 relatives and 439 controls) and methylation data for 316 participants (72 patients, 148 relatives and 96 controls). At the brain level, we have collected Magnetic Resonance Imaging (MRI) and Electroencephalographic (EEG) data on more than 800 individuals. MRI data are acquired at 1-3T, and include structural T1W data, functional MRI data, and diffusion weighted MRI. Our EEG protocol includes resting states (eyes opened, eyes closed), classical tasks for induced (e.g. action execution and observation) and evoked (e.g. MisMatch Negativity) activity, but also a new paradigm of real-time social interaction with a virtual partner. Using the resource, we characterized the genotype-phenotype relationship of autism-associated genes such as *SHANK1*, *SHANK2*, *SHANK3*, *CNTN5*, *CNTN6* and others that will be presented. We also studied multiplex families with at least two members with autism and showed that patients can share risk factors, but also carry different risk variants suggesting a multiple hits inheritance in some families. Finally, the contribution of the common variants in the susceptibility is estimated by computing the polygenic scores of the patients, their relatives and controls.

Conclusion: There is a need for research on complex conditions such as autism to have access to large dataset with deep clinical, brain and genetic profiles. The effort of the PARIS study is also aligned with other initiatives such as the European EU-AIMS/AIMS2-trials project, the Simons Simplex Collection, the SPARK and the MSSNG projects. These collaborative initiatives must be extended to additional projects focused on epilepsy and intellectual disability in order to identify the shared and specific factors associated with these complex conditions.

#20194 : When Machine Learning and Human Intelligence Meet: The Mucopolidosis type IV face recognition.

Auteurs :

Annick Raas-Rothschild (1, 2), Fleischer Nicole (3), Ben Pode-Shakked (4, 5)

1. institute of rare diseases, Edmond and Lily Safra Children Hospital, Sheba Medical Center, Tel Hashomer, Israël
2. department of Pediatrics, Sackler School of Medicine, Tel Aviv University , Ramat Aviv, Israël
3. FDNA Inc., Boston, MA, USA, FDNA, Boston , Etats-Unis
4. Institute of Rare Diseases, Edmond and Lily Safra Children Hospital ; Sheba Medical center, Tel Hashomer , Israël
5. Pediatric departement , Sackler School of medicine ; Tel Aviv University , Ramat Aviv , Ramat Aviv , Israël

Mots clefs : Mucopolidosis IV; artificial intelligence

Résumé :

Background: Mucopolidosis type IV (ML-IV) is a rare autosomal recessive lysosomal storage disease, caused by mutations in the *MCOLN1* gene. It manifests with non-specific symptoms of developmental delay, esotropia and even corneal clouding. While the clinical phenotype, and molecular basis have been described, the diagnosis of ML-IV remains difficult. Here we report that ML IV patients share common and identifiable facial features, which have yet to be included in the clinical phenotype.

Objective and methods: In order to validate these findings using a digital tool, two-dimensional facial images of ten patients with ML-IV, obtained at various ages, were analyzed using facial dysmorphology novel analysis (FDNA). This technology utilizes various measurements extracted from automatically detected facial points from facial photographs, to recognize distinct dysmorphic features and analyze their similarities to known facial patterns, termed gestalts.

Results: Using the digital tool we could validate the clinical observation. When analyzed in comparison to a control cohort of unaffected cases (n=100) and a cohort of cases diagnosed with syndromes other than ML-IV (n=100), the ML-IV cohort showed a mean area-under-the-curve (AUC) of 0.77 (SD, 0.19) and 0.87 (SD, 0.05), respectively.

Conclusions: We describe for the first time recognizable facial features typical in ML IV patients. Reaffirmed by the objective FDNA technology, the described common facial gestalt adds to the tools currently available for clinicians and may thus assist in reaching an earlier diagnosis of this rare and difficult to diagnose disorder.

Pièce jointe : MLIV abstract tours.pdf

#20475 : Analyse moléculaire de l'hyperparathyroïdie primaire néonatale sévère

Auteurs :

Ahlem Afaya Bzéouich (1), Sana Sfar (2, 3), Emna Kerkeni (1), Mohamed Fadhel Najjar (4), Lotfi Chouchane (3), Kamel Monastiri (1, 5)

1. Unité de Recherche d'Epidémiologie, Ethiopathogénie et Thérapeutique des Malformations Congénitales du Centre Tunisien , Faculté de Médecine de Monastir, Monastir, Tunisie

2. : Unité de Recherche d'Epidémiologie, Ethiopathogénie et Thérapeutique des Malformations Congénitales du Centre Tunisien, Faculté de Médecine de Monastir, Monastir, Tunisie

3. Laboratoire d'Immuno-Oncologie Moléculaire, Faculté de Médecine de Monastir, Monastir, Tunisie

4. Laboratoire de Biochimie et de toxicologie, CHU F Bourguiba de Monastir, Monastir, Tunisie

5. Laboratoire de soin intensif et de Médecine Néonatale, Faculté de Médecine de Monastir, Monastir, Tunisie

Mots clefs : Hyperparathyroïdie primaire néonatale sévère (NSHPT), Hypercalcémie hypocalciurique familiale (FHH), Récepteur du calcium (CaSR), Analyse de mutation

Résumé :

L'hyperparathyroïdie primaire néonatale sévère est une maladie rare. Elle est le plus souvent transmise selon un mode autosomique récessif. Cette pathologie peut résulter d'une affection héréditaire rare ; l'hypercalcémie hypocalciurique familiale autosomique dominante.

Cinq membres d'une même famille Tunisienne dont un est atteint d'hyperparathyroïdie primaire néonatale sévère (NSHPT) et quatre sont atteints d'hypercalcémie hypocalciurique familiale (FHH) ont fait l'objet de notre étude. L'analyse moléculaire du gène CaSR qui code pour la protéine du récepteur du calcium a été effectuée chez cette famille afin de rechercher, dans un premier temps, cinq mutations cibles. La PCR-RFLP a montré l'absence de la mutation P55L (exon 2) chez les cinq membres étudiés. Bien que le séquençage automatique ne nous a pas permis de détecter les mutations Y218C (exon 4) et H595Y, P748H et C765W (exon 7), nous avons identifié une nouvelle délétion de 15 pb (c.1952_1966del) à l'état homozygote au niveau de l'exon 7 du gène CaSR chez la patiente étudiée présentant une NSHPT. La même délétion a été décelée à l'état hétérozygote chez tous les membres analysés de sa famille. Cette mutation pourrait être responsable de la perte de fonction du récepteur du calcium chez la famille étudiée.

Pièce jointe : Résumé NSHPT.docx

#19739 : Le polymorphisme I/D du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) et le risque de schizophrénie dans la population de l'Est Algérien

Auteurs :

Karima Sifi (1), Sabah Hanachi (1), Hadia Ziada-Bouchar (2), Fatima Madoui (3), Salima Zekri (4), Karima Benmebarek (4), Noredine Abadi (5)

1. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie
2. , Université Constantine 1, Constantine, Algérie
3. service de psychiatrie, EPH de psychiatrie de djebel el ouahch Constantine, Constantine, Algérie
4. Laboratoire de recherche et de biologie moléculaire faculté de médecine université Salah Bounider Constantine, laboratoire de biochimie CHU Ben badis de Constantine Algérie, Faculté de médecine université Salah Bounider Constantine, Constantine, Algérie
5. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université Salah Bounider Constantine 3, CHU de Constantine, Constantine, Algérie

Mots clefs : Polymorphisme I/D , ACE, Schizophrénie

Résumé :

L'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine dans différentes régions du cerveau de patients atteints de schizophrénie est augmentée, ce qui suggère une implication possible de cet enzyme dans les troubles psychiatriques. Depuis la découverte du polymorphisme Insertion (I) / Délétion (D) du gène codant l'ACE de nombreuses études ont permis de mieux comprendre les relations complexes existant entre ce polymorphisme et les taux sériques de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et la fréquence de certaines maladies liées à ce polymorphisme dont la schizophrénie. Plus récemment, Les données de littérature se sont intéressées à ce gène dans la schizophrénie et les résultats obtenus étaient très hétérogènes.

Les objectifs de notre étude étaient de :

- Déterminer les fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme ID de l'ACE chez des témoins et des patients présentant une schizophrénie.
- D'évaluer la relation entre ce polymorphisme et le risque de survenu de schizophrénie.

Patients et méthodes

Notre étude a porté sur 114 témoins et 42 schizophrènes. La recherche du polymorphisme I/D du gène de l'ACE a été réalisé par une simple PCR suivie d'une séparation des produits de PCR par une électrophorèse sur gel d'agarose.

Résultats et discussion

Notre étude a porté sur 114 témoins répartis en 67 (58,77) hommes et 47 (41,23%) femmes, avec un sexe ratio H/F de 1.42. Et 42 patients présentant une schizophrénie dont 36 (84,44) sont de sexe masculin et 6 de sexe féminin avec un sex ratio H/F de 6 avec un $p < 001$.

Chez les patients, les fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène de l'ACE étaient comme suit :13.33 % (6) sont hétérozygotes ID, 66.66% (30) sont homozygotes DD et 13.33 % sont des homozygotes II.

Chez les Témoins, Nous avons donc remarqué que le génotype dominant est le génotype hétérozygote ID avec un taux de 51.75%, alors que le génotype homozygote ID est le moins fréquent avec un taux 5.26% et une fréquence de 40.35% pour le génotype II.

Nos résultats n'ont révélé aucune association entre le polymorphisme I/D de l'ACE et la susceptibilité à la schizophrénie puisque l'Odds ratios I/I vs DD est non significative 1.97(0.50-7.69) avec une $p=0.21$ non significatif, par contre l'odds ratios I/I+ID vs DD est proche de la significativité 0.45(0.20-1.04) avec une $p=0.06$.

Conclusion

Nos résultats concordent avec de nombreuses données de la littérature.

Pièce jointe : Résumé en Francais ACE Schozophrénie.doc

#20128 : Diagnostic génétique des azoospermies et leur prise en charge en assistance médicale à la procréation : l'expérience bordelaise en particulier dans l'absence bilatérale des canaux déférents

Auteurs :

Mathilde Humbert (1), Marie-Pierre Reboul (2), Patricia Fergelot (3, 4), Patricia Fergelot (5), Benoit Arveiler (3, 4), Benoit Arveiler (6), Aline Papaxanthos-Roche (1), Clément Jimenez (1), Lucie Chansel-Debordeaux (1)

1. Service de Biologie de la Reproduction et CECOS, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, bordeaux, France
4. Inserm, U1211, université de Bordeaux, bordeaux, France
5. Inserm, U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, bordeaux, France
6. Inserm, U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : azoospermie, absence bilatérale des canaux déférents, diagnostic génétique, assistance médicale à la procréation

Résumé :

Les étiologies de l'azoospermie sont nombreuses et multifactorielles. Cependant, cette dernière reste inexpiquée dans de nombreux cas.

Notre étude a porté sur l'ensemble des analyses de génétique moléculaire faites au CHU de Bordeaux dans le cadre de l'azoospermie.

La recherche de microdélétions du chromosome Y fait partie des analyses de génétique moléculaire prescrites en présence d'une azoospermie non obstructive ou d'une oligoasthénotéatozoospermie sévère. Elle est cependant souvent demandée quelle que soit l'origine de l'azoospermie. Entre 2004 et 2018, 589 recherches de microdélétions ont été effectuées dont 5% positives. Ce chiffre est comparable à la littérature. Les fréquences des différentes microdélétions ne diffèrent pas non plus de la littérature hormis la microdélétion AZFbc retrouvée à une fréquence légèrement plus élevée que dans d'autres études.

Dans les tableaux d'ABCD à l'origine d'une azoospermie obstructive, le gène *CFTR* est le principal incriminé. Il est retrouvé dans la littérature dans près de 80% des ABCD. De 1993 à 2018, sur les 101 demandes, seuls 36 patients étaient porteurs de deux mutations, aussi il est essentiel de s'assurer que l'ensemble du tableau clinico-biologique est en faveur d'une ABCD avant de faire une analyse moléculaire exhaustive. Quand deux mutations ne sont pas identifiées, l'analyse du gène *ADGRG2*, de mise en place récente au CHU de Lille, peut être réalisée en seconde intention.

Nous avons repris tous les dossiers de 1993 à 2018 dans le cadre d'une ABCD, pour lesquels une analyse du gène *CFTR* est incomplète. En utilisant des critères très stricts, seulement huit patients sur les 65 pour lesquels deux mutations du gène *CFTR* n'ont pas été identifiées, ont été sélectionnés. Ils présentaient tous les critères de l'azoospermie liée à une ABCD, définie par l'hypospermie, le pH acide, le taux de fructose effondré dans le plasma séminal et l'absence clinique et échographique des canaux déférents. Un patient sur les huit, pour lequel la première analyse datait de 2003, a pu obtenir un diagnostic de certitude après analyse en NGS du gène *CFTR*. Pour un autre patient la recherche de mutation s'est avérée positive pour le gène *ADGRG2*. Le gène se situant sur le chromosome X, la mutation sera systématiquement transmise à ses filles qui seront conductrices. Pour les 6 patients restants, l'analyse la plus exhaustive possible du gène *CFTR* au CHU de Bordeaux, avec récemment la détection de mutations introniques profondes, s'est avérée négative. Chez ces derniers le séquençage de l'exome est une perspective intéressante pour rechercher une origine génétique à leur infertilité.

La prise en charge en AMP de ces hommes ayant une ABCD est soumise à la même réglementation que les couples sans atteinte génétique. Selon le bilan clinico-biologique, il pourra être proposé au couple soit la réalisation d'une biopsie testiculaire en amont d'une FIV avec ICSI soit une insémination intra utérine ou une FIV avec sperme de donneur.

Pièce jointe : abstract poster assises 08102019.docx

#20487 : Risque résiduel de handicap neurologique des enfants nés avec une anomalie isolée du corps calleux après bilan étiologique exhaustif incluant un exome en trio : étude préliminaire à partir de l'évaluation de 22 nourrissons.

Auteurs :

Myrtille SPENTCHIAN (1), Stéphanie VALENCE (2), Solveig HEIDE (1), Marie-Laure MOUTARD (3), Thierry BILLETTE DE VILLEMEUR (2), Corinne MACH (4), Elodie LEJEUNE (4), Valérie OLIN (4), Claude ESTRADÉ (4), Aurelie WAERNESSYCKLE (4), Sabina KARAGIC (4), Catherine GAREL (5), Cyril MIGNOT (6), Alexandra AFENJAR (7), Linda MOUTHON (8), Daphné LEHALLE (8), Julien BURATTI (4), Soizic NOVO (9), Anne-Marie DARRAS (5), Marie LE MEUR (5), Valérie LAYET (10), Vassilis TSATSARIS (11), Béatrice LAUDIER (12), Elise BOUCHER (13), Khaoula ZAAFRANE (14), Agnès GUET (15), Marie-Amélie ROCCHISANI (16), Sébastien MOUTTON (17), Mathieu MILH (18), Sabine SIGAUDY (19), Magali GORCE (20), Marta SPODENKIEWICZ (21), Perrine VENOT (22), Geneviève QUENUM MIRAILLET (23), sandra CHANTOT BASTARAU (24), Mathilde NIZON (25), Marie VINCENT (25), Claire BENETEAU (25), Sandra MERCIER (25), Isabelle SABATIER (26), Vincent Des PORTES (26), Audrey PUTOUX (27), Laurent GUIBAUD (28), Laurent MANDELBROT (29), Alexandra BENACHI (30), Jean-Marie JOUANNIC (31), Boris KEREN (32), Delphine HERON (33)

1. UF de génétique médicale, groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, paris, France
2. Service de neuropédiatrie, Hôpital Armand TROUSSEAU, paris, France
3. Service de neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, paris, France
4. Département de génétique, GH Pitié Salpêtrière, paris, France
5. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Armand TROUSSEAU, paris, France
6. UF de Génétique Médicale, GH Pitié Salpêtrière, paris, France
7. Département de génétique, Hôpital Armand Trousseau, paris, France
8. UF de Génétique Médicale, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
9. Service Gynécologie Obstétrique, Hôpital Armand Trousseau, paris, France
10. Service de génétique clinique, Hôpital du HAVRE, LE HAVRE, France
11. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital COCHIN, paris, France
12. Service de génétique clinique, Hôpital d'Orléans, Orléans, France
13. Service de génétique clinique, CHRU St Jacques, Besançon, France
14. Service de génétique clinique, CHU de l'Archet II, Nice, France
15. service de Pédiatrie, Hôpital Louis-Mourier, Colombes, France
16. Service de neuropédiatrie, Hôpital COCHIN, Paris, France
17. Service de génétique clinique, CHU De Dijon, Dijon, France
18. Service de neuropédiatrie, CHU La Timone, Marseille , France
19. Service de génétique clinique, CHU La Timone, Marseille, France
20. Service de génétique clinique, CHU d'Angers, Angers, France
21. Service de génétique clinique, CHU de Reims, Reims, France
22. Service de neuropédiatrie, CHU de Reims, Reims, France
23. service de Cytogénétique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
24. UF de Cytogénétique, Hôpital Armand TROUSSEAU, paris, France
25. Service de génétique clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
26. Service de neuropédiatrie, HFME, Bron, France
27. Service de génétique clinique, HFME, Bron, France
28. Service de Radiologie, HFME, Bron, France
29. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Louis-Mourier, Colombes, France
30. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France
31. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Armand TROUSSEAU, Paris, France
32. Département de génétique, groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
33. UF de génétique médicale, groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : DPN, conseil génétique, neurodéveloppement, anomalie du corps calleux

Résumé :

Le pronostic neuro-développemental des enfants nés après un diagnostic prénatal d'anomalie du corps calleux (ACC) est variable et fonction du diagnostic étiologique. Il est considéré comme favorable dans 80% des cas lorsque l'ACC est apparemment isolée, en l'absence d'anomalie génétique sur le caryotype et l'ACPA. Afin d'augmenter le taux diagnostique, un séquençage d'exome prénatal en trio a été réalisé dans notre équipe depuis septembre 2018, dans le but de rechercher les causes monogéniques connues d'ACC (qui sont les plus fréquentes). Nous présentons ici les résultats préliminaires de l'évaluation neurologique des nourrissons nés après résultats génétiques prénatals normaux (caryotype, ACPA et exome en trio).

49 fœtus présentant une ACC isolée (n=36) ou associée (n=13) ont bénéficié d'un séquençage d'exome en trio en plus des examens habituels, sur une période de 13 mois. 15 grossesses ont été interrompues (IMG), et 34 ont été poursuivies (69%), dont 6 sont toujours en cours. 28 enfants sont nés, âgés de 10 jours à 11 mois, répartis en 17 garçons (61%) et 11 filles (39%), parmi lesquels 24 sans diagnostic étiologique. 22 sont porteurs d'une ACC isolée. Parmi les 19 enfants avec ACC isolée sans diagnostic pour lesquels nous avons des nouvelles, 18 ont un examen normal à la naissance et un développement normal à un âge moyen de 6 mois et demi (95%). Aucune malformation majeure ou mineure n'a été mise en évidence. Un seul enfant a des troubles du neuro-développement (syndrome de West débuté à l'âge de 4 mois, sans diagnostic étiologique identifié en post natal pour l'instant).

En conclusion, le risque résiduel de trouble du neuro-développement devant une ACC isolée avec des examens génétiques prénatals normaux (dont séquençage d'exome) ne peut être établi au vu de ces données préliminaires. On note cependant l'absence d'atteinte neurologique grave, et de formes syndromiques chez 18/19 enfants. Le suivi neurologique prospectif de ces enfants se poursuit, afin de déterminer le risque résiduel de handicap et délivrer un conseil prénatal plus fiable aux couples confrontés à la découverte de cette malformation.

#20218 : GenSCor : un logiciel personnalisable, pour prioriser très facilement ses variants candidats issus du séquençage nouvelle génération (panels de gènes, exomes, génomes).

Auteurs :

Quentin Riché-Piotax (1), Frédéric Bilan (1), Patrick Girard (2), Lucile Letienne (1), Gwenael Leguyader (3), Tanguy Niclass (1)

1. Service de Génétique Biologique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
2. LIAS, ISAE-ENSMA, Poitiers, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Mots clefs : Bioinformatique, IHM, Exome, NGS, priorisation, automatisation

Résumé :

Dans le domaine de la génétique des maladies rares, le séquençage de l'exome est maintenant utilisé comme outil diagnostique en routine. Cette analyse dont l'interprétation s'avère souvent délicate produit des quantités importantes de données, qu'il convient de prioriser à l'aide d'outils bioinformatiques devenant de plus en plus puissants. L'objectif pour le Généticien Biologiste est d'extraire la variation pathogène parmi les dizaines de milliers de variations nucléotidiques (généralement autour de 60 000) présentes dans le fichier au format vcf, préalablement annoté. Ce processus de recherche du variant pathogène varie grandement d'un généticien à un autre. La plupart des approches décrites dans la bibliographie sont basées sur l'application de filtres successifs avec un fort risque de faux-négatif et de nombreuses analyses successives nécessaires pour obtenir un résultat exhaustif.

Nous présentons ici GenSCor (Genetic Score Creator), un outil graphique développé en Python s'exécutant sous de multiples environnements (distributions linux, Windows ayant une configuration matérielle basique) et ne nécessitant pas de compétences en informatique particulières pour le faire fonctionner. Ce logiciel a été conçu pour aider les Généticiens à prioriser rapidement les variations selon leurs propres critères, de façon rapide, reproductible et automatisable. Cet outil permet aux Généticiens de définir leurs propres règles de priorisation, basées sur les annotations qu'ils utilisent. GenSCor utilise en entrée un fichier plat issu du fichier vcf annoté. Les généticiens peuvent ainsi appliquer des conditions pour chaque colonne d'annotation qui les intéressent et attribuer à cette condition un score (positif ou négatif). Les conditions peuvent s'appliquer avec les opérateurs mathématiques classiques, ainsi que des opérateurs de texte, pour vérifier si la colonne contient un mot-clé par exemple. Les conditions peuvent être groupées avec des "ET" et des "OU" afin de garantir une adaptabilité au plus de cas possibles. Les règles sont appliquées sur l'ensemble des variations nucléotidiques de l'analyse, ce qui permet de calculer in fine un score, qui sera propre à chaque Généticien et qui sera associé à chaque variation nucléotidique.

L'analyse se poursuit à l'aide d'un logiciel de type tableur (excel, calc...) afin de trier les variants en fonction du score.

Cet outil a été testé sur une cohorte rétrospective de 130 exomes et a permis de faire ressortir de façon rapide les variations pathogènes. Les variations pathogènes de notre cohorte ressortent dans 89% des cas parmi les 3 premières variations et dans 100% des cas parmi les 15 premières. Il permet de limiter le nombre de variations à analyser de façon importante, en moyenne 50 par exome. Il est utilisé en routine dans l'analyse d'exomes et de grand panels dans notre laboratoire de diagnostic.

#19843 : Diagnostic moléculaire différentiel du déficit en GLUT1 (gène SLC2A1) et syndrome clinique apparenté à l'aide d'un panel de 11 gènes et recherche de nouveaux gènes candidats par exome en trio.**Auteurs :**

Sandrine VUILLAUMIER BARROT (1, 2), Sylvie Alglave (3), Malika Chelbi (3), Céline Bouchet-Seraphin (4, 3), Nathalie Seta (4), Catherine BOILEAU (5)

1. Biochimie et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, PARIS, France
2. INSERM U1149 CRB3, Université Denis Diderot, Paris 7, PARIS, France
3. Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, PARIS, France
4. Biochimie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, PARIS, France
5. Génétique, Hôpital bichat Claude Bernard, PARIS, France

Mots clefs : GLUT1, épilepsie, ataxie épisodique, dyskinésies, hypoglycorrachie

Résumé :

Le syndrome de déficit en transporteur du glucose de type 1 (GLUT-1, OMIM 606777), décrit en 1991 par De Vivo, de transmission autosomique dominante, est lié à un défaut de transport du glucose au niveau de la barrière hémato-encéphalique, et peut être traité par un régime cétogène. Il se manifeste par une encéphalopathie comportant une épilepsie pharmaco résistante et sensible au jeûne, une microcéphalie acquise, un retard du développement psychomoteur, une ataxie intermittente et des mouvements anormaux paroxystiques. Le diagnostic, orienté par la clinique et une hypoglycorrachie (rapport glycorachie/glycémie < 0,5), repose sur la mise en évidence d'une mutation hétérozygote sur le gène *SLC2A1*, le plus souvent de novo et récemment par un test d'expression de GLUT1 à la surface des globules rouges (METAgut1) en faveur. Cependant un diagnostic différentiel se pose avec d'autres gènes de dyskinésies et d'épilepsie précoce qui peuvent se présenter également avec une hypoglycorrachie.

Nous réalisons le diagnostic moléculaire en NGS depuis Juin 2017 avec un panel de 8 gènes puis depuis janvier 2019, un panel de 11 gènes comprenant en plus du gène *SLC2A1*: 3 gènes d'épilepsie infantile précoce les plus fréquents *SCN1A*, *KCNQ2* et *SCN2A*; 3 gènes d'épilepsie, d'ataxie épisodique et hémiplégie alternante infantile: *CACNA1A*, *ATP1A3* et *KCNA1*, 2 gènes de dyskinésies : *ADCY5* et *PRRT2* ; et enfin *PURA* gène récemment associé à une encéphalopathie épileptique avec hypoglycorrachie et qui aurait un rôle de régulation d'expression de GLUT1 ; ainsi qu'un autre gène de transporteur du glucose cérébral *SLC45A1* qui a été associé à un déficit intellectuel en transmission AR.

Ce panel réalisé sur 170 patients a permis d'identifier 9 *SLC2A1*, 4 *SCN2A*, 5 *CACNA1A*, 4 *ATP1A3* et 1 *PURA* sous réserve d'étude de ségrégation en faveur du variant hétérozygote identifié dans 5 cas.

Les cas de patients avec hypoglycorrachie non mutés sur ces gènes pourraient être dus à un défaut réversible transitoire du transport de glucose ou à d'autres causes non identifiées mais acquises comme infectieuses, traumatiques, certains médicaments ou bien une autre anomalie génétique tels que des gènes modulant l'expression de GLUT1 ainsi que d'autres canaux ioniques ou transporteurs. Un exome en trio réalisé pour un enfant ayant une épilepsie ayant démarré à J2, traitée par régime cétogène et dont la ponction lombaire a montré une hypoglycorrachie ; a permis d'identifier un état d'hétérozygote composite de 2 variants faux sens donnés pathogènes sur le gène *AP4B1*. Ce gène a un rôle dans le trafic vésiculaire et l'adressage des protéines à la membrane et est déjà connu mais avec des mutations tronquantes pour donner un déficit intellectuel et une paraplégie spastique. Chez les souris Ko AP4B, il a été montré que certains récepteurs étaient mal exprimés à la membrane des neurones. Ce gène sera ajouté au prochain design afin d'identifier d'éventuels autres cas d'épilepsie liée à ce gène.

#19981 : Apport de la cytogénétique dans les LAL-B de l'enfant.**Auteurs :**

oumaima Benlarroubia (1), hasna hamdaoui (2), Fatima Chegdani (3), Hind Dehbi (4)

1. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital Cheikh Khalifa, casablanca, Maroc
2. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital cheikh khalifa, faculté des sciences Ain Chock, université Hassan II , Casablanca, casablanca, Maroc
3. Faculté des sciences , Ain chock, Université Hassan II, Casablanca , Maroc
4. Laboratoire de Génétique Médical, CHU Ibnou Rochd Casablanca , Laboratoire de pathologie cytologie moléculaire, faculté de médecine et de pharmacie, université hassan II, Casablanca , Maroc

Mots clefs : cytogénétique, cytogénétique moléculaire, leucémie aiguë lymphoblastique

Résumé :**Introduction :**

Les leucémies aiguës lymphoblastiques de type B (LAL-B) sont caractérisées par la présence au niveau de la moelle et du sang, de cellules immatures appelées blastes lymphoïdes. Elles sont plus fréquentes chez l'enfant : 75% des cas rapportés surviennent chez des patients de moins de 18 ans avec un pic de fréquence entre 2 et 5 ans. Les anomalies chromosomiques ont une valeur diagnostique, pronostique et sont un élément décision thérapeutique important indépendamment de l'ensemble des autres examens biologiques et cliniques. La technique de cytogénétique conventionnelle à elle seule ne permet pas de détecter l'ensemble des anomalies chromosomiques plus particulièrement les remaniements et les translocations cryptiques dont la translocation t (12;21) responsable du transcrite de fusion ETV6-RUNX1, observée dans 25% des LAL-B de l'enfant.

Méthode :

Nous rapportons dans cette série, une étude prospective, de juin 2016 à décembre 2018, intéressant 50 enfants adressés au service de cytogénétique au laboratoire national de référence pour étude cytogénétique. Le caryotype sur moelle a été réalisé avec une culture de 17h, complété dans certains cas par l'hybridation in situ par fluorescence (FISH) à la recherche du réarrangement MLL et la translocation t (12;21)(p13;q22).

Résultat :

L'âge de la cohorte de notre série variait de 1 an à 18 ans avec une médiane d'âge de 7 ans. Le caryotype standard a été réalisé chez 41 patients dont 27 (66%) ont révélés la présence des anomalies chromosomiques. Les 9 autres caryotypes ont été réalisés ailleurs, et ont bénéficiés seulement de la FISH.

L'hyperdiploïdie est l'anomalie la plus fréquente retrouvée chez 8 cas, tandis que l'hypodiploïdie a été retrouvée chez un seul cas. Pour les anomalies de structure, la translocation t (12;21)(p13;q22) est la plus fréquente retrouvée chez 6 enfants, 3 ont été visible par caryotype standard et confirmée par FISH, tandis que 3 autres cas ont été révélés seulement par FISH. En outre, d'autres anomalies chromosomiques ont été décelées telle que la translocation t (9;22)(q34;q11.2) chez 2 enfants, la translocation t (1;19)(q23;p13) chez 2 enfants, et la délétion du chromosome 6 del(6)(q16q23) chez un enfant. Cependant, les résultats de la recherche du réarrangement MLL s'est avéré négatifs.

Conclusion :

La cytogénétique a une place importante dans le diagnostic des LAL-B de l'enfant. Le caryotype standard permet de détecter les anomalies chromosomiques les plus fréquentes, cependant il doit être complété par FISH afin de détecter les aberrations cryptiques. La translocation t (12;21), et le réarrangement du MLL doivent être réalisées systématiquement car elles ont un pronostic considérable.

Pièce jointe : LAL-B assise genetique 2020.docx

#20095 : Anomalies génétiques au sein d'une cohorte Réunionnaise de patients porteurs de Troubles du Spectre de l'Alcoolisation Fœtale (TSAF) - Importance du bilan génétique**Auteurs :**

Valérie THIAW-NIAM (1), Michel SPODENKIEWICZ (2, 3), Stéphanie ROBIN (4, 5), Justine LANNEAUX (6, 7), Augustin ROUSSELLE (8, 9), Marylin TALLOT (8, 9), Marie-Line JACQUEMONT (10), Frédérique PAYET (11), Camille LEROY (12), Odile RAOUL (12), Serge ROMANA (12), Valérie BIANCALANA (13), Bénédicte GERARD (13), Bérénice DORAY (11, 14)

1. Service de Génétique, CHU La Réunion, Saint-Denis, Réunion
2. Pôle de Santé Mentale, CHU de La Réunion, SAINT-PIERRE, Réunion
3. CIC-EC 1410, CHU de La Réunion, SAINT-PIERRE, Réunion
4. Centre de Diagnostic SAF/ETCAF, CHU de La Réunion, Saint-Denis, Réunion
5. Service de Pédiatrie, CHU de La Réunion, Saint Denis, Réunion
6. Centre de Diagnostic SAF/ETCAF, CHU de La Réunion, SAINT-DENIS, Réunion
7. Service de Pédiatrie, CHU de La Réunion, SAINT-DENIS, Réunion
8. Centre de Diagnostic SAF/ETCAF, CHU de La Réunion, SAINT-PIERRE, Réunion
9. Service de Pédiatrie, CHU de La Réunion, SAINT-PIERRE, Réunion
10. Centre de Références Anomalies du Développement - UF de Génétique, CHU de La Réunion, SAINT-PIERRE, Réunion
11. Centre de Références Anomalies du Développement - Service de Génétique, CHU de La Réunion, SAINT-DENIS, Réunion
12. Service de Cytogénétique, Groupe Hospitalier Necker-Enfants Malades, PARIS, France
13. Service de Diagnostic Génétique, CHRU Strasbourg, STRASBOURG, France
14. Centre Ressources ETCAF, Fondation Père Favron - CHU de La Réunion, SAINT-PIERRE, Réunion

Mots clefs : TSAF ,La Réunion, Génétique

Résumé :**Problématique**

Concernant 1 naissance sur 100, les Troubles du Spectre d'Alcoolisation Fœtale (TSAF) représentent la cause la plus fréquente de troubles neurocognitifs et d'inadaptation sociale. Etablir un diagnostic de TSAF peut s'avérer difficile, en particulier si la dysmorphie est atténuée ou absente ou l'exposition prénatale à l'alcool non confirmée ; il n'est pas toujours aisé de distinguer un TSAF d'une autre cause de troubles développementaux, notamment chromosomique. Par ailleurs, la littérature scientifique fait état de patients atteints de TSAF et porteurs de microremaniements chromosomiques. L'objectif de cette étude est d'évaluer la fréquence des anomalies chromosomiques chez des patients avec TSAF.

Patients et Méthodes

Une ACPA a été réalisée chez 100 patients avec un TSAF établi suite au bilan spécialisé réalisé au Centre Diagnostic du CHU. Seuls les microremaniements confirmés et considérés comme pathogènes ont été retenus.

Résultats

2 patients porteurs d'une anomalie des chromosomes sexuels (monosomie X et syndrome XXY en mosaïque) ainsi que 13 patients avec 10 microremaniements différents ont été identifiés. Certains remaniements récurrents, associés aux troubles neuro-développementaux, sont identifiés à la fois dans la littérature et dans notre cohorte (loci 3q29, 15q13.3, 16p11.2). La mise en évidence d'une anomalie génétique associée peut rendre compte d'une majoration du phénotype 1- sur le plan cognitivo-comportemental en particulier dans les cas de duplication 15q11.3 et délétion 16p11.2, considérés comme des variants prédisposant aux troubles neuro-psychiatriques, 2 - sur le plan physique : par exemple la présence d'une monosomie X majeure chez nos patientes le retard de croissance, et peut conduire à l'apparition d'une malformation notamment cardiaque ou aggraver ses conséquences ; l'anomalie génétique peut également modifier le phénotype, rendant plus difficile l'appréciation de la dysmorphie du SAF.

Conclusion

Cette étude est la première étude Française au sein d'une cohorte importante. Avec une proportion d'anomalies génétiques similaire à celles rapportées dans la littérature (15%), elle confirme l'importance de compléter à titre systématique les explorations réalisées lors du bilan d'un TSAF par un bilan génétique tant clinique que biologique.

Ce bilan est fondamental afin 1 - de mieux disséquer les interactions entre patrimoine génétique et produit tératogène neurotoxique, 2 - de proposer un bilan malformatif et un suivi appropriés ainsi qu'une prévention tertiaire optimale associant information vis-à-vis de la consommation d'alcool et conseil génétique de l'anomalie génétique.

De façon générale, cette étude vient conforter le plaidoyer d'une approche globale et multidisciplinaire des troubles du développement embryonnaire, avec sur le plan étiologique la recherche tant de facteurs environnementaux, tels les tératogènes évitables comme l'alcool, que de vulnérabilités intrinsèques, en particulier génétiquement déterminées.

#19975 : Les variations faux sens hétérozygotes de novo entraînant une perte de fonction de KCNMA1 sont responsables d'un syndrome clinique au spectre large incluant trouble neurodéveloppemental et malformations

Auteurs :

Lina Liang (1), Xia Li (1), Sébastien Moutton (2, 3), Samantha Schrier Vergano (4), Benjamin Cogne (5), Anne De Saint Martin (6), Anna Hurst (7), Yushuang Hu (1), Olaf Bodamer (8, 9), Julien Thevenon (3, 2), Christina Hung (8), Bertrand Isidor (5), Bénédicte Gérard (10), Adelaïde Rega (11), Sophie Nambot (2, 3), Daphne Lehalle (2, 3), Yannis Duffourd (12), Christel Thauvin-Robinet (13, 12), Laurence Faivre (13, 12), Stéphane Bézieau (5), Leon Dure (14), Daniel Helbling (15), David Bick (15), Chengqi Xu (1), Qiuyun Chen (16, 17), Grazia Mancini (18), Antonio Vitobello (12), Qing Kenneth Wang (1, 19)

1. Key Laboratory of Molecular Biophysics of the Ministry of Education, College of Life Science and Technology, Center for Human Genome Research, Cardio-X Institute, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Chine
2. Centre de référence des anomalies du développement, Service de génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France
3. INSERM U1231, LNC UMR1231 GAD, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
4. Medical Genetics and Metabolism, Children's Hospital of The King's Daughters, Eastern Virginia Medical School, Norfolk, Etats-Unis
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
6. Neuropédiatrie, Centre de Référence des Epilepsies Rares, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Department of Genetics, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Etats-Unis
8. Division of Genetics and Genomics, Boston Children's Hospital/Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
9. The Broad Institute of Harvard and MIT, The Broad Institute of Harvard and MIT, Boston, Etats-Unis
10. Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Laboratoires de Diagnostic Génétique, Unité de Génétique Moléculaire, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
11. Département de Radiologie et Imagerie Diagnostique et Thérapeutique, CHU Dijon, Dijon, France
12. INSERM U1231, LNC UMR1231 GAD, Université de Bourgogne, Dijon, France
13. Service de génétique médicale, centre de référence des anomalies du développement, CHU de Dijon, Dijon, France
14. Department of Pediatrics and Neurology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Etats-Unis
15. Clinical Services Laboratory, Hudson Alpha Institute for Biotechnology, Huntsville, Etats-Unis
16. Department of Cardiovascular and Metabolic Sciences, Lerner Research Institute, Department of Cardiovascular Medicine, Cleveland Clinic, Cleveland, Etats-Unis
17. Department of Molecular Medicine, Cleveland Clinic Lerner College of Medicine of Case Western Reserve University, Cleveland, Etats-Unis
18. Department of Clinical Genetics, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas
19. Department of Genetics and Genome Science, Case Western Reserve University School of Medicine, Cleveland, Etats-Unis

Mots clefs : KCNMA1, canal BK, encéphalopathie épileptique, déficience intellectuelle, épilepsie, malformations, exome, partage international des données, variation perte de fonction, électrophysiologie

Résumé :

Le gene *KCNMA1* code pour la sous-unité α de la protéine BK, un canal K^+ voltage- et Ca^{2+} -dépendant dont les variants gain de fonction ont été décrits comme responsables d'une forme d'épilepsie généralisée avec dyskinésie paroxystique de transmission autosomique dominante.

Nous rapportons 8 nouveaux variants pathogènes ayant un effet perte de fonction, identifiés chez 7 patients par séquençage de génome ou d'exome et partage international de données via la plateforme Matchmaker Exchange. Les tests fonctionnels de type patch-clamp ont été menés sur cellules HEK293T transfectées avec des plasmides obtenus par mutagenèse dirigée pour évaluer les conséquences des variants.

Sur le plan clinique, les patients porteurs du variant récurrent *de novo* p.(Gly375Arg) étaient atteints d'un syndrome polymalformatif particulier comprenant un retard neurodéveloppemental marqué, des malformations cardiaques et viscérales, une atteinte du tissu conjonctif incluant une dilatation de l'aorte, une dysplasie osseuse probablement en lien avec l'hypertrophie gingivale progressive, des épisodes de pseudo-obstruction intestinale et des signes morphologiques particuliers. Les autres patients de la cohorte présentaient une déficience intellectuelle, une ataxie, une hypotonie axiale et une atrophie cérébelleuse. Les tests électrophysiologiques ont montré que les variants p.(Ser351Tyr), p.(Gly356Arg), p.(Gly375Arg), p.(Asn449fs) et p.(Ile663Val) abolissaient le courant du canal BK alors que les variants p.(Cys413Tyr) et p.(Pro805Leu) le réduisaient et entraînaient un décalage des seuils d'activation au voltage vers des valeurs supérieures ; le variant p.(Asp984Asn) diminue l'amplitude du courant sans altérer la cinétique d'activation-désactivation du canal.

Ainsi, les variants perte de fonction de *KCNMA1* sont responsables d'une anomalie du développement avec déficience intellectuelle avec parfois un spectre large de malformations.

Pièce jointe : Assises 2020 KCNMA1 résumé Moutton.docx

#20305 : Une nouvelle mutation du gène TSC2 Chez une patiente Tunisienne atteinte de la STB

Auteurs :

Mayssa Abdelwahed (1), Touraine Renaud (2), Ben Rhouma Bochra (1), Dhieb Dhoha (1), Mars Manel (3), Kammoun Khawla (3), Hachicha Jamil (3), Triki Chahnez (4), Kamoun Hassen (5), Ammar-Keskes Leila (6), Belghith Neila (6, 5)

1. , faculté de médecine e sfax, sfax, Tunisie

2. Service de Génétique, Centre de référence pour la Sclérose Tubéreuse de Bourneville, Hôpital Saint Etienne, France, Service de Génétique, Centre de référence pour la Sclérose Tubéreuse de Bourneville, Hôpital Saint Etienne, France, saint etienne, France

3. Unités de Pathologie Rénale, UR12ES14, Service de Néphrologie, CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisie, Unités de Pathologie Rénale, UR12ES14, Service de Néphrologie, CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisie, sfax, Tunisie

4. Service de Neurologie, CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisie., Service de Neurologie, CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisie., sfax, Tunisie

5. Services de Génétique Médicale, CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisie. , Services de Génétique Médicale, CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisie. , sfax, Tunisie

6. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax, Tunisie, faculté de médecine e sfax, sfax, Tunisie

Mots clefs : La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB/TSC), Nouvelle mutation d'épissage, Gène TSC2, Analyse d'ARNm.

Résumé :

La Sclérose Tubéreuse de Bourneville (STB/TSC) (TSC [OMIM 191090]) est une maladie génétique multisystémique caractérisée par le développement de tumeurs bénignes (hamartomes) dans divers tissus et organes tels que le cerveau, la peau, les reins, le cœur, les poumons, le foie, les os et les yeux. Elle est due à un dysfonctionnement du complexe suppresseur des tumeurs. Ce complexe est formé par les gènes *TSC1* (23 exons) et *TSC2* (42 exons) qui codent pour les protéines : Hamartine et Tubérine, respectivement. Notre étude a porté sur une patiente tunisienne (un cas sporadique) présentant des signes cliniques évocateurs de la STB. A la recherche de l'anomalie génétique, nous avons entamé le séquençage du deuxième gène candidat (le gène *TSC2*) en utilisant une PCR suivie d'un séquençage direct. Le choix du séquençage du gène *TSC2* s'est basé sur le fait que les mutations décrites sont trouvées chez des cas sporadiques de la STB. De plus, les patients ayant des mutations au niveau du gène *TSC2* présentent des manifestations cliniques identiques aux celles présentées par notre patiente (des macules hypomélaniques, des troubles d'apprentissage et des signes neurologiques). L'analyse mutationnelle a permis de détecter une nouvelle mutation c.1444-2A > T au niveau de l'intron 14. Afin de déterminer l'impact de cette mutation sur le processus d'épissage, nous avons entamé une étude sur des ARNm extraits de la patiente et d'un témoin. Une RT-PCR suivie d'un séquençage directe a révélé que la mutation c.1444-2A > T génère deux Transcrits aberrants. Le premier, avec un saut de l'exon 15, est responsable de la perte de 52 acides aminés, ce qui entraîne la production d'un isoforme protéique aberrant. Le second, avec une inclusion de 122 nucléotides de l'intron 14, est responsable de la création d'un nouveau codon de terminaison prématurée (TGA), qui entraîne la production d'une protéine TSC2 tronquée. Cette étude a permis de relever les caractéristiques cliniques d'une patiente tunisienne atteinte de la sclérose tubéreuse de Bourneville et de mettre en évidence une nouvelle mutation d'épissage c.1444-2A > T dans l'intron 14 du gène *TSC2*. Ces résultats peuvent être utilisés dans le diagnostic clinique et dans l'évaluation des donneurs sains des reins.

Pièce jointe : La Sclérose Tubéreuse de Bourneville (2).docx

#19899 : Hamartomes multiples du système nerveux dus à une altération de PTEN en mosaïque survenue dans la crête neurale au cours de l'embryogenèse**Auteurs :**

Alice Goldenberg (1), Florent Marguet (2), Vianney Gilard (3), Aude-Marie Cardine (4), Adnan Hassani (5), François Doz (6, 7), Sophie Radi (8), Stephanie Vasseur (1), Jacqueline Bou (1), Maud Branchaud (9), Claude Houdayer (1), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Annie Laquerriere (2), Thierry Frebourg (1)

1. Département de Génétique et Inserm U1245, UNIROUEN, CHU de Rouen et Inserm, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Département de Pathologie, CHU de Rouen, Rouen, France
3. Département de Neurochirurgie, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Département de Oncologie Pédiatrique, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Département d'Imagerie, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Centre d'Oncology Center SIREDO, Institut Curie, Rouen, France
7. , Université Paris Descartes, Paris, France
8. , Equipe d'Accompagnement et de Diagnostic du Développement de l'enfant, Mont Saint-Aignan, France
9. Département de Génétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France

Mots clefs : PTEN, mosaïcisme, hamartome, crête neurale

Résumé :

La contribution des altérations en mosaïque dans la genèse des tumeurs du système nerveux et des maladies neurologiques non tumorales est progressivement démasquée par le séquençage de nouvelle génération (NGS) réalisé à haute profondeur. Nous rapportons ici le cas d'un jeune enfant, sans antécédent familial remarquable que nous avons vu initialement à l'âge de 7 ans pour un trouble du spectre autistique de type Asperger, sans macrocéphalie associée et qui a présenté à 10 ans une boiterie avec asymétrie motrice. L'IRM révèle alors des lésions nodulaires multiples du système nerveux au niveau de L3 et du trajet des nerfs crâniens, localisées dans le sinus caverneux gauche, les angles ponto-cérébelleux bilatéraux, le méat acoustique interne et le pédoncule cérébral droit. L'examen anatomopathologique de la lésion située en L3 a montré qu'il s'agit d'un hamartome glioneuronal, avec un marquage immuno-histochimique PTEN hétérogène, positif dans les cellules astrocytaires et endothéliales, et négatif dans les neurones. L'analyse par NGS de l'hamartome a révélé dans 30 % des séquences une variation délétère dans l'exon 8 du gène *PTEN* (c.970dup; p.(Asp324Glyfs*3). Le marquage hétérogène et le pourcentage d'allèles mutants inférieur à 50% ont suggéré l'existence d'une altération de *PTEN* en mosaïque. L'analyse par NGS ainsi que l'analyse ciblée par PCR et QMPSF ciblée de l'exon 8 de *PTEN* ont effectivement retrouvé le variant de *PTEN* dans 3 et 12 % de l'ADN extrait du sang périphérique et de frottis jugal, respectivement, confirmant l'existence d'une mosaïque. La distribution anatomique des lésions et le maintien de l'expression de la protéine PTEN dans les cellules gliales ont indiqué que l'événement mutationnel touchant *PTEN* est survenu probablement, entre le 18 et le 21^{ème} jour dans un progéniteur de la crête neurale, déjà engagé dans la différenciation neuronale. Ce résultat explique l'absence de macrocéphalie classiquement observée dans la maladie de Cowden. Cette observation montre qu'une altération de *PTEN* en mosaïque peut provoquer de multiples hamartomes du système nerveux central et périphérique et que la présence de telles altérations doit être envisagée chez les patients présentant des lésions nodulaires multiples nerveux, même en l'absence de signe cardinaux évocateurs d'une variation constitutionnelle de *PTEN*, en particulier la macrocéphalie.

#20404 : Etude d'association du variant MTHFR C677T et le risque de glioblastome

Auteurs :

Hossam Hilal El Idrissi (1), Oum Kaltoum Ait Boujmia (2), Bouchaïb Gazzaz (3), Mehdi Karkouri (4), Hind Dehbi (1, 5)

1. Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc, CASABLANCA, Maroc
2. Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca-Maroc, CASABLANCA, Maroc
3. Institut d'analyse Génétique, Gendarmerie Royale, Rabat, Maroc
4. Laboratoire d'Anatomopathologie, CHU Ibn Rochd, CASABLANCA, Maroc
5. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd,, CASABLANCA, Maroc

Mots clefs : MTHFR, C677T, Glioblastoma, PCR-RFLP, Polymorphism.

Résumé :

Glioblastoma is the most aggressive malignant type of astrocytoma's tumors. Researches related risk of cancer to certain genes, such *MTHFR*. The *MTHFR* is an enzyme that plays vital role in metabolism of folate. Many polymorphisms of this gene have been studied, the C677T is the most studied and It have been known to be associated with the risk of diverse cancer. The objective is to study the association between *MTHFR* C677T polymorphism and the risk of glioblastoma.

In this case control study, the genotypes were detected using polymorphism chain reaction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) in 55 patients (Biopsies) and 101 controls that matched for age, gender. We found a distribution of C677T genotypes in Glioblastoma patients of CC 43.6% , CT 43.6%, TT 12.7% and the A allele frequency was higher in cases (12.7%) than in the controls (2.9%) ($p=0.073$; Odds ratio=1.58; 95% confidence interval CI=0.955-2.62) . the *MTHFR* 677 TT genotype was significantly highly associated with increased risk of glioblastoma (OR=5.463, CI = 1.346-22.179, $p= 0.0144$). However, no significant results of the *MTHFR* C677T polymorphism with localizations and gender were found.

Pièce jointe : MTHFR Glioblastoma.docx

#19995 : Isochromosome Xq et syndrome de Turner (à propos de deux cas et revue de littérature)

Auteurs :

Fatima Zahra OUTTALEB (1), Fatima Zahra OUTTALEB (1), Nadia SERBATI (1), Ghizlane JABRANE (1), Hind DEHBI (2)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Génétique Médicale, Laboratoire de Pathologie cellulaire et Moléculaire, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Université Hassan II, Casablanca, Maroc

Mots clefs : Syndrome de Turner, mosaïque, isochromosome, retard statural, aménorrhée primaire

Résumé :

Introduction :

Le syndrome de Turner est une anomalie chromosomique, liée à l'absence totale ou partielle du chromosome X. Sa prévalence est de 1/2500 nouveau-nés de sexe féminin. Il associe de manière constante un retard statural et une insuffisance ovarienne avec risque accru de malformations diverses.

Les objectifs de cette étude sont de montrer l'importance de l'étude cytogénétique dans la prise en charge des patientes présentant un retard statural et/ou une aménorrhée primaire, et de rechercher une éventuelle corrélation entre les anomalies cytogénétiques et l'expression clinique du syndrome de Turner.

Patientes et méthodes :

C'est une étude descriptive transversale réalisée sur une période de 5 ans, allant d'octobre 2014 à juillet 2019. L'étude a concerné les patientes suivies au service de génétique médicale du CHU Ibn Rochd de Casablanca, et présentant des anomalies évoquant un syndrome de Turner, confirmé par étude cytogénétique.

Résultats et discussion :

Sur les 50 patientes présentant des signes cliniques évoquant un syndrome de Turner, 10 cas ont été confirmés par étude cytogénétique. Parmi ces patientes, deux présentaient un syndrome de Turner avec caryotype en mosaïque de type isochromosome du bras long et monosomie du chromosome X.

Dans les deux cas rapportés, le retard statural et l'aménorrhée primaire étaient les indications à la réalisation du caryotype constitutionnel.

Ils existent d'autres circonstances de découverte du syndrome de Turner ; en prénatal sur des signes échographiques comme le retard de croissance intra-utérin, en néonatal devant un pterygium colli ou un lymphœdème, et à l'âge adulte devant une infertilité primaire.

Le caryotype typique du syndrome de Turner est caractérisé par une monosomie X (45,X), mais ce caryotype homogène n'est pas le plus fréquent ; il ne représente que 42 à 48% des anomalies chromosomiques décrites. La fréquence des anomalies de structure retrouvées dans la littérature est de 20 à 25 %, alors que le caryotype en mosaïque est responsable de 25% des cas.

Après confirmation cytogénétique du syndrome de Turner, un bilan malformatif doit être réalisé, à la recherche des malformations associées, essentiellement la coarctation de l'aorte, qui peut s'associer à une hypertension artérielle ou une insuffisance cardiaque gauche en période périnatale. Le conseil génétique est également nécessaire.

Pièce jointe : 4A TURNER.docx

#19956 : SLC12A2, gène candidat impliqué dans les surdités dominantes avec aréflexie vestibulaire**Auteurs :**

Luke Mansard (1), Valérie Faugère (1), Christel Vaché (1), David Baux (1), Alisdair McNeill (2, 3), Catherine Blanchet (4), Marjolaine Willems (5), Mélody Moclyn (1), Corinne Baudoin (1), Michel Koenig (1), Anne-Françoise Roux (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Centre Hospitalo-Universitaire de Montpellier, Montpellier, France
2. Sheffield Clinical Genetics Service, Sheffield Children's Hospital NHS Foundation Trust, Sheffield, Royaume Uni
3. Department of Neuroscience, University of Sheffield, Sheffield, Royaume Uni
4. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie, Centre Hospitalo-Universitaire de Montpellier, Montpelleir, France
5. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalo-Universitaire de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : surdité, aréflexie vestibulaire, SLC12A2, exome

Résumé :

La surdité touche en moyenne 1 enfant sur 600 naissances, faisant du déficit auditif l'atteinte neurosensorielle la plus fréquente. On estime que dans les pays occidentaux, la moitié des cas ont une origine génétique. Aujourd'hui, plus de 150 gènes impliqués dans les surdités isolées ou syndromiques peuvent être analysés dans le cadre du diagnostic moléculaire.

Pour certaines familles, malgré une origine génétique évidente, l'analyse de ces gènes ne permet pas d'identifier le génotype pathogène impliqué dans leur surdité et d'autres approches doivent être alors envisagées.

Nous présentons ici une famille dans laquelle une surdité congénitale profonde associée à une aréflexie vestibulaire ségrège chez un père et son fils, et pour laquelle l'analyse d'un panel de 74 gènes n'avait pas permis d'identifier de variant pathogène.

Afin d'élargir notre étude à d'autres gènes, l'enfant et ses parents ont été séquencés en analyse d'exome (*SeqCap EZ Exome Probes v3.0 - Roche Sequencing*). L'analyse des variants rares présents à la fois chez le père et le fils a ainsi permis de relever une altération faux-sens dans le gène *SLC12A2* (Solute Carrier Family 12 Member 2) qui code pour le cotransporteur $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ NKCC₁.

Ce gène a retenu notre attention car il a été décrit comme pouvant être responsable d'une surdité associée à des troubles vestibulaires dans plusieurs lignées de souris, concordant avec le phénotype de nos patients. De plus, chez l'homme une ototoxicité liée à la prise de diurétiques de l'anse via NKCC1 est déjà connue.

L'altération identifiée dans cette étude, c.2935C > A n'a jamais été rapportée dans les bases de données. Celle-ci est à l'origine d'une substitution Acide Glutamique/ Lysine en position 979 qui introduit une charge positive dans un environnement chargé négativement à proximité d'un motif di-leucine impliqué dans le transport de NKCC1 à la membrane plasmique.

Ces éléments, en faveur d'une implication du gène et de la pathogénicité du variant c.2935C > A- p.Glu979Lys ont été renforcés grâce à l'identification via GeneMatcher d'un nouveau patient présentant le même phénotype et porteur d'une substitution Acide Glutamique/ Lysine en position 980.

L'ensemble de ces résultats permet de proposer le gène *SLC12A2* comme nouveau gène candidat impliqué dans les pathologies cochléovestibulaires de transmission dominante.

Pièce jointe : SLC12A2_Assises2019.docx

#20478 : Détection fortuite de nouveaux variants structuraux de l'hémoglobine A2 au cours du dosage de l'hémoglobine A1c par Capillars 2 Flex piercing.

Auteurs :

Malek Dabboussi (1, 2), Chaima Kasmi (1, 3), Rahma Mahjoub (1, 4), Sondes Hadj-Fredj (5, 6), Yassine Amri (5, 6), Manel Zouaoui (1, 6), Amal Guesmi (1, 6), Sabrine Oueslati (1, 6), Chiraz Amrouche (7, 8), Henda Jammoussi (9, 8), Taieb Messaoud (5, 4), Feyka Ben Mami (9, 8), Ines Kammoun (10, 8), Amina Bibi (1, 4)

1. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéinémies, diabète et hormones., Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire, Tunis, Tunisie
2. , Faculté des sciences de Tunis - Université de Tunis El Manar , Tunis, Tunisie
3. , Faculté des sciences de Bizerte-Université de Carthage -Bizerte-Tunisie., Bizerte, Tunisie
4. , Faculté de Pharmacie de Monastir - Université de Monastir - Tunisie., Tunis, Tunisie
5. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire - Laboratoire de recherche LR00SP03 , Hôpital d'enfants Béchir Hamza -Tunis - Tunisie, Tunis, Tunisie
6. , Faculté des sciences de Tunis - Université de Tunis El Manar - Tunis - Tunisie., Tunis, Tunisie
7. Service des consultations externes, Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire -Tunis- Tunisie., Tunis, Tunisie
8. , Faculté de médecine de Tunis - Université de Tunis El Manar - Tunis - Tunisie, Tunis, Tunisie
9. Département des maladies de la nutrition A , Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire, Tunis, Tunisie
10. Département d'endocrinologie B, Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Hémoglobine A2, variants structuraux, gène delta globine, séquençage direct.

Résumé :

Les hémoglobinopathies sont les affections génétiques du globule rouge les plus répandues dans le monde. Elles sont liées principalement à un défaut de synthèse de l'hémoglobine (Hb). On distingue deux types d'anomalies : anomalies quantitatives ou thalassémies et anomalies qualitatives responsables de la synthèse de variants structuraux de l'Hb.

Le diagnostic de ces anomalies repose essentiellement sur l'analyse des données de l'hémogramme, le dosage du fer sérique et de la ferritine ainsi que la quantification des fractions de l'hémoglobine par des techniques séparatives. Parmi ces fractions l'HbA2 revêt une importance considérable dans le diagnostic des hémoglobinopathies. L'HbA2 s'exprime à l'état normal à des taux voisin de 2 à 3%. Sa diminution en-deçà de 2% peut être due à une carence martiale, une delta thalassémie voire même une alpha thalassémie. Dans le cas où elle se trouve dédoublée, une anomalie structurale est évoquée. L'étude moléculaire du gène delta permet de confirmer le diagnostic.

Notre objectif était de réaliser une étude moléculaire pour les patients ayant un dédoublement de l'HbA2 sans dédoublement de l'HbA afin d'identifier et de recenser les mutations du gène delta-globine dans notre pays.

Il s'agit d'une étude sur une cohorte de 22675 patients diabétiques suivis aux consultations externes de l'institut national de nutrition et de technologie alimentaire de Tunis, pour lesquels un dosage de l'HbA1c a été demandé durant la période entre le 1er février 2018 et le 31 juillet 2018. Le dosage de l'HbA1c et de l'HbA2 a été réalisé sur Capillars 2 Flex Piercing - Programme HbA1c. L'étude moléculaire a été réalisée par séquençage direct de l'ADN.

Parmi les 22 675 patients, 98 patients ont montré un dédoublement de l'HbA2 sans dédoublement de l'HbA. Le séquençage nous a permis d'identifier 5 variants structuraux de l'HBA2 dont un variant décrit pour la première fois dans le monde [c.122G > C (delta40 (C6) Arg > Thr)].

Trois autres variants sont décrits pour la première fois en Tunisie: le variant HBA2-North Africa[delta59 Lys à Met (AAG à ATG)], le variant HBA2-Babinga [delta136 (H14) Gly à Asp (GGT à GAT)] et le variant HBA2-Coburg [delta116 ArgàHis (CGC à CAC)].

Le variant HBB2 [delta16 (A13) Gly à Arg (GGC à CGC)] déjà décrit en Tunisie a été également retrouvé dans cette série.

Les variants structuraux décrits dans ce travail viennent certainement enrichir le spectre mutationnel du gène delta en Tunisie et fournir ainsi une assise génétique pouvant servir essentiellement dans les études d'association aux gènes bêta-thalassémiques. Une étude plus poussée des haplotypes chromosomiques associés aux mutations du gène delta permettrait d'étayer l'origine géographique de ces variants et de retracer l'histoire de migration des populations à travers leur patrimoine génétique.

Pièce jointe : Détection fortuite de nouveaux variants structuraux de l'hémoglobine A2 au cours du dosage de l'hémoglobine A1c par Capillars 2 Flex piercing. Dabboussi Malek.docx

#19996 : Maladie de Fabry : à propos d'un cas et revue de littérature

Auteurs :

Fatima Zahra OUTTALEB (1), Ghizlane JABRANE (1), Sara BERRADA (1), Nadia SERBATI (1), Hind DEHBI (2)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Casablanca, Maroc

2. Laboratoire de Génétique Médicale, Laboratoire de Pathologie cellulaire et Moléculaire. , CHU Ibn Rochd de Casablanca, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Université Hassan II, Casablanca, Maroc

Mots clefs : maladie de Fabry, acroparesthésies, maladie de de surcharge lysosomale, transmission récessive liée au chromosome X.

Résumé :

Introduction: La maladie de Fabry est une maladie héréditaire multisystémique de surcharge lysosomale, de transmission récessive liée au chromosome X, due à un déficit en alpha-galactosidase A lysosomale. L'intérêt de cette étude est d'analyser le profil clinique, para-clinique et évolutif de la maladie de Fabry.

Patient et méthodes : Nous rapportons l'observation d'un patient atteint de Fabry, et suivi depuis 2014 au niveau du CHU Ibn Rochd de Casablanca.

Résultats : C'est un patient âgé de 18 ans au moment du diagnostic, sans antécédents médico-chirurgicaux ou toxiques particuliers. Il a été hospitalisé en urgence au service de Médecine Interne pour des douleurs intenses des mains et des pieds d'installation brutale à type de brûlures et de picotements continus, résistants au traitement antalgique, et sans autres signes associés. Ces douleurs invalidantes ont ensuite spontanément régressé après un mois d'évolution. Le patient a présenté un an plus tard des douleurs abdominales aiguës et intenses. L'échographie abdominale a retrouvé un aspect d'appendicite aiguë, et il a bénéficié d'une appendicectomie, avec bonne évolution. Le diagnostic de maladie de Fabry a été retenu après avoir éliminé les autres étiologies de ce syndrome douloureux.

Les acroparesthésies au cours de la maladie de Fabry résultent probablement du dépôt de glycosphingolipides dans les petits vaisseaux qui irriguent les cellules nerveuses périphériques. Et les accès de douleurs abdominales ou des flancs au cours de cette maladie peuvent simuler une appendicite ou une colique néphrétique.

Le patient est actuellement suivi au service de Génétique Médicale pour confirmation diagnostique et pour conseil génétique. En effet, chez l'homme le diagnostic est confirmé par la mise en évidence d'une absence ou baisse de l'activité enzymatique de l'alphagalactosidase A, et chez la femme par la recherche d'une mutation du gène GLA.

Conclusion : L'accumulation de glycosphingolipides Gb3 (et son dérivé déacylé le lyso-Gb3) conduit à une insuffisance rénale terminale, une cardiomyopathie hypertrophique avec arythmie, des symptômes gastro-intestinaux et une atteinte cérébro-vasculaire, d'où l'intérêt du diagnostic précoce et du conseil génétique.

#20321 : Rôle de la protéine SETMAR dans les glioblastomes et cellules souches de glioblastomes

Auteurs :

Oriane Lié (1), Ilyess Zemmoura (1)

1. INSERM U1253 , CHRU Bretonneau , Tours, France

Mots clefs : glioblastomes, SETMAR, cellules souches cancéreuses

Résumé :

Les glioblastomes (GBMs) sont les gliomes les plus fréquents chez l'adulte et leur incidence augmente de 3% par an. Malheureusement, la survie moyenne d'un patient traité n'est aujourd'hui que de 14 mois. Cette courte survie s'explique par la haute résistance de ces tumeurs aux traitements actuels. Les GBMs étant des tumeurs très infiltrantes, des cellules souches de GBM (CSGs) peuvent subsister suite à la résection chirurgicale. Les CSGs, très résistantes à la radiothérapie, sont à l'origine des récives. Il est donc important d'identifier les mécanismes de la radorésistance des CSGs afin d'envisager des améliorations aux thérapies existantes.

SETMAR est une protéine multifonctionnelle, récemment découverte, impliquée dans de nombreux mécanismes associés à la plasticité du génome (réplication, réparation de l'ADN, etc...) et au cœur d'un vaste réseau épigénétique. Son rôle dans la résistance des cellules aux thérapies ionisantes a été documenté dans certains cancers (leucémies, cancers du sein). Notre équipe a montré dans des travaux précédents que la protéine SETMAR (FL-SETMAR) est surexprimée dans les GBMs et une isoforme plus courte de SETMAR (S-SETMAR), jusqu'alors inconnue, y a également été mise en évidence. Les deux isoformes de SETMAR ont des capacités différentes de modelage de la chromatine et de réparation de l'ADN, et leur expression évolue au cours de la biogénèse des GBMs¹. Notre hypothèse est que les deux isoformes de SETMAR jouent un rôle différent dans l'oncogénèse gliale et dans la réponse aux traitements. Afin de sonder le rôle de SETMAR dans l'oncogénèse gliale, nous avons quantifié les deux isoformes de la protéine dans les trois zones macroscopiques de GBMs issus de patients opérés au CHU de Tours. La protéine SETMAR, dans ses deux isoformes, est de plus en plus présente en s'enfonçant au cœur de la tumeur. Cela suggère un rôle précoce de SETMAR dans l'oncogénèse gliale. Par ailleurs, l'analyse des taux de protéine dans les GBMs d'une cohorte de patients aux profils de réponse aux traitements différents est en cours. Ces résultats, complétés par des analyses cellulaires, permettront de définir si SETMAR dans une de ses deux formes est un marqueur pronostique et/ou diagnostique du GBM.

¹ Dussaussois-Montagne et al., 2017. Oncotarget 8 : 14218

#19807 : Apport de la pcr digitale pour l'analyse des échantillons ffpe. Retour d'expérience.**Auteurs :**

Alexandra LESPAGNOL (1), Marie-Dominique GALIBERT (1, 2)

1. Service de Génétique Moléculaire et Genomique Médicale, CHU Rennes, Rennes, France
2. , Université de Rennes, CNRS UMR 6290 Institut de Génétique et Développement de Rennes, Rennes, France

Mots clefs : ffpe, diagnostic, tumeurs, dPCR, sensibilité

Résumé :

Les derniers changements comme la facturation des tests de diagnostic ou la mise en place d'automate a rendu rapide dans les laboratoires d'anatomopathologie nous poussent à revoir notre proposition de service. En effet le tout NGS, rend l'accès au diagnostic difficile pour certains établissements et c'est une perte de chance pour les patients. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'intérêt de la pcr digitale (dPCR) pour l'analyse d'échantillons ffpe et de positionner cette technique dans notre workflow.

Dans le cadre du diagnostic des tumeurs solides, nous avons évalué différents kits de la société ID Solution sur l'appareil Naica Geode (Stilla) afin d'analyser les mutations de l'EGFR pour l'analyse des cancers broncho-pulmonaires, les mutations KRAS et NRAS pour l'analyse des cancers colorectaux et les mutations BRAF pour l'analyse des mélanomes. Les résultats de dPCR ont été comparés aux résultats obtenus par la technique de référence du laboratoire : séquençage NGS par stratégie d'enrichissement par amplification multiplexe (panel design maison) utilisée jusqu'à présent pour le diagnostic de routine. Nous avons testé la sensibilité et la spécificité de cette technique et étudié l'impact de la qualité de l'ADN sur les résultats.

Au total, 108 analyses ont été réalisées (52 échantillons porteurs d'une mutation, 21 échantillons non mutés, 24 échantillons avec un pourcentage de cellules tumorales inférieur à 10% et 11 échantillons rendus « non contributif » par notre technique de routine). Considérant le NGS comme méthode de référence et pour les types de variants testés, nous obtenons une sensibilité 1,00 et une spécificité 0,98 par cette première approche de dPCR sur nos échantillons ffpe. La dPCR a permis de mettre en évidence une mutation de résistance T790M (AF 0,46%) non détecté par la technique de NGS confirmant ainsi la sensibilité de la dPCR. Sur des échantillons de moins bonne qualité et difficile à interpréter en NGS, l'approche dPCR combinant l'analyse de molécule unique et la sensibilité de détection, nous a permis de conclure sur l'absence de mutation en toute sécurité.

Cette expérience montre l'intérêt d'une telle approche dans notre laboratoire : rapidité d'analyse, sensibilité, spécificité et robustesse de la technologie face à la dégradation de certains échantillons. Avant de pouvoir utiliser cette technologie en routine, plusieurs points doivent encore être améliorés : 1) normaliser et limiter la quantité d'ADN 2) utiliser l'UNG (uracil n glycosylase) sur les échantillons ffpe pour limiter le « phénomène de pluie » et faciliter l'interprétation, 3) définir les mutations qui doivent être détectées pour éviter des erreurs de prise en charge thérapeutique La rapidité d'obtention du résultat nous permettrait d'enchaîner avec une technique de NGS plus large en cas d'absence de détection de mutation par la dPCR sans perte de chance pour le patient.

Pièce jointe : Lespagnol Alexandra dpcr.docx

#20419 : Nouveau phénotype congénital sévère lié à une mutation dominante dans le gène *WFS1* : à propos de 3 cas**Auteurs :**

Annabelle Chausseot (1, 2), Cécile Rouzier (1, 2), Catherine Vincent-Delorme (3), Marie-Noelle Bonnet-Dupeyron (4), Gaëlle Auge (1, 2), Véronique Paquis-Flucklinger (1, 2)

1. Département de génétique médicale, Centre de référence des maladies mitochondriales, CHU de Nice, Nice, France
2. Université Nice Sophia-Antipolis, CNRS UMR 7284, INSERM U1081, Institut de recherche sur le cancer et le vieillissement, Nice, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
4. Laboratoire de Biologie Médicale, Centre Hospitalier de Valence, Valence, France

Mots clefs : *WFS1*, diabète, surdité, cataracte, microtie, syndrome de Wolfram

Résumé :

Introduction.

Les phénotypes de transmission autosomique dominante liés aux mutations *WFS1* étaient connus pour être moins sévères que le syndrome de Wolfram (WS), autosomique récessif, caractérisé par la survenue d'un diabète sucré et d'une atrophie optique, en général avant 16ans, associé à un diabète insipide et une surdité. Les phénotypes dominants correspondaient principalement aux surdités neurosensorielles basse fréquence et au syndrome associant atrophie optique et surdité, mais il a également été décrit une famille avec un diabète isolé débutant à l'âge adulte et une famille avec une cataracte nucléaire congénitale isolée. Plus récemment, De Franco et al. (Diabetes 2017) a décrit un syndrome congénital sévère ressemblant au Syndrome de Wolfram (Congenital Wolfram Like Syndrome : CWLS), caractérisé par une surdité congénitale, un diabète sucré néonatal et une cataracte, dû à la survenue de novo de mutations dominantes dans le gène *WFS1*.

Matériel et méthode.

Nous rapportons 3 cas non apparentés présentant ce nouveau phénotype sévère, au sein de notre cohorte française de 116 patients porteurs d'au moins 1 mutation *WFS1*, permettant ainsi de préciser ce nouveau spectre clinique avec la présence d'anomalies malformatives et de décrire une nouvelle mutation dominante.

Résultats.

La mutation dominante p.Glu809Lys, déjà rapportée associée au CWLS, a été identifiée de survenue de novo chez 2 filles sans lien de parenté, respectivement âgées de 12 et 3 ans. Elles ont présenté la triade clinique caractéristique du CWLS au cours de leur première année de vie, associées à un retard psychomoteur, des difficultés d'alimentation avec retard staturopondéral, une amblyopie ainsi que des caractéristiques dysmorphiques et malformatives à type de microtie et hypoplasie cérébelleuse. Nous décrivons également un patient de 20 ans qui avait développé un diabète et une surdité avant l'âge de 1 an et une cataracte bilatérale diagnostiquée à 18 mois, associée à un glaucome, une amblyopie, une ataxie cérébelleuse, une petite taille, une hypothyroïdie et un hypogonadisme hypogonadotrophique. La présentation clinique est très évocatrice de CWLS. Nous avons trouvé une mutation hétérozygote p.His860Asp dans le gène *WFS1*, mais l'étude chez les parents n'a pas pu être réalisée. Néanmoins, cette mutation a déjà décrite de survenue De novo mais associé à une deuxième mutation et donc considéré comme étant à l'état hétérozygote composite chez un cas présentant un syndrome de Wolfram avec une surdité congénitale. Nous pouvons soulever l'implication de la pathogénicité de cette mutation dans les formes dominantes congénitales.

Conclusions

Avec ces 3 cas présentant un phénotype sévère congénital lié à la survenue de novo d'une mutation dominante *WFS1*, nous soulignons l'expansion du spectre clinique associé à *WFS1*.

Pièce jointe : Abstract *WFS1* mutation dominante.docx

#20047 : Etude fonctionnelle de variants du gène SH2B3 identifiés chez des patients atteints d'érythrocytose héréditaire.

Auteurs :

Amandine Le Roy (1), Nena Martin (1), Florence Robriquet (2), Agnès Quéméner (3), Nathalie Gérard (4), Fabrice Airaud (5), Céline Garrec (5), Stéphane Bézieau (5), Erwan Mortier (3), Béatrice Charreau (4), François Girodon (6), Betty Gardie (1)

1. , EPHE, Nantes, France
2. , Institut du Thorax, Nantes, France
3. , CRCINA, Nantes, France
4. , Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie, Nantes, France
5. , CHU Nantes, Nantes, France
6. , CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Erythropoïèse ,Erythrocytose, EPOR, LNK, SH2B3, Epissage, Mutants hypomorphes

Résumé :

Introduction. Les érythrocytoses héréditaires sont caractérisées par une érythropoïèse excessive et une surproduction de globules. Nous avons identifié, chez 12 patients, des variants de signification inconnue jamais décrits dans le gène *SH2B3* (mutations faux sens, mutations synonymes, mutations introniques). *SH2B3* fait partie de la famille des protéines adaptatrices SH2B (Src Homology 2-B). Cette protéine joue un rôle clé dans l'érythropoïèse en se fixant au récepteur à l'érythropoïétine et en inhibant la voie de signalisation EPO-EPOR. Les analyses *in silico* des variants identifiés ont permis de suspecter un effet potentiel sur l'épissage ou une perte de fonction de la protéine. Nous avons mis en place une série d'études fonctionnelles afin de déterminer si ces variants jouent un rôle dans la survenue des érythrocytoses.

Matériel et Méthodes. Afin d'étudier l'impact des variants sur l'épissage, nous avons mis en place un test rapporteur d'épissage de type « minigène ». Ce test consiste à cloner, à partir de l'ADN des patients, les exons *SH2B3* d'intérêt (exons 3 à 7 ou 6 à 7) dans un plasmide pCAS2 entre 2 exons artificiels. Les constructions plasmidiques sont transfectées dans différentes lignées cellulaires (dont la lignée érythroleucémique UT7). L'ARN est extrait, une RT-PCR puis un séquençage des bandes obtenues sont réalisés. L'étude fonctionnelle de la protéine *SH2B3* a été réalisée avec le modèle UT7 qui exprime le récepteur à l'EPO. Une technique d'immuno-essai AlphaScreen® Sure fire® a été utilisée. Il s'agit d'une méthode très sensible capable de mesurer la phosphorylation de STAT5 suite à l'activation d'EPOR. Le vecteur d'expression de *SH2B3* a été synthétisé (plasmide EGFP-2A-*SH2B3*) et les différents variants ont été introduits par mutagenèse dirigée (Taq Q5 - Invitrogen).

Résultats. Nous avons mis en évidence une nette perturbation de l'épissage avec une mutation touchant un site consensus accepteur d'épissage identifié chez un patient avec un syndrome myéloprolifératif (témoin positif). Concernant les variants identifiés chez les patients atteints d'érythrocytose, nous n'avons pas observé d'effet significatif sur l'épissage. Cependant, ce test nous a permis d'identifier de nombreuses isoformes d'épissage non décrites du gène. L'étude de la fonction des protéines *SH2B3* sauvage ou mutante par la technique d'immuno-essai a mis en évidence une perte de fonction des variants de faible intensité.

Conclusion. Etant donné la complexité de l'épissage observé, le test minigène ne permet pas de classer les variants et de conclure sur le caractère délétère de ces derniers. La technique du kit AlphaScreen® Sure fire®, qui est très sensible, a permis de détecter une faible perte de fonction de la protéine mutée. Ces résultats confirment la difficulté d'étudier les variants identifiés dans cette pathologie peu sévère qui est, dans la majorité des cas, associée à des mutants hypomorphes.

Pièce jointe : Abstract Assises de Génétique 2020 Def.docx

#19883 : Mise en place d'une série de tests fonctionnels pour caractériser les conséquences fonctionnelles de nouveaux variants du gène ARX**Auteurs :**

Marc Kérzozoré (1), Chloé L'Hostis (1), Cécile Voisset (1), Aurore Curie (2), Gaëlle FRIOCOURT (1)

1. UMR1078 Inserm, Faculté de médecine de Brest, Brest, France

2. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Femmes Mères Enfants, Hospices Civils de Lyon, CNRS UMR5304, Institut des Sciences Cognitives, Lyon, France

Mots clefs : ARX, facteur de transcription, mutations, déficience intellectuelle, dystonie, épilepsie

Résumé :

ARX (Aristaless-related homeobox gene) encodes a transcription factor which mutations have been associated with different syndromes ranging from severe neuronal migration defects resulting in severe cerebral malformations such as lissencephaly, to moderate forms of X-linked intellectual deficiency (XLID) without apparent brain abnormalities but often associated with epilepsy. In the human and rodent developing brain, Arx is strongly expressed in telencephalic structures, particularly in populations of GABA-containing neurons (basal ganglia, cerebral cortex, hippocampus...). This pattern of expression has led to suggest that the phenotype in patients with ARX mutations probably results from an absence and/or dysfunction of GABAergic interneurons. This hypothesis has been later validated in several mouse models expressing different ARX mutations.

With the now widely use of exon or genome sequencing to elucidate causes of various human genetic diseases, several new variants in ARX sequence have recently been identified but their impact on ARX function is not well understood. Interestingly, some of these variants have been identified in diseases other than the ones already known to be associated with ARX mutations, suggesting that ARX mutations may be involved in more human pathologies than previously thought. We thus developed a series of functional experiments to assess several cellular aspects that can be disturbed by ARX mutations (axonogenesis, cell proliferation, neuronal migration...). Our final aim is to provide clinicians with one or several functional tests for each new variant in ARX identified. This should help to improve diagnosis for the patients and to better understand the pathophysiological mechanisms involved in ARX-related phenotypes.

Pièce jointe : Friocourt-abstract-assises-2020.docx

#19886 : AnnotSV: Annotation et priorisation des variations structurales humaines

Auteurs :

Véronique GEOFFROY (1), Audrey SCHALK (2), Arnaud KRESS (3), Hélène DOLLFUS (1, 4), Sophie SCHEIDECKER (5, 6), Jean MULLER (7, 8)

1. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. ICUBE UMR 7357, Complex Systems and Translational Bioinformatics (CSTB), Université de Strasbourg - CNRS - FMTS, Strasbourg, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg,, Strasbourg, France
7. Laboratoires de Diagnostic Génétique, IGMA, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : SV, CNV, annotations, ranking, priorisation, génétique humaine

Résumé :

Background

Next generation sequencing and array-based techniques are generating a tremendous amount of data including many single nucleotide variations (SNV), small insertions/deletions (indel) and structural variations (SV). However, despite their important role either in genome evolution or in disease pathogenicity, SV are still difficult to be reliably detected and annotated.

Objective

To help identifying pathogenic SV in the genome of patients, we have developed AnnotSV.

Results

AnnotSV is a fast and efficient tool to annotate and classify SV identified from the human genome. AnnotSV supports either the VCF (Variant Call Format) or the BED (Browser Extensible Data) formats as input files. Our tool aims at providing annotations useful to i) filter out potential false positive variants from all the SV identified and ii) to interpret SV potential pathogenicity. In particular, AnnotSV can integrate the heterozygous and homozygous counts of called SNV/indel overlapping each SV for the patients of interest. This information can be useful to support or question the existence of a single SV. We also report a computed and unique allelic frequency relative to all benign overlapping SV from the Database of Genomics Variants (DGV, <http://dgv.tcag.ca>) that is especially powerful to filter out common SV.

Since the publication of AnnotSV in Bioinformatics (10.1093/bioinformatics/bty304), new substantial developments have been made. First, we have doubled the number of annotations available (60), including along the DGV, the OMIM (<https://www.omim.org>), the DDD (<https://decipher.sanger.ac.uk/>) data already included, the ClinGen (haploinsufficiency, triplosensitivity), the ACMG gene list (<https://www.acmg.net/>), the CNV intolerance score from ExAC (<http://exac.broadinstitute.org>), the pathogenic SV from dbVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar/>) and the enhancers/promoters from GeneHancer. Second, in order to help the clinical interpretation of the SV, AnnotSV now provides a systematic classification of each SV into one of the following classes: class 1 (benign), class 2 (likely benign), class 3 (variant of unknown significance), class 4 (likely pathogenic) and class 5 (pathogenic). This new ranking algorithm was implemented based on a dataset of ~23000 SV from ~2500 patients of which 380 were disease causing. Finally, a new web server interface is available to annotate and rank the SV online.

AnnotSV is freely available at the following address: <https://lbgi.fr/AnnotSV>. The website is well documented with several sections (annotations sources, ranking...), a detailed readme, training resources and a user-friendly web server interface.

Conclusion

We believe the substantial functionally, regulatory and clinically relevant annotations, the integrated SV classification and the new user-web server interface will be of great importance for the audience interested in human genomics including medical geneticists, cytogeneticists, bioinformaticians and genomics scientists.

Pièce jointe : AnnotSV_abstract_20191003.docx

#20383 : Les anomalies hépatiques dans le syndrome de Turner sont associées à un état pro-inflammatoire

Auteurs :

Marie DI PATRIZIO (1), Eva FEIGERLOVA (2), Bruno LEHEUP (3)

1. Endocrinologie Pédiatrique, CHRU Nancy, Nancy, France
2. Endocrinologie, CHRU Nancy, Nancy, France
3. Génétique, CHRU Nancy, Nancy, France

Mots clefs : Syndrome de Turner, Hépatopathies, Etat pro-inflammatoire

Résumé :

Les anomalies hépatiques sont fréquentes dans le syndrome de Turner. La physiopathologie de ces anomalies est inconnue pour le moment. Leur évolution potentiellement grave nécessite des explorations complémentaires. Les marqueurs pro-inflammatoires tels que le rapport des polynucléaires neutrophiles sur les lymphocytes et le rapport des plaquettes sur les lymphocytes ont été récemment décrits comme marqueurs de progression de certaines pathologies hépatiques.

Nous avons étudié de manière rétrospective les marqueurs pro-inflammatoires chez les patientes atteintes d'un syndrome de Turner et nous avons examiné la relation de ces paramètres avec la fonction hépatique et d'autres facteurs connus, notamment les traitements hormonaux, le statut métabolique et les antécédents génétiques, susceptibles d'influencer la fonction hépatique chez les patientes atteintes de syndrome de Turner.

Cinquante-cinq patientes suivies pour un syndrome de Turner au CHRU de Nancy, ayant bénéficié d'un traitement par hormone de croissance, présentant des anomalies hépatiques ($n=24$, 24 ans $\pm$ 3,72) et sans anomalie hépatique ($n=31$, 23,5 ans $\pm$ 3,72), et 13 patientes (29,4 ans $\pm$ 13,8) non traitées par GH ont été incluses dans cette étude. Nous avons étudié l'association entre les anomalies hépatiques et les scores d'inflammation chez les patientes ayant bénéficié d'un traitement par hormone de croissance (GH).

Des anomalies hépatiques ont été observées chez 43,6% des patients traitées par GH (élévation des GGT dans 62,5% des cas, des ALAT dans 58,3%, des ASAT dans 45,8% et PAL dans 41,6%) et chez 41,6 % des patientes non traitées par GH. Nous avons observé une relation significative entre le rapport neutrophiles-lymphocytes et les ASAT ($p<0,05$), entre le rapport neutrophiles-lymphocytes et les ALAT ($p<0,05$) et entre les ASAT et le nombre de plaquettes ($p<0,05$). Aucune différence n'a été notée pour le caryotype, le diabète, les anomalies lipidiques ou les maladies auto-immunes.

Nos résultats suggèrent la présence d'un état pro-inflammatoire chez les patientes atteintes du syndrome de Turner et présentant des anomalies hépatiques. Cependant, les mécanismes à l'origine de cet état inflammatoire chez nos patientes ne sont pas clairs et nos résultats doivent être confirmés par des études prospectives plus vastes impliquant un groupe de sujets sains témoins.

#20444 : Différenciation de cellules germinales primordiales à partir de cellules iPS dérivées d'hommes infertiles porteurs d'anomalies génétiques

Auteurs :

Aurélie Mouka (1, 2), Brahim Arkoun (3), Loïc Drévilon (4), Rafika Jarray (5, 6), Sophie Brisset (1, 2), Anne Mayeur (7), Frank Yates (5, 6), Patrick Nitschke (8, 9), Gabriel Livera (10, 6), Gérard Tachdjian (1, 11), Leïla Maoouche-Chrétien (12), Lucie Tosca (1, 2)

1. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine Bécère, Clamart, France
2. , Université Paris-Saclay, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Equipe labellisée Ligue Nationale Contre le Cancer, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
4. SiRIC Curamus, La Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Institut de biologie François Jacob, Commissariat à l'Energie Atomique et aux Énergies Alternatives, Fontenay-aux-Roses, France
6. , Université Paris-Saclay, Orsay, France
7. Service Médecine de la reproduction et préservation de la fertilité, Hôpital Antoine Bécère, Clamart, France
8. Plateforme Bio-informatique, IMAGINE Institute, Paris, France
9. , Université Paris Descartes , Paris, France
10. Laboratoire de Développement des Gonades, UMR 967 « Stabilité Génétique, Cellules Souches et Radiations », Commissariat à l'Energie Atomique et aux Énergies Alternatives, Fontenay-aux-Roses, France
11. , Université Paris-Saclay, Le Kremlin-Bicêtre, France
12. Laboratoire des Mécanismes cellulaires et moléculaires des désordres hématologiques et implications thérapeutiques INSERM U 1163 / CNRS ERL 8254 , Institut IMAGINE, Paris, France

Mots clefs : Infertilité masculine, Désordre du développement sexuel, Remaniement chromosomique complexe, Séquençage Génome Entier, Cellules souches pluripotentes induites humaines, Cellules germinales primordiales, Modélisation de l'infertilité *in vitro*.

Résumé :

L'infertilité est un problème largement répandu qui affecte environ 15% des couples dans le monde. Un facteur masculin en est la cause dans 50% des cas et pour environ 30% d'entre eux, l'étiologie reste inexpliquée.

Malgré nos connaissances et notre compréhension des causes génétiques de l'infertilité, les mécanismes impliqués restent obscurs en raison de l'absence de modèles expérimentaux adéquats. Au cours de la dernière décennie, la génération et la différenciation de cellules pluripotentes induites (iPS) patient-spécifiques ont été largement appliquées et avec succès à diverses modélisations de maladies *in vitro*. La génération de cellules germinales mâles à partir de cellules iPS spécifiques à un patient pourrait constituer un outil précieux afin d'élucider les étiologies à l'origine de l'infertilité masculine.

Nous rapportons la caractérisation moléculaire de deux cas indépendants d'hommes infertiles, un réarrangement chromosomique complexe chez un patient azoosperme (Formule ISCN : 46, XY, inv(12)(p13.31q23.2), ins(7;12)(p21.3;q23.2q12)) et un cas de caryotype 46,XX-SRY négatif avec phénotype masculin et ambiguïtés génitales. Les anomalies génétiques des patients ont été caractérisées par des techniques de cytogénétiques conventionnelles, d'hybridation *in situ* fluorescente, de CGH-array, de séquençage matepair et génome entier.

Pour la modélisation de l'infertilité des patients, des cellules iPS ont été générées à partir d'érythroblastes des deux patients au moyen de virus de Sendai non intégratif. Les lignées iPSC spécifiques aux patients ont d'abord été converties vers un état naïf de la pluripotence, puis différenciées avec succès en cellules germinales primordiales (CGP). L'expression maintenue des marqueurs de la pluripotence (OCT3/4, NANOG) ainsi que l'expression des marqueurs des CGP précoces (SOX17, CD-38, NANOS3, c-KIT, AP2γ et D2-40) ont confirmé la progression vers un stade précoce de la lignée germinale.

Nos résultats indiquent que des cellules de type CGP peuvent être différenciées à partir de cellules iPS d'hommes infertiles dans un contexte d'anomalie génétique. La disponibilité de tels modèles cellulaires et leur utilisation pour la différenciation *in vitro* des cellules germinales accéléreraient notre compréhension de l'infertilité masculine et devraient permettre un criblage de médicaments à haut débit à des fins thérapeutiques.

Pièce jointe : Résumé - Assises de Génétique Humaine et Médicale - Aurélie Mouka.docx

#20190 : Un nouveau phénotype au locus PTPN11 : à propos de 7 patients dans 3 familles

Auteurs :

Emmanuelle RANZA (1, 2), Anne GUIMIER (1), Alain VERLOES (3), Yline CAPRI (3), Charles MARQUES (4), Martine AUCLAIR (5), Michèle MATHIEU-DRAMARD (6), Gilles MORIN (6), Julien THEVENON (7), Laurence FAIVRE (7), Christel THAUVIN-ROBINET (7), Micheil INNES (8), David DYMENT (9), Corinne VIGOUROUX (10), Jeanne AMIEL (11, 12)

1. Génétique médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Medigenome, Swiss Institute of Genomic Medicine, Geneva, Suisse
3. Génétique médicale, APHP-Hôpital Robert Debré INSERM UMR1141, Paris, France
4. Faculdade de Medicina, Centro Universitario Estacio, Ribeirao Preto, Sao Paulo, Brésil
5. Centre de recherche Saint Antoine et Institut de Cardio métabolisme et Nutrition, Sorbonne Université Inserm UMR_S938, Paris, France
6. Génétique médicale, CHU d'Amiens, Amiens, France
7. Centre de Génétique FHU TRANLAD, Hôpital d'Enfants CHU DIJON, Dijon, France
8. Department of Medical Genetics , Alberta Children's Hospital Research Institute, Cumming School of Medicine, University of Calgary, Alberta, Canada
9. Department of Genetics, Children's Hospital of Eastern Ontario, ottawa, Canada
10. Centre de Référence des Pathologies Rares de l'Insulino-Sécrétion et de l'Insulino-Sensibilité (PRISIS), Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Endocrinologie de la Reproduction, and Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires, AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
11. Inserm U1163, Institut Imagine, Paris, France
12. Service de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : PTPN11, syndrome SHORT-like, SHORT

Résumé :

Les syndromes de Noonan, Cardio-Facio-Cutané, Noonan avec lentigines multiples et Costello sont cliniquement chevauchants et génétiquement hétérogènes avec en commun une dérégulation de la voie RAS/MAPK et regroupés sous le terme de RASopathies. *PTPN11* a été le premier gène identifié dans le syndrome de Noonan et reste le gène majeur. Nous rapportons 7 patients issus de 3 familles, qui présentent des variations faux-sens dans le gène *PTPN11* et un phénotype distinct du syndrome de Noonan classique. Nous discutons la présentation clinique de ces patients et soulignons les signes évocateurs d'un syndrome SHORT. Ce dernier est la conséquence d'une dérégulation de la voie PI3K/AKT avec *PIK3R1* comme gène majeur dans ce syndrome. De plus, l'étude des fibroblastes chez deux patients montre une résistance à l'insuline in vitro, comme c'est le cas chez les patients présentant un syndrome SHORT avec mutation de *PIK3R1*. Les données de cette étude permettent d'élargir le spectre phénotypique associé aux variants pathogènes du gène *PTPN11* et illustrent le double rôle de SHP2 dans les voies de signalisation RAS/MAPK et PI3K/AKT. Elles sont également un nouvel exemple de variabilité phénotypique observée de manière inattendue pour des mutations d'un même gène grâce au séquençage d'exome.

#19884 : Développement d'une méthode mixte combinant une approche probabiliste et du machine learning pour rendre inter-opérables plusieurs bases de données : application aux bases de GEMO et GENEPSO.

Auteurs :

Yue JIAO (1, 2), Fabienne Lesueur (3), Chloé-Agathe Azencott (4, 5), Maité Laurent (1), Noura Mebirouk (4, 6), Lilian Laborde (7), Juana Beauvallet (4, 3), Marie-Gabrielle Dondon (4, 3), Séverine Eon-Marchais (4, 3), Anthony Lauge (1, 2), Catherine Nogues (8), Nadine Andrieu (4, 3), Dominique Stoppa-Lyonnet (1), Sandrine CAPUTO (1, 2)

1. Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. , Université Paris Sciences-Lettres, Paris, France
3. U900, INSERM, Paris, France
4. U900, Institut Curie, Paris, France
5. , Mines ParisTech, Paris, France
6. , INSERM, Paris, France
7. Département d'Anticipation et de Suivi du Cancer, Oncogénétique clinique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
8. Génétique, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France

Mots clefs : Interopérabilité des bases de données, Méthode mixte de record linkage (couplage d'enregistrements), probabiliste record linkage, machine learning supervisé

Résumé :

Le couplage d'enregistrements ou «*record linkage*» (RL) consiste à identifier, parmi différentes sources de données, les enregistrements qui concernent de mêmes entités, par exemple les mêmes individus. La méthode probabiliste de RL (PRL) qui estime la probabilité qu'un couple d'enregistrements fait référence au même individu ou non est la plus utilisée. Elle nécessite de déterminer un seuil de décision *a priori*. Les couples d'enregistrements ayant une probabilité au-dessus de ce seuil de décision sont considérés comme appartenant au même individu. Bien que le seuil de décision puisse être fixé de sorte à respecter un taux de faux positifs et un taux de faux négatifs, la pratique courante, empirique, consiste à effectuer une vérification manuelle des enregistrements

Les approches de machine learning supervisé (ML) ont une meilleure précision que PRL et font peu d'erreurs de prédiction. Cependant, celles-ci sont peu utilisées pour le RL, car elles nécessitent un jeu de données d'apprentissage dans lequel les statuts des couples sont connus

Notre objectif était de développer une méthode hybride faisant appel aux approches PRL et ML pour identifier

le maximum d'individus communs aux études GEMO (GEnes Modificateurs du risque tumoral chez les porteurs d'une mutation de *BRCA1* ou *BRCA2*) et GENEPSO (cohorte prospective des porteurs d'une mutation de *BRCA1* ou *BRCA2*), deux études nationales sur la prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire dans lesquelles des données complémentaires sont recueillies (échantillon d'ADN dans GEMO, suivi épidémiologiques sur 10 ans avec évènement carcinologiques et traitements dans GENEPSO)

Nous avons d'abord testé la performance de six algorithmes de ML et montré que l'algorithme random forest présente la meilleure performance de prédiction. Sur la base de cet algorithme, nous avons construit un modèle de ML utilisant l'approche PRL et une étape de validation manuelle, pour vérifier par exemple la nomenclature nucléotidique de la mutation, certaines données individuelles (âge, sexe...) ou les données familiales (arbres généalogiques). Nous avons ensuite évalué les trois méthodes de classification, PRL, ML et PRL+ML, et montré que cette dernière, dans laquelle les paires prédites sont combinées et validées manuellement, est plus performante. Sachant que le seuil de décision de PRL ici pourrait être assez élevé et les validations ne sont pas lourdes. Enfin, nous avons utilisé le modèle PRL+ML pour identifier les individus communs dans les jeux de données mis à jour de GEMO et de GENEPSO sans avoir recours à une validation supplémentaire

Ainsi, notre approche appliquée aux jeux de données GEMO (5357 participants) et GENEPSO (4192 participants) a identifié 1418 individus communs aux deux études et issus de 1072 familles. Cette stratégie peut être aisément adaptée pour rendre d'autres bases de données médicales ou épidémiologiques inter-opérables afin de faciliter la mise en place de projets de santé publique de grande envergure

#20554 : Place du dépistage génétique dans la prise en charge de la maladie de Von Hippel Lindau : a propos d'une famille.**Auteurs :**

sana gabteni (1), rim meddeb (1), ridha mrad (1), Mediha Trabelsi (1), I Zammel (2)

1. service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital charles nicolle, tunis, Tunisie
2. service de neurochirurgie , centre de traumatologie et des grands brulés ben Arous, tunis, Tunisie

Mots clefs : maladie Von Hippel Lindau, dépistage, mutation

Résumé :**Introduction :**

La maladie de Von Hippel-Lindau (VHL) est un syndrome familial de prédisposition aux cancers. Il associe des néoplasmes malins ou bénins, essentiellement des hémangioblastomes rétiens, cérébelleux et de la moelle épinière, des carcinomes des cellules rénales (CCR), des phéochromocytomes, des kystes et des tumeurs endocrines du pancréas et des tumeurs du sac endolymphatique.

Ce syndrome est de transmission autosomique dominante. Il est dû à des mutations constitutionnelles à haute pénétrance du gène suppresseur de tumeur *VHL*.

Objectif :

Souligner l'intérêt du dépistage génétique de la maladie de Von Hippel-Lindau à travers une famille chez qui une mutation du gène *VHL* a été détectée.

Patients et Méthodes :

Le cas index (CI) de la famille étudiée a été adressé à la consultation d'oncogénétique pour suspicion de la maladie VHL. Une enquête génétique et une étude moléculaire par un séquençage du gène *VHL* ont été réalisées chez le CI et ses deux enfants asymptomatiques.

Observation :

Le cas index est une patiente âgée de 34 ans ayant deux enfants âgés de 11 et 8 ans. Un hémangioblastome cérébral avec localisation médullaire au niveau de C2-C3 a été diagnostiqué suite à un tableau d'hypertension intra-crânienne. Le bilan d'extension a objectivé un phéochromocytome bilatéral, des nodules hépatiques, sans atteintes rétiennes ni rénales. L'enquête génétique n'a pas objectivé de cas similaires dans la famille.

L'étude du gène *VHL* réalisée chez le CI a retrouvé une mutation c.500G > A (p.Arg167Glu) au niveau de l'exon 3. Un conseil génétique a été donné à la famille et un dépistage génétique a été proposé pour les sujets à risque de cette famille. Le test pré-symptomatique, réalisé chez la descendance de la patiente a conclu à une prédisposition génétique à la maladie de VHL chez l'aîné.

Conclusion :

La confirmation moléculaire d'une prédisposition héréditaire à la maladie de VHL permet d'adapter le conseil génétique aux familles à risque, proposer un diagnostic présymptomatique chez les autres membres de la famille et offrir des stratégies spécifiques de prise en charge.

#20536 : Les aspects cytogénétiques du syndrome de Turner : A propos de 172 cas

Auteurs :

KENZA DAFIR (1), mariam sennaoui (1), maria mansouri (1), hassan akallakh (1), Fatimazzahra Bouzid (1, 2), Hanane AITHAMMOU (1), MOUNA BENAICHA (3), 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
3. service de Génétique_, chu mohammed VI de Marrakech, marrakech, Maroc

Mots clefs : Syndrome de Turner , aspects cytogénétiques, service de Génétique CHU Marrakech

Résumé :

Introduction:

Le syndrome de Turner est une monosomie totale ou partielle d'un chromosome X chez une fille. Sa prévalence est estimée à 1/2500 naissances féminines. Le tableau clinique est très hétérogène et la dysmorphie souvent modérée. Il existe un retard statural, qui est constant. Une insuffisance ovarienne à début variable en fonction de l'anomalie chromosomique est fréquente. Sur le plan cytogénétique, la monosomie du chromosome X ne résume pas la totalité des cas de syndrome de Turner. Dans plus de la moitié des cas, il s'agit d'une mosaïque et/ou d'une anomalie de structure du chromosome X.

Patientes et méthodes:

Dans ce travail, nous rapportons les résultats d'une étude rétrospective étalée sur 07 ans (2013-2019), portant sur 274 patientes adressées au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour suspicion du syndrome de Turner. Un caryotype constitutionnel post-natal a été réalisé chez les 274 patientes.

Résultats:

Parmi les demandes de caryotype pour suspicion du syndrome de Turner, nous avons pu confirmer le diagnostic chez 172 patientes dont l'âge varie entre 1 an et 40 ans avec un âge moyen de 14,43. L'analyse cytogénétique a mis en évidence 55 cas de monosomie (45,X) homogène, 89 cas de monosomie X en mosaïque et 28 cas d'anomalie de structure du chromosome X.

Conclusion:

Le présent travail souligne l'intérêt de l'étude cytogénétique dans la confirmation du diagnostic du syndrome de Turner afin d'instaurer un traitement précoce et adéquat, Et le rôle du généticien dans l'élaboration du conseil génétique adapté.

#20448 : Triple X Syndrome with Short Stature: Case Report CHU HASSAN II, FES

Auteurs :

BADREDDINE ELMAKHZEN (1), Laila BOUGUENOUGH (1)

1. Unit of Medical Genetics and Oncogenetics, Central Laboratory for Medical Analysis, CHU Hassan II, Fez Morocco., FES, Maroc

Mots clefs : triple X syndrome, short stature

Résumé :

triple X syndrome (trisomy X, 47,XXX) , is recognized to occur in 1 in 1000 newborn females , with many patient going undiagnosed , represent a sex chromosomal abnormality caused by the presence of an extra X chromosome . The syndrome was first described by Jacobs and colleagues in 1959 in a woman of normal intelligence who had secondary amenorrhea, a Nondisjunction at maternal meiosis I (63%) is the most common cause of 47, XXX. Although not as striking an effect as is seen with trisomy 21, an increased maternal age effect has been seen for 47, XXX females.

The XXX syndrome has no pattern of malformation associated with this karyotype. Except for intellectual disability, all of the other features are variable. The patients are usually of normal to tall stature, characterized by tall stature, microcephaly, hypertelorism, congenital abnormalities, and motor and language delays.

Herein, we report a case of 6 years girl presented to our unit due to slow growing. A karyotype was performed, that has demonstrated a 47, XXX. To our knowledge, this is the second case report of a triple-X karyotype with short stature.

Pièce jointe : XXX syndrome.docx

#20399 : Mutation faux-sens du gène MED12 dans une famille de trois générations. Caractérisation clinique des maladies liées au gène MED12 et révision de la littérature.**Auteurs :**

Elisa Rubinato (1), Sophie Rondeau (2), Fabienne Giuliano (3), Manoelle Kossorotoff (4), Marine Parodi (5), Souad Gherbi (1), Julie Steffan (6), Laurence Jonard (1, 7), Sandrine Marlin (1, 8)

1. Centre de Référence des Surdités Génétiques, Service de Génétique Clinique, Institut Imagine, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU, Nice, France
4. Service de Neurologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
5. Otorhinolaryngologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
6. Service de génétique moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
7. Service de génétique moléculaire, Groupe hospitalier Necker Enfants malades, AP-HP, Paris, France
8. INSERM, UMR-1163, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : MED12, déficience intellectuelle, XLID, NGS

Résumé :

Les mutations du gène *MED12* ont été décrites dans des formes de déficience intellectuelle liées à l’X (XLID) syndromiques et non-syndromiques. A ce jour, 3 syndromes XLID ont été décrits : le syndrome FG, le syndrome de Lujan-Fryns (LS) et le syndrome d’Ohdo (OSMKB). Dans les dernières années, grâce à l’utilisation des techniques du Next Generation Sequencing (NGS), il a été possible de découvrir au moins 16 mutations *MED12*, permettant de mieux définir le phénotype des maladies liées au gène *MED12*. Nous présentons trois cas d’une large famille non consanguine qui présentent une déficience intellectuelle légère à sévère, un retard de langage sévère, des troubles du comportement, une dysmorphie et une déficience auditive. L’analyse d’un panel de gènes en NGS nous a permis de mettre en évidence une variation pathogène *MED12* : c.3883C>T (p.Arg1295Cys) chez les trois sujets atteints, héritée de leur mère. Cette variation a déjà été rapportée en 2016 par Hu *et al.* dans une famille issue d’une grande cohorte de cas d’XLID. L’étude de notre famille et de la littérature nous permet de proposer un quatrième phénotype lié aux mutations de *MED12*.

Pièce jointe : Assises-Abstract MED12 .docx

#19902 : Recherche de SNP modulateurs du phénotype hypophosphatasique par un algorithme d'identification de règles d'association (« subgroup discovery »)

Auteurs :

Etienne Mornet (1), Mélissa Rollot (2), Cyrine Hlioui (2), Christelle Domingues (1), Agnès Taillandier (1), Alexandre Templier (2), Brigitte Simon-Bouy (1), Alexandre Civet (2)

1. Génétique constitutionnelle, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France
2. , Quinten France, Paris, France

Mots clefs : Hypophosphatasie, algorithme Q-Finder®, gène modificateur, NGS

Résumé :

L'hypophosphatasie (HPP) est une maladie héréditaire affectant essentiellement la minéralisation osseuse et dentaire. Elle est due à des mutations du gène ALPL codant la phosphatase alcaline TNSALP. Le spectre clinique est très variable. La corrélation génotype-phénotype est imparfaite, suggérant l'existence de gènes modificateurs. A l'aide d'un algorithme d'identification de règles d'association (dit aussi « subgroup discovery »), le Q-Finder®, nous avons recherché et identifié des SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) impliqués dans la modulation du phénotype hypophosphatasique. Ce travail avait donc 2 objectifs : 1) valider l'approche méthodologique par subgroup discovery sur une petite cohorte et un nombre limité de variants

2) détecter des SNP et/ou des combinaisons de SNP susceptibles de moduler le phénotype hypophosphatasique.

La cohorte étudiée est composée de 67 patients adultes hétérozygotes pour une mutation du gène ALPL et 61 adultes sans mutation, tous présentant un taux bas de phosphatases alcalines (PAL) et des signes non spécifiques de la maladie. Tous ont été étudiés par NGS permettant le séquençage simultané du gène ALPL et de 11 gènes impliqués dans le métabolisme du pyrophosphate inorganique (ANKH, ENPP1, SPP1, PHOSPHO1) ou des gènes de diagnostic différentiel de l'HPP (COL1A1, COL1A2, PTH1R, PTH2R, TNFSRF11A, SOX9, FGFR3). Trois critères de sévérité ont été analysés (taux de PAL, âge au diagnostic et présence de fractures) pour 29 SNP de la séquence codante et 4 SNP de la région 5'UTR du gène ALPL.

Les résultats montrent des associations significatives entre certains de ces variants et les critères de sévérité étudiés, notamment:

- Le variant c.1645C > G du gène COL1A2, combiné à l'un ou l'autre des variants du gène SPP1 c.282T > C ou c.750C > T, est associé à un risque plus élevé d'avoir des PAL basses dans les 2 groupes.
- Le variant c.330T > C (p=) du gène ALPL est associé à un risque de PAL basses dans le groupe des hétérozygotes ALPL
- Les variants SPP1 c.282T > C et c.750C > T, combinés aux variants TNFSRF11A c.575C > T et c.933A > C sont associés à un risque élevé de fractures.
- Le variant du gène ANKH c.294C > T combiné aux variants chr1:21833509C:T ou chr1:21833457C:G situés en 5' du gène ALPL est associé à un âge plus précoce des symptômes.

Aucun des variants analysés n'a montré d'association significative avec les 3 critères de sévérité ensemble.

Malgré la petite taille de la cohorte étudiée, caractéristique des maladies rares, nous montrons ici la faisabilité de la méthode utilisée qui permet non seulement de détecter des associations simples avec des p values similaires aux méthodes statistiques classiques, mais aussi des associations multiples résultant de la combinaison de plusieurs variants.

La comparaison avec les méthodes classiques sera présentée et les limites discutées.

Ce travail a été soutenu financièrement par Alexion Pharmaceuticals

Pièce jointe : abstract assises de génétique.docx

#20569 : Mutations constitutionnelles de l'oncogène MET : particularités du phénotype clinique et tumoral dans la population française**Auteurs :**

Molka SEBAI (1), David TULASNE (2), Sandrine CAPUTO (3), Virginie VERKARRE (4), Severine ADAMS (5), Sylvie CHAUVIN (1), Christine MAUGARD (6), Olivier CARON (7), Marine GUILLAUD-BATAILLE (1), Pascaline BERTHET (8), Yves-Jean BIGNON (9), Jean CHIESA (10), Thierry FREBOURG (11), Sophie GIRAUD (12), Sophie LEJEUNE (13), Jean-Marc LIMACHER (14), Helene CANNONI (15), Sophie DEVEAUX (16), Stéphane RICHARD (16), Etienne ROULEAU (1)

1. Service de génétique des tumeurs, Gustave ROUSSY, Villejuif, France
2. CNRS UMR8161, Institut de Biologie de Lille-Institut Pasteur de Lille, Lille, France
3. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
4. Service d'Anatomie et de cytologie pathologiques, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Service de génétique des tumeurs, Gustave ROUSSY, Paris, France
6. Service d'oncogénétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
7. Service d'oncogénétique, Gustave ROUSSY, Villejuif, France
8. Oncogénétique clinique, Centre François-Baclesse, Caen, France
9. Laboratoire de biologie médicale-unité d'oncogénétique, CLCC Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
10. Unité de génétique médicale et cytogénétique, CHU de Nîmes-Hôpital Carémieu, Nîmes, France
11. Service de génétique clinique, CHU de Rouen, Rouen, France
12. Service de génétique clinique, CHU de Lyon HCL-GH Est, Lyon, France
13. Service d'oncogénétique, CHU Lille, Lille, France
14. Service d'oncologie, Hôpital Pasteur-Hôpitaux civils de Colmar, Colmar, France
15. Service d'oncogénétique, AP-HM Marseille, Marseille, France
16. Réseau National pour Cancers Rares de l'Adulte PREDIR, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Mots clefs : mutations constitutionnelles, oncogène MET, population française, phénotype clinique et tumoral particulier

Résumé :**Introduction**

Les mutations constitutionnelles de l'oncogène *MET* (NM_001127500.2) sont associées aux carcinomes papillaires du rein type I (KTP1) souvent multiples et bilatéraux. Il s'agit principalement de mutations faux-sens, activatrices du domaine tyrosine kinase de la protéine c-MET.

Les objectifs de ce travail étaient d'évaluer la prévalence des mutations constitutionnelles du gène *MET* en France, de décrire les caractéristiques démographiques et tumorales associées et d'étudier la pathogénicité des variants rares de signification inconnue (VSI) retrouvés.

Patients et Méthodes

Depuis plus de 15 ans, les demandes d'analyse constitutionnelle du gène *MET* ont été centralisées en France ce qui nous a permis de réaliser une étude descriptive rétrospective en sélectionnant uniquement les patients présentant un KTP1: 152 cas index et 5 apparentés atteints. Différentes techniques d'exploration ont été adoptées: séquençage SANGER, qPCR-HRM et séquençage à haut débit.

Résultats

La prévalence des mutations constitutionnelles du gène *MET* chez les cas index était de 8% (12/152). Trois mutations déjà décrites du domaine tyrosine kinase ont été retrouvées : c.3335A > G (p.His1112Arg), c.3712G > A (p.Val1238Ile) et c.3743A > G (p.Tyr1248Cys). 11% des cas index étaient porteurs d'un VSI. L'étude était normale chez 123 cas index (81%).

Pour les cas mutés, le KTP1 était majoritairement bilatéral (77%) et multifocal (90%). En l'absence de mutation, la tumeur était unilatérale (66,7%) et unique (55,4%). Les patients mutés présentaient un antécédent familial de cancer du rein dans 83% des cas contre 13% chez les cas non mutés. Il n'y avait pas de différence significative dans l'âge au diagnostic de la tumeur entre les deux groupes.

Au total, il y avait 15 VSI différents dont quatre faux-sens sur le domaine tyrosine kinase, quatre faux-sens sur le domaine SEMA, deux duplications des exons 6 à 21 et deux VSI introniques.

Le VSI c.3389T > C (p.Leu1130Ser), du domaine tyrosine kinase, a été retrouvé chez quatre cas index. Un KTP1 était présent dans la fratrie de deux cas. L'étude in silico du variant le classait en pathogène. Les tumeurs associées étaient bilatérales (4/4) et multifocales (3/4). Ce VSI a été retrouvé sur deux tumeurs avec une perte de l'hétérozygotie en faveur du variant par gain de l'allèle muté. Une étude fonctionnelle est en cours pour classer définitivement le VSI c.3389T > C.

Conclusion

La classification des mutations faux-sens des oncogènes est difficile sans étude fonctionnelle associée. Dans le cas des KTP1 par mutation activatrice du gène *MET*, les critères cliniques et tumoraux sont très caractéristiques. Le phénotype observé est donc un argument important dans le classement des VSI. Pour le variant c.3389T > C, les données sont convergentes pour le rendre comme variant délétère avec l'évaluation fonctionnelle du variant.

#19814 : Les mutations AP4B1 peuvent elles induire une hypersensibilité des hippocampes aux crises fébriles ?**Auteurs :**

Lyse RUAUD (1, 2), Simon SAMAAN (3), Séverine DRUNAT (3, 2), Nathalie LOPEZ (4), Monique EL MALEH (5), Stéphane AUVIN (4, 2), Sandrine PASSEMARD (1, 2)

1. Service de génétique clinique, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. , Université de Paris, Neurodiderot, Inserm, Paris, France
3. Service de génétique moléculaire, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Service de neurologie pédiatrique, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Service d'imagerie pédiatrique, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Mots clefs : AP4B1, sclérose mésiale, hippocampe, crises fébriles, paraplégie spastique héréditaire

Résumé :

Le gène *AP4B1*, localisé en 1p13.2 code pour une sous-unité du complexe AP4 impliqué dans le ciblage de protéines du réseau trans-Golgien au système endosomal-lysosomal. A l'heure actuelle, 25 patients issus de 19 familles ont été rapportés avec des variants pathogéniques homozygotes ou hétérozygotes composites de *AP4B1*. Cette pathologie rare du neurodéveloppement, connue aussi sous le nom de SPG47, est évoquée devant une hypotonie, un retard de développement psychomoteur et des crises d'épilepsie variées (crises fébriles, partielles, généralisées tonico-cloniques ou myocloniques) dans les 2 premières années de vie. L'apparition d'une paraplégie spastique progressive, généralement après 4 ans et d'une déficience intellectuelle modérée à sévère, signent le diagnostic. L'imagerie aide peu au diagnostic, montrant un corps calleux fin avec retard de myélinisation et ventriculomégalie.

Nous rapportons le cas d'un nourrisson qui s'est présenté avec un retard de développement, plusieurs crises fébriles à partir de 9 mois. Ce jeune garçon a tardivement développé une paraplégie spastique à l'âge de 8 ans. Un nouveau variant non-sens homozygote c.985A > T (p.Lys329*) dans l'exon 5 de *AP4B1* a été identifié par séquençage nouvelle génération, compatible avec son atteinte clinique.

Nous nous sommes intéressés à l'épilepsie de ce jeune garçon. Cette épilepsie a débuté par une première crise fébrile généralisée à 11 mois puis plusieurs crises généralisées toujours en contexte fébrile et un état de mal épileptique à 5 ans. Il a été traité par acide valproïque. Les contrôles IRM successifs ont montré une sclérose hippocampique.

A notre connaissance, l'association entre les mutations *AP4B1* et la sclérose mésiale hippocampique n'a jamais été rapportée, malgré la vingtaine de cas rapportés. Cependant, des anomalies de forme de l'hippocampe ont été décrites chez 4 patients. Une corrélation entre crises fébriles et sclérose hippocampique a été identifiée il y a déjà plusieurs années. Nous montrons ici que cette association entre crises fébriles et sclérose de l'hippocampe existe chez les patients porteurs de mutation *AP4B1*.

Nous souhaitons collaborer sur ce sujet avec d'autres équipes qui suivent des patients porteurs de mutation *AP4B1*.

#20185 : Optimisation du conseil génétique chez des patients suspectés de syndrome de Lynch sans mutation constitutionnelle identifiée, grâce à la recherche de mutations somatiques des gènes MMR**Auteurs :**

Catherine VERMAUT (1), Michel CREPIN (2), Tonio LOVECCHIO (2), Cathy FLAMENT (2), Denis BOLDIN (1), Lauriane BRIOIS (1), Nora BOUCETTA (1), Sophie Lejeune (3), Afane BRAHIMI (4), Stephane CATTAN (5), Nelly Dewulf (3), Chrystelle COLAS (6), Florence Coulet (7), Hélène SCHUSTER (8), Sylvie MANOUVRIER (5), Florence RENAUD (9), Marie-Pierre Buisine (1), Julie Leclerc (1)

1. Oncologie et Génétique Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
2. Oncogénétique Moléculaire, Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, Lille, France
3. Génétique Clinique "Guy Fontaine", CHU Lille, Lille, France
4. Génétique Clinique, CHU Lille, Lille, France
5. Oncogénétique Clinique, Jeanne de Flandre, Lille, France
6. Département de génétique, Institut Curie, Université de Recherche Paris Sciences et Lettres, Paris, France, Paris, France
7. Laboratoire d'oncogénétique, Unité fonctionnelle d'Oncogénétique, Département de Génétique, CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière, Paris, France
8. Unité d'Oncogénétique, CLCC Paul Strauss, Strasbourg, Strasbourg, France
9. Institut de Pathologie, Centre de Biologie Pathologie, Lille, France

Mots clefs : Syndrome de Lynch, analyse somatique, séquençage haut débit, PCR digitale

Résumé :

La caractérisation du phénotype tumoral (ou phénotype MSI, *MicroSatellite Instability*) joue une place centrale dans la stratégie diagnostique du syndrome de Lynch. En effet, la présence d'une instabilité microsatellitaire combinée à la perte d'expression de protéine(s) MMR est très évocatrice du diagnostic de syndrome de Lynch, secondaire à une variation pathogène constitutionnelle d'un gène MMR (*MisMatch Repair*), dès lors que l'hypothèse d'une hyperméthylation biallélique somatique du promoteur du gène *MLH1* a été éliminée. Néanmoins, pour certains patients, aucune variation pathogène n'est identifiée, et le diagnostic de syndrome de Lynch ne pouvant être exclu, ces patients et leurs apparentés sont généralement contraints à une surveillance clinique. Pour ces patients, l'analyse tumorale des gènes MMR présente un intérêt majeur, car elle permet de conclure à une tumeur sporadique lorsque deux événements pathogènes sont identifiés, responsables d'une inactivation biallélique somatique d'un gène MMR expliquant le phénotype MSI. Ceci permet alors d'exclure le diagnostic de syndrome de Lynch et de lever la surveillance. A l'inverse, l'absence d'identification de deux événements pathogènes ou probablement pathogènes oriente vers l'existence d'une anomalie constitutionnelle non détectée par les techniques conventionnelles. Nous avons analysé, par séquençage haut débit (PCR multiplex AmpliSeq, Ion Torrent, ThermoFisher Scientific), 45 tissus tumoraux de patients présentant une tumeur de phénotype MSI sans mutation constitutionnelle identifiée dans les gènes MMR. Nos résultats ont permis d'identifier les deux événements à l'origine de l'inactivation biallélique d'un gène MMR dans 67% (n=30) des cas analysés. Chez ces patients, nous avons poursuivi les investigations par une analyse ciblée à la recherche de ces événements dans le sang ou/et le tissu colique sain pour explorer l'hypothèse d'une variation en mosaïque à taux faible non détectée par les pipelines bioinformatiques dédiés aux analyses constitutionnelles. Pour 10 d'entre eux, nous avons voulu déterminer si la technique de PCR digitale améliorerait la sensibilité de détection d'une potentielle variation en mosaïque à taux très faible. En conclusion, les analyses somatiques permettent d'adapter la prise en charge des patients suspects de syndrome de Lynch sans mutation constitutionnelle identifiée et d'améliorer le conseil génétique.

Pièce jointe : assises2020_CVermaut_10oct.doc

#20461 : SHANKOPATHIES from mechanisms to treatments

Auteurs :

Richard Delorme (1), Claire Leblond (2), Freddy Cliquet (2), Elodie Ey (2), Kevin Mouzat (3), Anne Biton (4), Myriam Rachid (1), Elisabeth Verpy (2), Alexandre Mathieu (2), Florence Campana (2), Julien Fumey (2), Amaury Vaysse (2), Roberto Toro (2), Guillaume Dumas (2), Anna Maruani (1), Frederique Amsellem (1), Aline Lefebvre (1), Anne Boland (5), Jean François Deleuze (5), Serge Lumbroso (3), Anne Claude Tabet (1), Thomas Bourgeron (2)

1. , Hopital Robert Debré APHP, PARIS, France
2. Neuroscience, Institut Pasteur, PARIS, France
3. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, Nîmes, France
4. C3BI, Institut Pasteur, PARIS, France
5. , Centre National Recherche Génomique Humaine, Evry, France

Mots clefs : Autism, Phelan McDermid syndrome, SHANK3

Résumé :

Introduction: The SHANK protein family is composed of three proteins SHANK1-3, which are synaptic scaffolding proteins located at glutamatergic synapses. Mutations in all SHANK genes have been associated with neurodevelopmental disorders (NDD), but with a gradient of cognitive severity. *SHANK1* mutations are associated with autism without intellectual disability (ID), *SHANK2* mutations are associated with autism and mild cognitive deficits and *SHANK3* mutations cause ID or speech deficits associated with autism in > 60% of the cases. SHANK3 point mutations or deletions are detected in 1-2% of patients with autism and ID. The gene is on chromosome 22q13.3, a region deleted in patients suffering from Phelan-McDermid syndrome (PMS), characterized by ID, severe language deficit, dysmorphic features and frequently autism (> 60%). Remarkably, *de novo SHANK3* mutations were also detected in patients with schizophrenia and bipolar disorders, but the prevalence of these mutations remains to be better estimated. In order to develop better diagnostic and new treatments, our collaborative groups investigate SHANKOPATHIES from patients to mouse models.

Results: For patients carrying SHANK3 point mutations or 22q13.3 deletions, we first hypothesized that their symptom heterogeneity could be due to additional mutations. We therefore performed the whole genome sequence (WGS) of 25 patients with *SHANK3* point mutations/deletions. This pilot study on a relatively small sample could already identify multiple hits including one patient with a *de novo* mutation of the *MED13L* gene. The complete list of the most relevant multiple hits as well as the computation of the polygenic scores of the patients for ASD will be presented. We then characterized the behavior of the *Shank3* mutant mice at 3, 8 and 12 months of age. The male and the female mice display excessive grooming that exacerbates with the aging of the animal. RNAseq performed on different brain regions of adult male mice revealed that while the cortex, the hippocampus and the cerebellum display few genes differentially expressed, the striatum displays a massive change of its transcriptome. The genes differentially expressed will be presented and their role on the excessive grooming of the mice will be discussed. Finally, we will present the framework of a new clinical trial that will be launched in 2020 using lithium in patients with autism carrying SHANK3 point mutations/deletions.

Conclusion: Our collaborative group investigate SHANKOPATHIES at different levels from genes to clinical trials and a website to share the data with the scientific and medical community will be soon available. We are now extending this study to other European countries to increase the statistical power and to identify knowledge-based treatments for SHANKOPATHIES. More information to join the collaborative group can be found here: <https://research.pasteur.fr/fr/project/phelan-mcdermid-syndrome-from-mechanisms-to-treatments/>

#19926 : Etat des lieux sur la communication des résultats génétiques en prénatal concernant le conseil génétique du fœtus

Auteurs :

Virginie DORIAN (1), Cécile ZORDAN (1)

1. Service de Génétique médicale, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France

Mots clefs : diagnostic prénatal, conseil génétique, consensus, résultats, CPDPN

Résumé :

La communication des résultats génétiques issus d'un diagnostic prénatal et ayant un impact uniquement sur le conseil génétique du fœtus, peut varier d'un service de génétique à l'autre. Nous avons mené une étude pour dresser un état des lieux. Un questionnaire électronique a été adressé à l'ensemble des conseillers en génétique français pour les interroger sur leurs pratiques concernant le rendu de résultat de diagnostic prénatal (DPN) réalisé dans le cadre d'un risque de maladie monogénique ou chromosomique chez le fœtus. Nous avons ainsi pu obtenir les réponses de 39 conseillers en génétique exerçant dans 27 Centres Pluridisciplinaires de Diagnostic Prénatal (CPDPN) différents (sur 49 CPDPN français au total). Lors d'un DPN de maladie génétique autosomique récessive, 74% des conseillers en génétique interrogés (représentant 74% des CPDPN ayant répondu) communiquent le statut génétique d'hétérozygotie du fœtus. Dans le cadre d'un DPN pour recherche d'une translocation/inversion chromosomique familiale, si le fœtus a une formule chromosomique équilibrée, 80% des conseillers en génétique (82% des CPDPN) communiquent le statut du fœtus vis-à-vis de la translocation/inversion équilibrée. Lors d'un DPN pour syndrome de l'X fragile, 74% des conseillers en génétique (74% des CPDPN) communiquent au couple le statut du fœtus vis-à-vis de la prémutation. Enfin, lors d'un DPN pour signe(s) d'appel échographique(s), pour 44% des conseillers en génétique (soit 33% des CPDPN), les variants de signification inconnue identifiés sont communiqués aux couples. Ce travail a permis un état des lieux sur les pratiques en France concernant la communication de ces résultats génétiques qui n'ont pas d'impact sur l'évolution de la grossesse, mais uniquement sur le conseil génétique futur du fœtus. Nous exposerons les arguments de ces différentes positions (conseil génétique du futur enfant, résultat complet noté sur le compte-rendu du laboratoire vs. autonomie du futur enfant et absence d'indication médicale). Les résultats de cette étude pourraient permettre une réflexion nationale et un consensus pour une prise en charge homogène des couples sur le territoire français.

Pièce jointe : Etat des lieux sur la communication des résultats génétiques en prénatal concernant le conseil génétique du fœtus.docx

#19742 : Spectre phénotypique cutané vasculaire et extra-cutané des mutations GNAQ/GNA11 en mosaïque

Auteurs :

Maud Jordan (1), Arthur Sorlin (2), Paul Kuentz (3, 4), Juliette Albuissou (5), Luca Borradori (6), Emmanuelle Bourrat (7), Odile Boute (8), Nenad Bukvic (9), Anne-Claire Bursztejn (10), Christine Chiaverini (11), Bruno Delobel (12), Marine Fournet (13), Jehanne Martel (14), Alice Goldenberg (15), Smail Hadj-Rabia (16), Antoine Mahé (17), Annabel Maruani (18), Juliette Mazereeuw-Hautier (19), Cyril Mignot (20), Fanny Morice-Picard (13), Marie-Laure Moutard (21), Florence Petit (22), Justine Pasteur (23), Alice Phan (24), Sandra Whalen (25), Marjolaine Willems (26), Christophe Philippe (27), Pierre Vabres (2, 28)

1. Service de dermatologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
2. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, INSERM 1231, Université de Bourgogne-franche-comté, CHU Dijon, 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. Département de Biologie et Pathologie des Tumeurs, CGFL, Dijon, France
6. Service de dermatologie, Hôpital universitaire de Berne, Berne, Suisse
7. Service de dermatologie, CHU Paris-GH St-Louis Lariboisière, Paris, France
8. Clinique de Génétique, CHRU Lille, Lille, France
9. service de génétique, Hôpital universitaire de Bari, Bari, Italie
10. Service de dermatologie, CHRU de Nancy, Nancy, France
11. Service de dermatologie, CHU de Nice, Nice, France
12. Service de génétique médicale et cytogénétique, GH de l'Institut Catholique de Lille, Lille, France
13. Service de dermatologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
14. Centre de référence MAGEC Mosaïque, CHU Dijon, Dijon, France
15. service de génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
16. Centre de référence MAGEC et service de dermatologie, Hôpital Necker, APHP, Paris, France
17. Service de dermatologie, CH de Colmar, Colmar, France
18. Service de dermatologie, CHRU Trousseau - Chambray, Tours, France
19. Service de dermatologie, CHU Toulouse, Toulouse, France
20. Service de Génétique clinique et Médicale, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
21. Service de Neuropédiatrie - Unité de neuropédiatrie et pathologie du développement, CHU Paris Est - Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, APHP, Paris, France
22. Clinique de Génétique "Guy Fontaine" - Centre de référence CLAD, CHRU Lille, Lille, France
23. Service de dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France
24. Service de Néphrologie Rhumatologie Dermatologie, HCL Lyon, Lyon, France
25. Service de Génétique clinique et Médicale, CHU Paris Est - Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, APHP, Paris, France
26. service de génétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
27. 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
28. centre de référence MAGEC Dijon Mosaïque, service de dermatologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : mosaïques, protéines G hétérotrimériques, malformations capillaires cutanées

Résumé :

Les mutations post-zygotiques de *GNAQ/GNA11* codant la sous-unité alpha des protéines G hétérotrimériques sont associées à des anomalies vasculaires ou pigmentaires du développement cutané. Nous avons rétrospectivement caractérisé le phénotype de 32 patients porteurs de malformations capillaires cutanées (MCC) et d'une mutation post-zygotique de *GNA11* ou *GNAQ* en peau atteinte, d'après les données cliniques, les photographies, et un questionnaire standardisé. Les MCC ont été réparties en : angiome plan (rouge vif), nævus roseus (rose pâle), cutis marmorata (réticulé), et nævus anémique. Les patients avec anomalies vasculaire et pigmentaires (phacomatose pigmento-vasculaire, PPV), ont été répartis dans un des trois types de PPV définis par Happle. Les patients avec anomalies vasculaires et asymétrie des membres (hyper/hypotrophie) ont été répartis dans l'un des six types définis par Oduber et al. L'association entre ces phénotypes et les mutations *GNAQ* ou *GNA11* a été analysée par un test de Fisher bilatéral.

Les mutations *GNAQ* (20/32) étaient un peu plus fréquentes que les mutations *GNA11* (12/32). Les angiomes plans, l'hypertrophie segmentaire homolatérale, les dilatations variqueuses (avec souvent thromboses veineuses profondes) et la macrocéphalie étaient préférentiellement associés aux mutations *GNAQ*, tandis que la cutis marmorata, les nævus anémiques, et l'hypotrophie homolatérale étaient préférentiellement associés aux mutations *GNA11*. Les anomalies pigmentaires étaient associées au phénotype mais pas au gène muté. L'hypertrophie segmentaire associée aux mutations *GNAQ/GNA11* était plus harmonieuse et moins marquée que dans le spectre hypertrophique associé à *PIK3CA* (PROS). Les mutations *GNAQ/GNA11* n'étaient pas corrélées aux catégories cliniques de la classification d'Oduber et al., les patients se répartissant dans quatre des six sous-types, ou ne pouvant être catégorisés. Les autres atteintes extra-cutanées étaient l'atteinte oculaire ou neurologique du syndrome de Sturge-Weber, sans association préférentielle avec les mutations *GNAQ* ou *GNA11*, et l'hypertension artérielle avec anomalies rénales, qui n'avaient jamais été rapportées en association avec les mutations *GNAQ/GNA11*.

#20501 : Caractérisation cytogénétique conventionnelle et moléculaire d'une duplication interstitielle distale du bras long du chromosome 15

Auteurs :

Amira Benzarti (1), Sarra Dimassi (1), Ayda Bennour (1), Yasmine Elayeb (1), Lamia Boughammoura (2), Soumaya Mougou-Zerelli (1), Ali Saad (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

2. Service de pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Mots clefs : Chromosome 15, duplication interstitielle, CGH-array, FISH, Dysmorphie faciale

Résumé :

La duplication interstitielle du bras long du chromosome 15 est une anomalie rare. Elle inclut généralement un retard de croissance, une déficience intellectuelle, des malformations crânio-faciale, des anomalies des membres, des anomalies génitales et des malformations cardiaques.

Nous rapportons le cas d'un nourrisson âgé de 10 mois présentant un retard psychomoteur (RPM), un retard staturo-pondéral (RSP), une microcéphalie, une dysmorphie faciale (DF), des pieds bots, et une hydrocéphalie.

Le caryotype en bande R a révélé un dérivé du chromosome 15. La FISH moyennant les sondes des gènes *SNRPN*, *PML*, *IGF1R* a montré une duplication distale 15q impliquant le gène *PML* en 15q24 et excluant le gène *SNRPN* en 15q11 et le gène *IGF1R* en 15q26. La CGH array (44K) a permis de bien délimiter la duplication à 22Mb de 15q22.2 à 15q25.1. La duplication est apparue *de novo*. Aucune anomalie chromosomique n'a été mise en évidence chez les parents.

La duplication 15q interstitielle retrouvée couvre 165 gènes OMIM dont les gènes: LINGO1 connu impliqué dans la signalisation cellulaire, l'inhibition de la régénération axonale, la régulation négative de la différenciation des oligodendrocytes et la myélinisation axonale, et dans le développement cortical, décrit associé au RPM, à la DF et au retard du langage. Le gène MTHFS est connu impliqué dans le métabolisme des folates, et associé à la microcéphalie, au RPM et au retard statural. Le gène SCAPER a déjà été décrit responsable du RPM.

La caractérisation du tableau clinique associé à cette duplication 15q chez notre patient nécessite un suivi rapproché étant donné son jeune âge. La duplication 15q distale est une anomalie chromosomique très rare, le plus souvent secondaire à une translocation parentale. L'apparition *de novo* de cette duplication 15q distale chez notre cas index ainsi que son caractère interstitiel rendent compte de la particularité de cette anomalie chromosomique. Un complément d'exploration est en cours pour caractériser la mécanique chromosomique pouvant être responsable d'un tel remaniement.

Pièce jointe : Caractérisation cytogénétique conventionnelle et moléculaire d'une duplication interstitielle distale du bras long du chromosome 15.docx

#20472 : Le séquençage de l'exome pour le diagnostic des anomalies de développement chez 110 patients lyonnais dans le cadre du protocole FIND**Auteurs :**

Marie Faoucher (1), Claire Goursaud (2), Nicolas Chatron (1, 3), Audrey Labalme (1), Marianne Till (4), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (4), Audrey Putoux (4), Linda Pons (4), Massimiliano Rossi (4), Thibault Armand (4), Sophie Dupuis-Girod (4), Adrien Buisson (5), Qing Wang (5), Alexandre Janin (6), Gilles Millat (6), Mathilde Frétigny (7), Cécile Aquaviva-bourdain (8), David Cheillan (2), Delphine Mallet (2), Véronique Tardy (2), Rita Menassa (9), Patrick Edery (1, 3), Damien Sanlaville (1, 3), Gaëtan Lesca (1, 3)

1. Service de génétique médicale, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, UM Pathologies Endocriniennes Rénales Musculaires et Mucoviscidose, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. , Université Claude Bernard Lyon1, Lyon, France
4. Service de Génétique médicale, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. Département de Biopathologie, UF biologie des Tumeurs, Centre Léon-Bérard, Lyon, France
6. Laboratoire de Cardiogénétique moléculaire, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
7. Service d'Hématologie Biologique, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
8. Service de Biochimie & Biologie Moléculaire, UF Maladie Héréditaires de Métabolisme, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
9. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, UM Pathologies Endocriniennes Rénales Musculaires et Mucoviscidose, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, anomalie du développement, séquençage de l'exome, diagnostique primaire, données non sollicitées, CNV

Résumé :

Les anomalies du développement et la déficience intellectuelle (AD/DI) concernent environ 3 % de la population. L'arrivée du séquençage de l'exome a permis d'augmenter le taux diagnostique en mettant en évidence des variants nucléotidiques (SNV) pathogènes dans des gènes impliqués dans ces pathologies. Bien qu'encore délicate, l'analyse de variation du nombre de copie (CVN) est en cours de développement à partir des données de l'exome. En plus du diagnostic primaire, le séquençage de l'exome permet également de détecter des données dites « non sollicitées » (DNS) pouvant donner lieu à des actions préventives et/ou curatives.

110 patients des Hospices Civils de Lyon porteurs d'AD/DI inclus dans le protocole FIND ont bénéficié d'un séquençage de l'exome en trio avec d'une part une évaluation du taux diagnostique de cette approche et d'autre part une évaluation du nombre de DNS. Les exomes ont été réalisés avec le kit MedExome Roche sur un séquenceur NextSeq500 (Illumina)(2*150pb).

Concernant l'analyse des données primaires, le taux diagnostique était de 35.5%. Quarante variants expliquant le phénotype des patients ont été détectés chez 39 patients dans les gènes suivant : *ARID1B*, *BCL11A*, *CAMK2A*, *CDK13*2*, *CYFIP2*, *DYRK1A*, *DDX3X*, *DSP*, *EFTUD2*, *GNB1*, *GNB5*, *GRM1*, *GRIN2B*, *HEXA*, *HUWE1*, *KANSL1*, *KCNQ5*, *KMT2B*, *LRIG2*, *MED13L*, *MORC2*, *MTOR*, *NCKAP1*, *PACS1*, *PC*, *PCGF2*, *PIGC*, *PORCN*, *PPP2R5D*, *RAC1*, *RAPSN*, *SLTRK6*, *STAG1*, *TCF4*, *TRRAP*, *WDR45*2* et *ZMYND11*. De plus, 3 CNV pathogènes ont été retenus. Ils étaient initialement classés comme variants de signification indéterminées lors de l'analyse par CGH-array et ont été reclassés en CNV pathogènes à la suite de la réévaluation récente de la bibliographie. Concernant les DNS, 15 variants pathogènes ont été mis en évidence chez 14 patients (12.7%). Ces variants concernaient les gènes actionnables *TNNI3*, *LDLR*, *FBN1*, *PROC* et *SERPINC1*, les gènes de *HFE* (5 porteurs hétérozygote du variants p.(Cys282Tyr)) et *CFTR*. Quatre patients étaient porteurs de variants pathogènes dans les gènes de pharmacogénétique *CYP2C9* et *CYP2C19* responsable d'un phénotype de « métaboliseur lent ».

Le taux diagnostique de l'exome concernant l'analyse des SNV dans notre cohorte correspond au taux décrit dans la littérature (36%). L'analyse des DNS permettra d'adapter la prise en charge des patients et de leur apparentés. L'analyse des CNV est efficace sur les données de l'exome et a permis de retrouver tous les CNV des patients détectés au préalable en CGH-array et de les reclasser après réévaluation de la bibliographie. A l'avenir, le séquençage de l'exome devrait devenir l'examen de première intention pour l'exploration génétique des AD/DI puisqu'il permettra à la fois d'analyser les SNV et les CNV d'un patient. En France, le Plan France Médecine Génomique 2025, permettra, lorsque les AD/DI deviendront une préindication, le séquençage du génome entier de ces patients.

Pièce jointe : Abstract_Marie_Faoucher.docx

#20113 : Consultations de génétique médicale en milieu carcéral: bilan, enjeux et perspectives.**Auteurs :**

Solène Conrad (1), Chloé GOUBIN (2), Frederique DUFOUR (2), Stéphane Béziau (1, 3), Benjamin Cogné (1, 3), Bertrand Isidor (1, 3)

1. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Unités Sanitaires en Milieu Pénitentiaire UCSA, CHU Nantes, Nantes, France
3. L'Institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France

Mots clefs : prison, génétique, déficience intellectuelle, troubles psychiatriques, troubles du comportement, éthique

Résumé :

La population carcérale se caractérise par une très forte prévalence de troubles psychiatriques, estimée à 80%. Les troubles anxieux apparaissent les plus fréquents (56%), suivis des troubles thymiques (47%), de la dépendance aux substances psychoactives et/ou à l'alcool (34%), du trouble de la personnalité antisociale (28%) et des troubles psychotiques (24%) dont 7% de schizophrénies (Enquête de prévalence sur les troubles psychiatriques en milieu carcéral - Rapport CEMKA-Eval 2004). Ces troubles psychiatriques peuvent être associés à des troubles cognitifs et il semblerait qu'il y ait une surreprésentation d'individus atteints de déficience intellectuelle (DI) en milieu carcéral. Actuellement, la cause de ces troubles n'est souvent pas recherchée et à notre connaissance aucune étude ne s'est intéressée à identifier des maladies génétiques rares, monogéniques, au sein de cette population.

Nous rapportons ici, à notre connaissance, la mise en place de la 1^{ère} série de consultations de génétique en milieu carcéral en France, chez des patients présentant des troubles cognitifs associés à des troubles psychiatriques. Sur quatorze individus rencontrés (douze hommes et deux femmes), six d'entre eux présentaient une DI légère et six présentaient des difficultés d'apprentissage. La majorité des patients souffraient également de troubles psychiatriques, notamment de troubles psychotiques (7/14) et de conduites addictives (6/14). Trois patients présentaient une dysmorphie faciale et/ou des anomalies des extrémités. Au total, neuf patients ont bénéficié d'une analyse par puce chromosomique et d'une recherche du syndrome de l'X-fragile. Nous avons mis en évidence des gains de matériel chromosomique de signification indéterminée, chez 2 individus (dup16p12.3p12.2 (2,4Mb) + dup22q11.21q11.22 (1,1 Mb) et dupXp22.2 (495kb)). Le séquençage de l'exome qui a été réalisé chez deux patients, a mis en évidence un variant *EHMT1* (NM_024757:c.1248+1G>A,p.(?)) de classe 3 et un variant perte de fonction qui sera étudié dans le cadre de la recherche.

D'après notre expérience, il nous semble qu'une part non négligeable d'individus incarcérés présentant des troubles cognitifs et des troubles psychiatriques, pourraient être atteints de maladies génétiques rares. Le contexte de l'incarcération et les difficultés d'interprétation des variants, le plus souvent liées à l'impossibilité d'établir la ségrégation familiale, nous interrogent quant à la légitimité de proposer ces consultations. L'identification d'un diagnostic étiologique pourrait permettre une meilleure orientation par les équipes médicales. Néanmoins la découverte d'un déterminisme génétique pourrait également avoir des répercussions judiciaires variables, voire opposées. Ainsi la mise en place de ce type de consultations et la découverte de variants potentiellement impliqués dans les troubles du comportement posent de nombreuses questions sur le plan éthique et juridique.

Pièce jointe : Abstract_genetique_milieu_carceral_final.docx

#20418 : Etude des différents transcrits BCR-ABL avec une RT-PCR multiplex chez des patients marocains (à propos de 110 cas)**Auteurs :**

Hajar AZAMI IDRISSE (1), Laila BOUGUENOUGH (1), Badreddine EL MAKHZEN (1), Rhizlane BERRADY (2), Zineb KHAMMAR (2), HANANE BENCHAKROUNE (3), Kaoutar MELIANI (4), Mohammed EL AZAMI EL IDRISSE (5), Karim OULDIM (1)

1. Unité de Génétique Médicale et Onco-génétique CHU Hassan II Fès, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, Fes, Maroc
2. Service de médecine interne et onco-hématologie CHU Hassan II Fès, CHU Hassan II Fès, Fes, Maroc
3. Service d'hématologie, CHR, Fès, Maroc, CHU Hassan II Fès, Fes, Maroc
4. Service de médecine interne et onco-hématologie CHU Hassan II Fès, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, Fes, Maroc
5. Laboratoire de Biologie Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, Fes, Maroc

Mots clefs : Leucémie myéloïde chronique, Gene de fusion BCR-ABL, RT-PCR multiplex

Résumé :

Le produit principal de la translocation t (9, 22) (q34, q11) est le gène hybride BCR-ABL caractéristique de la leucémie myéloïde chronique.

Depuis quinze ans la prise en charge diagnostique et thérapeutique de la leucémie myéloïde chronique (LMC) a été basculée. La compréhension moléculaire de la leucémie et la possibilité d'avoir des thérapies ciblées agissant sur le dysfonctionnement moléculaire propre à cette maladie ont amélioré le devenir des patients, et malgré que l'OMS estime les leucémies à 250000 cas par an dans le monde, elle considère que ces cancers présentent des taux de guérison élevés s'ils sont traités correctement.

La PCR multiplex est une technique simple, économique et rapide qui permet la détection spécifique et simultanée des différents variants de BCR-ABL. La présence de ces transcrits associés à la LMC peut aider au pronostic et au traitement de la maladie.

Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude moléculaire à travers l'analyse des variants du gène de fusion BCR-ABL chez 110 patients suivis au services de pédiatrie et de médecine interne du CHU HASSAN II de Fès, et aussi au service d'hématologie, CHR de Fès. Cette étude a permis de confirmer le diagnostic de la LMC aussi bien que les données de la littérature, en montrant un taux de transcrit de fusion de type b3a2 (59%) plus élevé que celui de type b2a2 (41%). Ceci prouve le besoin de rendre systématique au diagnostic, la recherche des transcrits BCR-ABL par RT-PCR multiplex, afin d'avoir des données suffisamment informatives permettant donc de bien choisir les amorces spécifiques pour le suivi ultérieur de la réponse moléculaire sous traitement. D'un point de vue pratique, cette technique a d'énormes avantages par rapport à la RT-PCR conventionnelle notamment en termes de gain de temps de réalisation.

Mots clés : Leucémie myéloïde chronique, Gène de fusion BCR-ABL, RT-PCR multiplex.

Pièce jointe : ABSTRACT Assises.pdf

#20581 : Arthrogrypose autosomique récessive liée aux variants du gène ECEL1 : caractérisation du spectre phénotypique et mécanismes physiopathologiques.**Auteurs :**

Xénia Latypova (1), Pauline Le Tanno (2), Brice Poreau (2), John Rendu (1), Marie Godmer (3), Sabine Sigaudy (4), Sophie Scheidecker (5), Cyril Gitiaux (6), Viorica Ciorna (7), Florence Petit (8), Raul Juntas Morales (9), Isabelle Marty (10), Julien Fauré (1), Klaus Dieterich (2)

1. Biochimie Génétique et Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble Alpes, Grenoble, France
2. Département de Génétique et Procréation, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble Alpes, Grenoble, France
3. Médecine physique et réadaptation, Centre Romans-ferrari, Miribel, France
4. Unité de génétique clinique prénatale, Département de génétique médicale, Marseille, France
5. Service de génétique médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Neurologie, Hôpital Universitaire Necker Enfants Malades, Paris, France
7. Service de génétique, CHR Metz-Thionville, Metz, France
8. Clinique de Génétique, CHRU de Lille, Lille, France
9. Département de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier, Montpellier, France
10. Inserm U1216, Grenoble Institut des Neurosciences, Grenoble, France

Mots clefs : ECEL1, arthrogrypose

Résumé :

Les variants de la neuropeptidase *endothelin converting enzyme like 1 (ECEL1)* sont associés à une forme autosomique récessive d'arthrogrypose distale. Les principaux signes cliniques comprennent une amyotrophie des membres inférieurs avec limitation de la flexion des genoux, associée à une scoliose, une camptodactylie, une amyotrophie linguale, des signes ophtalmologiques dont le ptosis et la lagophtalmie, ainsi qu'à un syndrome restrictif pulmonaire. A partir de l'analyse des données phénotypiques chez 23 familles, nous décrivons le spectre clinique associé aux variants du gène *ECEL1*. Nous discutons des relations génotype-phénotype et rapportons cinq variants non décrits dans la littérature. Afin de déterminer la pathogénicité des variants de signification inconnue et apporter des éléments physiopathologiques, nous utilisons un test d'activité *in vitro* avec *ECEL1* recombinant en parallèle d'études de localisation cellulaire de la protéine. La quantification de l'activité neuropeptidase permet de montrer une diminution de l'activité enzymatique pour le variant récurrent p.(Cys760Arg). A travers la description clinique, l'analyse de données d'imagerie musculaire et l'étude moléculaire, nous caractérisons ainsi le phénotype associé à l'arthrogrypose liée aux variants du gène *ECEL1*.

#20249 : Génotypage RHD fœtal non invasif sur sang maternel au laboratoire de l'EFS AURA, site de LYON-GHE : 9 ans d'expérience et évolutions

Auteurs :

Emmanuelle GUINCHARD (1), Corinne CHABRE (1), Sophie COLLIARD (1), Sandrine MONNIER (2), Christine TROTEL (2), Chloé MARTHINET (2), Sandrine GROLLEAU (2)

1. laboratoire immuno-hématologie Lyon-GHE, EFS AURA, BRON, France

2. laboratoire immuno-hématologie Lyon-GHE, EFS AURA, Bron, France

Mots clefs : DPNI, RHD, fœtal

Résumé :

La découverte d'ADN fœtal dans le plasma maternel par l'équipe de Lo en 1999 a permis au début des années 2000 de développer le génotypage *RHD* fœtal sur plasma maternel. Cet examen permet de déterminer de manière non invasive chez une patiente RH:-1 si son fœtus est porteur du gène *RHD* ou non. Ce test trouve 2 indications durant la grossesse: en cas d'allo-immunisation anti-RH1 afin de déterminer le risque de maladie hémolytique chez le fœtus s'il porte l'antigène érythrocytaire RH1correspondant; ce test permet dans ce cas de guider la surveillance de la grossesse. Chez les patientes non allo-immunisées, ce test permet de poser l'indication de l'immunothérapie anti-RH1 à 28 semaines ou lors des situations à risque décrites dans les préconisations du CNGOF en 2005, révisées en 2017.

Ce test est proposé par le laboratoire depuis 2010 utilisant initialement la technique mise au point par JM Minon et coll. (Liège, Belgique) puis la trousse commerciale marquée CE commercialisée par J Boy. Le laboratoire a été accrédité par le COFRAC pour cette analyse la première fois en 2013.

L'augmentation régulière du volume d'analyses depuis la mise à la nomenclature en juillet 2017 incite à une plus grande standardisation dans la réalisation technique afin de mieux répondre aux nouvelles demandes. Parallèlement, la nouvelle réglementation parue début 2018 dans le domaine des examens de diagnostic anténatal exige une mise en conformité de la part des laboratoires et des biologistes.

#19796 : Marqueurs chromosomiques surnuméraires multiples (sSMCs) : présence inattendue de trois marqueurs dans un bilan de procréation médicale assistée (PMA)

Auteurs :

Dorothee REBOUL (1), Cécile ARNOULD (1), Christine DAUTHEVILLE-GUIBAL (1), Mireille AUDEMA (1), yuliya PETROV (1), jean CHIESA (1), Thierry LAVABRE-BERTRAND (1)

1. laboratoire de Cytologie clinique et Cytogénétique, CHU Carémeau, NIMES CEDEX, France

Mots clefs : sSMCs multiples, insuffisance ovarienne précoce, ACPA, FISH, caryotype

Résumé :

Une patiente de 38 ans est adressée en conseil génétique devant un caryotype anormal 48,XX, +mar1,mar2[22]/47,XX, mar[16]/49,XX,+mar1,mar2,mar3[6]/46,XX[7] réalisé après un premier échec de FIV.

Le couple avait été retenu en PMA pour une infertilité mixte : insuffisance ovarienne précoce (IOP) chez la patiente et azoospermie par microdélétion du chromosome Y chez le conjoint. L'infertilité féminine est secondaire (naissance d'une fille à l'âge de 24 ans et d'un garçon à 32 ans, avec deux premiers partenaires).

Une ACPA réalisée chez la patiente confirme les anomalies caryotypiques par la présence attendue de plusieurs gains en mosaïque dans les régions péricentromériques des chromosomes 3, 8 et 21 avec respectivement une taille de 11Mb, 6,3Mb et 9,5Mb ainsi qu'un quatrième gain homogène de 1,6 Mb

en16p13.11: **arr[GRCh37] 3q11.1q13.11(93551618_104624848)x3[0.4],8p11.23p11.1(37073782_43396776)x3[0.6],16p13.11(14968855_16292235)x3,21q11.2q21.2(15347195_24924349)x3[0.5].**

Cette région 16p13.11 impliquant le gène NDE1 est un CNV (variation du nombre de copies) connu de susceptibilité à des troubles neurodéveloppementaux. La FISH méphasique précise la combinaison aléatoire des 3 sSMCs: 61 % mar(3)(XCE3+), 61 % mar(8)(XCE8+), 33% mar(21)(XCP21+) à côté des cellules normales (17%).

Un caryotype avec ACPA est alors réalisé chez le fils qui présente des difficultés scolaires et un antécédent d'hypospadias. Il n'a pas hérité des marqueurs maternels mais de la microduplication 16p13.11. Il est aussi porteur d'une microdélétion 16p11.2 proximale, ce qui explique le déficit cognitif.

Les sSMCs simplex sont relativement fréquents en postnatal (0,044 %) et dans les problèmes de fertilité (0,125 %)(1) alors que les sSMCs multiples (jusqu'à 7 sSMCs décrits) sont des événements rares (2) et associés à un phénotype pathologique (malformations, dysmorphies, retard de développement...).

Nous décrivons ici le premier cas d'une IOP associée à trois sSMCs avec un phénotype par ailleurs sans particularité (taille 1,65 m, IMC 26kg/m²,ménarche à 9,5 ans) et avec une scolarité niveau CAP/BEP). Rétrospectivement, un léger trouble cognitif est perceptible à la consultation.

On présume un lien entre l'IOP et la présence de ces trois sSMCs au regard de l'association fréquente entre infertilité féminine et présence d'un marqueur (3). La coexistence des sSMCs avec un phénotype subnormal pourrait s'expliquer en partie par l'absence de gènes connus comme étant « triplosensibles » dans les marqueurs et par une répartition tissulaire variable des cellules 46,XX.

Par ailleurs, la survenue de sSMCs multiples serait le résultat de processus complexes (chromotrypsis) (5) qui surviennent dans un contexte correctif de trisomies consécutives à des erreurs de ségrégations méiotiques affectant plusieurs chromosomes pendant la méiose I ou II (4). La présence des sSMCs *de novo* et d'une disomie uniparentale auraient confortées ce mécanisme chez cette patiente mais l'étude familiale n'a pas pu être réalisée.

Pièce jointe : bibliographie.docx

#20248 : Génotypage RHD fœtal non invasif sur sang maternel : optimisation du processus

Auteurs :

Emmanuelle GUINCHARD (1), Corinne CHABRE (1), Sophie COLLIARD (1), Sandrine MONNIER (2), Christine TROTEL (2), Chloé MARTHINET (2), Sandrine GROLLEAU (2)

1. laboratoire immuno-hématologie Lyon-GHE, EFS AURA, BRON, France

2. laboratoire immuno-hématologie Lyon-GHE, EFS AURA, Bron, France

Mots clefs : DPNI, RHD, fœtal

Résumé :

Le génotypage *RHD* fœtal sur sang maternel est une technique fiable et non invasive qui permet d'adapter la prévention de l'allo-immunisation anti-RH1 chez les femmes enceintes RH:-1 non immunisées, et d'optimiser la prise en charge obstétricale des femmes enceintes RH:-1 allo-immunisées. Cette méthode a été validée en l'adaptant aux contraintes logistiques et techniques rencontrées: extension du délai de traitement des échantillons à 5 jours après prélèvement, utilisation de tubes secs avec gel séparateur. La faible quantité d'ADN fœtal présent, ainsi que la présence d'ADN maternel en quantité supérieure à l'ADN fœtal, sont des limites de la méthode, impliquant lors de l'étape de validation des résultats la prise en compte de plusieurs critères (âge gestationnel, profil des courbes, homogénéité de l'amplification). Comme pour toute technique de biologie moléculaire, des procédures sont mises en place et doivent être strictement respectées pour éviter les contaminations inter-échantillons; de même, des témoins positif et négatif, un « blanc échantillon » et un gène contrôle sont inclus dans chaque série, et leurs résultats vérifiés avant validation des résultats des échantillons testés. Plusieurs étapes manuelles se succèdent au cours de l'étape analytique, chronophages et exposant à un risque de croisement des tubes : une méthode de travail rigoureuse comprenant plusieurs auto-contrôles sont systématiquement réalisés.

L'automatisation de toutes les étapes d'extraction et d'amplification de l'ADN serait

bénéfique au processus, gain de temps et sécurité.

#20596 : Détection des grands réarrangements somatiques des gènes BRCA1/2 dans les cancers épithéliaux de haut grade de l'ovaire en vue d'un traitement par un inhibiteur de PARP**Auteurs :**

Véronique Haddad (1)

1. Département de Biopathologie-UF de Biologie des Tumeurs, CENTRE LEON BERARD, LYON, France

Mots clefs : BRCA1, BRCA2, FFPE, somatique, grands réarrangements

Résumé :

Introduction: Le cancer de l'ovaire est la 5^{ème} cause de décès par cancer chez la femme avec environ 4400 nouveaux cas par an en France. Depuis 2016, l'arrivée dans l'arsenal thérapeutique des inhibiteurs de PARP s'adressant à des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire avancé et porteuses d'une mutation des gènes *BRCA* a imposé de rechercher les mutations de ces gènes dans les tumeurs ovariennes incluses en paraffine.

Environ 30% des carcinomes de l'ovaire sont associés à la présence d'une mutation dans la tumeur des gènes *BRCA*, soit d'origine constitutionnelle (20%) soit purement somatique (10%). La fréquence des grands réarrangements de *BRCA1/2* survenant dans ce contexte somatique n'est pas connue.

Afin de répondre à cet enjeu thérapeutique, nous avons mis en place et validé la détection des grands réarrangements en utilisant une stratégie de Séquençage de Nouvelle Génération basée sur la capture des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans les tumeurs de l'ovaire incluses en paraffine.

Matériel, population et méthodes: Après extraction de l'ADN des blocs inclus en FFPE, un enrichissement par capture a été réalisé à l'aide du kit mini-HRS (SOPHiA GENETICS, Suisse). Le séquençage a été réalisé sur un MiniSeq™ (Illumina, France) en paired-end 150 pb. Une étude de détection des CNVs (Copy Number Variations) a également été développée en deux approches : (i) normalisation simple des profondeurs de couverture issues des données de séquençage, et (ii) une confirmation par MLPA.

Cette première analyse a été réalisée de manière rétrospective sur 14 séries, chacune comprenant jusqu'à 12 échantillons dont 2 ADN contrôles inclus systématiquement. Au total, 117 échantillons ont été analysés.

Une amélioration du pipeline de détection des CNVs a été implémentée. Cette analyse a été réalisée sur les mêmes séries, puis en prospectif sur 70 nouvelles séries soit 610 échantillons.

Résultats: Une couverture complète de plus de 1000x des gènes est obtenue par cette approche. La sensibilité est de 83% (2 faux positifs) et la spécificité de 99,3%. L'analyse n'a pas pu être concluante dans 3% des cas (ADN trop dégradé). Tous les grands réarrangements d'origine constitutionnel ont été retrouvés (concordance 100%).

Discussion et conclusion: Nous avons pu mettre en place une méthode d'analyse permettant la détection des grands réarrangements constitutionnels et somatiques avec une très bonne sensibilité et spécificité. La fréquence des grands réarrangements somatiques est très importante (> 10%). Néanmoins, leur interprétation reste difficile.

#19916 : Diagnostic prénatal de la dysplasie de Desbuquois de type 1 par séquençage d'exome avant l'apparition de signes échographiques spécifiques.

Auteurs :

Clara Houdayer (1), Alban Ziegler (1), Françoise Boussion (2), Sophie Blesson (3), Céline Bris (1), Annick Toutain (3), Florence Biquard (2), Agnès Guichet (4), Dominique Bonneau (1), Estelle Colin (1)

1. Département de Biochimie et de Génétique, Centre Hospitalier et Universitaire d'Angers, Angers, France
2. Département de Gynécologie et d'Obstétrique, Centre Hospitalier et Universitaire d'Angers, Angers, France
3. Département de Génétique, Centre Hospitalier et Universitaire de Tours, Tours, France
4. Département de Génétique, Centre Hospitalier et Universitaire d'Angers, Angers, France

Mots clefs : Desbuquois, CANT1, exome, petite taille, luxations multiples.

Résumé :

Les ostéochondrodysplasies forment un groupe de pathologies héréditaires du tissu conjonctif, des os ou du cartilage qui entravent le développement osseux. Leur prévalence est d'environ 2 pour 10 000 naissances. Il existe une grande hétérogénéité génétique et phénotypique et on compte plus de 300 gènes responsables de plus de 450 maladies distinctes. L'une d'entre elles, la dysplasie de Desbuquois (DBQD), est une ostéochondrodysplasie osseuse rare caractérisée par un nanisme micromélique sévère, une laxité articulaire avec luxations multiples, une dysmorphie faciale et des caractéristiques radiographiques spécifiques. Le DBQD est une pathologie grave et parfois létale qui peut associer une déficience intellectuelle modérée à sévère au nanisme micromélique. Nous rapportons ici le cas d'un fœtus pour lequel le séquençage d'exome a permis de faire un diagnostic précoce de DBQD, et ce, avant l'apparition de signes échographiques caractéristiques. En effet, à 21 semaines d'aménorrhée, l'échographie a mis en évidence des paramètres biométriques inférieurs à -4 SD indiquant que le fœtus était très probablement atteint d'ostéochondrodysplasie mais ne permettant pas d'établir un diagnostic précis. L'analyse moléculaire par séquençage d'exome, a permis de mettre en évidence deux variants dans *CANT1*, le gène responsable de la DBQD de type 1. Les parents ont été informés du diagnostic de DBQD à un âge gestationnel de 24 semaines d'aménorrhée. Ce case report est, à notre connaissance, le premier pour lequel un diagnostic prénatal moléculaire de DBQD a pu être porté en l'absence d'antécédents familiaux et avant l'apparition de signes échographiques spécifiques. Il souligne l'utilité du séquençage prénatal de l'exome dans le diagnostic précoce de pathologies fœtales sévères.

Pièce jointe : Abstract assises 2020 communication flash.pdf

#19757 : Prédisposition génétique à la néphropathie diabétique: Rôle du polymorphisme Insertion / Délétion (I /D) du gène ACE dans une population de l'Est algérien

Auteurs :

Sabah Hanachi (1, 2), Karima Sifi (1, 2), khalida Boudaoud (3, 2), Salima Zekri (1), sara Houche (1), Hanane Houamel (1), Soumia Hassini (1), Karima Benembarek (1, 2), Noredine Abadi (1, 2)

1. laboratoire de biochimie, CHU Constantine, Constantine, Algérie

2. Laboratoire de biologie et génétique moléculaire, Faculté de médecine.Université Salah Boubnider Constantine 3, Constantine, Algérie

3. service d'endocrinologie, CHU Constantine, Constantine, Algérie

Mots clefs : Polymorphisme I/D, PCR, gène ACE, diabète, néphropathie diabétique.

Résumé :

Introduction

La néphropathie diabétique est la principale cause de la maladie rénale chronique et représente la complication la plus courante et la plus grave du diabète. La pathogénie exacte de cette maladie est complexe et non élucidée. Plusieurs facteurs et mécanismes contribuent au développement et à l'issue de la néphropathie diabétique. De nombreuses études ont été réalisées pour rechercher une éventuelle relation entre le polymorphisme I/D du gène ACE et la néphropathie diabétique mais les conclusions étaient controversées.

Objectifs

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'influence des différents facteurs de risque sur la survenue de cette maladie, de déterminer la prévalence du polymorphisme I/D chez les patients diabétiques avec et sans néphropathies et de rechercher une éventuelle corrélation entre ce polymorphisme et la néphropathie diabétique.

Patient et méthodes

Nous avons recruté à cet effet, 29 sujets diabétiques avec néphropathie et 30 témoins diabétiques sans néphropathie. Pour chaque sujet nous avons collecté des données cliniques par le biais d'un interrogatoire et la consultation du dossier médical; et réalisé des prélèvements sanguins pour le dosage des paramètres biologiques et l'étude génétique du polymorphisme I/D du gène ACE.

Résultats et discussion

L'âge moyen de nos malades est de $58,34 \pm 13,78$ ans ; 61.31 % sont des femmes. Celui des témoins est de **57.07 ± 10.51** ans ; 58.4% sont de sexe masculin.

La durée moyenne du diabète chez nos malades est de 19.21 ± 9.31 ans ; celle des témoins est de 10.67 ± 7.66 ans.

Le diabète de type 1 est plus fréquent chez les néphropathes par contre chez les témoins la fréquence du diabète de type 2 est plus importante.

Les complications macro-angiopathiques sont plus prévalentes chez les néphropathes. De plus l'association de 2 ou plusieurs complications est fréquemment retrouvée.

La prévalence de la neuropathie est significativement plus élevée chez les malades que chez les témoins.

Les fréquences des allèles I et D sont respectivement 13.79 % et 86.21 % chez les témoins alors que les fréquences alléliques chez les sujets avec néphropathie sont respectivement 19.64 % et 80.36 %. Aucune association significative entre ce polymorphisme et la néphropathie diabétiques n'a été démontrée.

Conclusion

Aucune corrélation n'a été retrouvée entre polymorphisme I/D du gène ACE et la néphropathie diabétique dans notre population d'étude. D'autres études sur des cohortes de taille suffisante seront nécessaires pour fournir une puissance statistique élevée et des résultats plus fiables.

Pièce jointe : abstract 1 assises de génétique 2020.docx

#20403 : Évaluation des méthodes d'extraction de l'ADN des échantillons de cancer colorectal inclus en paraffine (FFPE)**Auteurs :**

Hossam Hilal El Idrissi (1), Bouchaïb Gazzaz (2), Oum Kaltoum Ait Boujmia (3), Mehdi Karkouri (4), Hind Dehbi (1, 5)

1. Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc, CASABLANCA, Maroc
2. Institut d'analyse Génétique, Gendarmerie Royale, Rabat, Maroc
3. Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca-Maroc, CASABLANCA, Maroc
4. Laboratoire d'Anatomopathologie, CHU Ibn Rochd, CASABLANCA, Maroc
5. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd,, CASABLANCA, Maroc

Mots clefs : Formalin-fixed paraffin-embedded, Colorectal cancer, Extraction method, BCL-2, amplification.

Résumé :

DNA extraction from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue remains rough for researchers and specialized laboratory. Because, requires special protocols and factors. The aim of the current study was to compared method of extraction from FFPE obtained from Colorectal cancer patients (CRC) to choose better one in term of concentration, purity and amplification. Three methods of DNA extraction were tested: salting-out; Phenol-chlorophorm and EasyPure® commercial kit. PCR was used to amplified DNA yield. The best concentrations of DNA were obtained with salting-out (Protocol A) and Phenol-chlorophorm (Protocol B). Although, the bad purity was found in EasyPure® FFPE kit (Protocol C). Despite of this low quality, BCL-2 gene (154 bp) only in 2 of 18 patients (11.1%) from EasyPure® FFPE kit. For salting out and phenol chlorophorm was no amplification of this gene. Therefore, our study has clarified that the DNA extraction methods and FFPE tissues must be chosen with cautiously to avoid any problem with PCR caused by Fragmentation of DNA.

Pièce jointe : FFPE -PCR.docx

#20074 : Diagnostic génétique de la fièvre méditerranéenne familiale:à propos de 70 cas

Auteurs :

hanane sayel (1), hanane sayel (1), Meriame Abassi (2), oussama kettani (1), Mohamed Ahakoud (2), BADERDDINE EL MAKHZEN (3), ihssane elotmani (1), said trhanint (1), tarik SQUALLI HOUSSAINI (4, 5), laila bouguenouch (1, 5), karim ouldim (1, 6)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, fes, Maroc
2. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, CHU-Fes, fes, Maroc
3. génétique médicale et d'oncogénétique, Centre hospitalier universitaire HASSAN II, fès, Maroc
4. service de nephrologie, CHU Hassan II, fes, Maroc
5. faculté de medecine et pharmacie , université my abdellah.fes, fes, Maroc
6. faculté de medecine et pharmacie, université my abdellah.fes, fes, Maroc

Mots clefs : Maladie périodique, Fièvre méditerranéenne familiale, Gène MEFV, autosomique récessive

Résumé :

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.

Soixante dix malades appartenant à 48 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.

Une mutation a été détectée chez 31 patients (38 %) et aucune mutation n'a été détectée chez 39 patients (62%).

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.

Pièce jointe : Diagnostic génétique de la fièvre méditerranéenne familiale chez 70 malades.docx

#20541 : Description clinique et moléculaire de 2 familles atteintes de nystagmus congénital lié au gène *FRMD7*, un diagnostic différentiel d'albinisme oculaire**Auteurs :**

Vincent Michaud (1), Sabine Defoort-Dhellemmes (2), Isabelle Drumare-Bouvet (2), Pennamen Perrine (1), Claudio Plaisant (1), Eulalie Lasseaux (1), Benoit Arveiler (1)

1. Génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service d'exploration de la vision et neuro-ophtalmologie, CHRU de Lille, Lille, France

Mots clefs : Nystagmus congénital, Albinisme, *FRMD7*, Génétique moléculaire

Résumé :

Le nystagmus congénital est une des atteintes neuro-ophtalmologiques les plus fréquentes. Les formes liées à l'*X* sont associées à des variants pathogènes des gènes *GPR143* et *FRMD7*. Nous présentons deux familles initialement adressées pour diagnostic moléculaire d'albinisme oculaire. L'ADN des patients a été analysé par NGS comprenant un panel de gènes impliqués dans l'albinisme et pathologies associées (*TYR*, *OCA2*, *TYRP1*, *SLC45A2*, *SLC24A5*, *C10ORF11*, *GPR143*, *SLC38A8*, *HPS 1 to 10*, *LYST*, *MITF*, *FRMD7*). Un variant pathogène de *FRMD7* a été retrouvé chez tous les cas atteints et les femmes porteuses saines. On montre que l'atteinte chez les filles est due à un biais d'inactivation du chromosome *X*. En analysant tous les cas publiés, on discute la pénétrance variable chez les femmes en fonction du type de variant et de l'inactivation du chromosome *X*.

Pièce jointe : Poster Assises 2020.docx

#20042 : Comparaison des résultats d'analyse génétique en NGS versus séquençage Sanger dans une cohorte de 3487 cas index avec troubles du rythme cardiaque hors cardiomyopathies du ventricule gauche.**Auteurs :**

Véronique FRESSART (1, 2)

1. Unité Fonctionnelle de Cardiogénétique et Myogénétique Moléculaire et Cellulaire, Service de Biochimie Métabolique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière – Charles Foix, Paris, France
2. , Centre de Référence pour les Maladies Cardiaques Héritaires, Paris, France

Mots clefs : pathologie rythmique, NGS, capture, séquençage Sanger

Résumé :

Introduction : Les techniques d'analyse des anomalies génétiques impliquées dans les troubles du rythme cardiaque ont évolué ces dernières années avec le développement des techniques d'analyses par séquençage haut débit. Nous nous proposons de comparer les résultats obtenus par séquençage Sanger et par séquençage haut débit.

Méthodes : Les pathologies rythmiques (sans cardiopathie du VG) les plus fréquentes reçues au laboratoire sont les suivantes : syndrome du QT long congénital (QTL), syndrome du QT court (SQT), syndrome de Brugada et troubles de la conduction, tachycardies ventriculaires catécholaminergiques (TVC) et dysplasie arythmogène du ventricule droit (DVDA). L'analyse par séquençage Sanger a porté sur 2317 patients : 985 patients QTL, 9 patients SQT, 690 patients avec suspicion de syndrome de Brugada, et 633 patients porteurs de DVDA. L'analyse par séquençage haut débit a été réalisée chez 1170 patients : 380 patients QTL, 330 patients atteints de syndrome Brugada et ou trouble de conduction, 405 atteints ou suspect de DVDA et enfin 13 patients porteurs de SQT, 25 patients atteints de TVC et 17 présentant des troubles du rythme atriaux.

Résultats et conclusion : La comparaison des pourcentages de variants pathogènes identifiés montre que les rendements sont sensiblement identiques entre séquençage Sanger et NGS pour les gènes classiques du syndrome de QTL (34% de variants de classe 4/5 vs 35% respectivement), du Brugada (16% vs 17%), et de la DVDA (29% vs 28%). La technique de NGS a cependant plusieurs avantages : l'analyse est plus rapide permettant d'étudier 24 patients sur une période de 2 mois sur un nombre de gènes définis par pathologie dans le cadre de la filière Cardiogen. Elle permet également d'identifier des remaniements de grande taille (délétion, duplication concernant un ou plusieurs exons de gènes) (2.8% dans les QTL et 1.7% dans les DVDA identifiés). Enfin elle permet le diagnostic de formes plus complexes avec des doubles mutations ou des mutations sur des gènes plus rarement impliqués. Cependant, le nombre de variants de signification inconnue identifiés par ces techniques reste une difficulté et nécessite l'étude de ségrégation du variant dans les familles pour espérer statuer sur un éventuel rôle causal.

#19968 : Contribution à l'étude moléculaire du cancer du pancréas: recherche d'une possible association entre le polymorphisme G677T du gène MTHFR dans un échantillon de la population de l'ouest Algérien**Auteurs :**

MERIEM ABDI (1, 2), RYM KHADIDJA ABDERRAHMANE (1, 2), Naima Djabaria MEROUFEL (1, 2)

1. département de génétique moléculaire appliquée, Université des sciences et de la technologie Oran, oran, Algérie
2. Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, Université des sciences et de la technologie Oran, oran, Algérie

Mots clefs : Cancer du pancréas, MTHFR, C677T, PCR-RFLP, Ouest algérien

Résumé :

En Algérie, le cancer du pancréas présente un réel problème de santé publique. Les principaux facteurs de risque sont les facteurs environnementaux et génétiques. Plusieurs voies sont impliquées dans l'apparition du cancer du pancréas tel que la voie de métabolisme des folates. La MTHFR est une enzyme clé qui catalyse la conversion du 5,10 méthylènetetrahydrofolate en 5, méthyltetrahydrofolate et qui permet ainsi à l'homocystéine d'être reméthylé en méthionine et épurée de l'organisme.

L'objectif de la présente étude est de rechercher une éventuelle association entre le polymorphisme C677T du gène MTHFR et le développement du cancer du pancréas.

Cette étude est réalisée sur un total de 41 sujets, dont 23 témoins et 18 patients atteints du cancer du pancréas originaires de l'ouest algérien. L'exploration des différents génotypes du polymorphisme a été réalisée par PCR-RFLP. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les deux groupes de témoins et cas a été établie en utilisant les tests statistiques.

Les résultats de l'étude épidémiologiques montrent une nette prédominance masculine sur l'ensemble des sujets malades (Sexe ratio 1,25/1) et une fréquence maximale de survenue entre 50 et 70 ans.

L'analyse statistique montre qu'il n'existe aucune différence statistiquement significative de distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme C677T du gène MTHFR entre les cas et les témoins (OR=0.78, p=0.90). De même, le génotype groupé ne semble avoir aucune distribution significative entre les deux groupes (OR=1.09, p=0.86).

Les résultats obtenus restent préliminaires, il serait très important d'augmenter le nombre de cas à étudier et d'explorer d'autres polymorphismes du gène MTHFR pour une caractérisation génétique précise du cancer du pancréas dans la population de l'ouest algérien.

Pièce jointe : Abstract Assises Génétique Tours 2020.docx

#20312 : Les mutations du gène ACO2 représentent la deuxième cause, après OPA1, d'Atrophies Optiques héréditaires

Auteurs :

Majida CHARIF (1), Patrizia AMATI-BONNEAU (1), Pascal REYNIER (1), Dominique BONNEAU (1), Vincent PROCACCIO (1), Christophe Verny (2), Stéphanie LERUEZ (1), céline Bris (3), salim Khiati (4), Naig Gueguen (3), david Goudenège (3), Aranud Chevrollier (4), Valérie Desquiret-Dumas (3), Catherine Vignal (5), Xavier Zanolonghi (6), Sabine Defoort-Dhellemmes (7), Isabelle Drumare (7), Sylvie Odent (8), Hélène Dollfus (9), Isabelle MEUNIER (10), Guy LENAERS (1)

1. Equipe MitoLab, Institut MitoVasc, UMR CNRS 6015 INSERM 1083, Université d'Angers, Angers, France
2. neurologie, CHU d'Angers, Angers, France
3. Biochimie et Biologie moléculaire, CHU d'Angers, Angers, France
4. MitoLab UMR CNRS 6015, U1083 INSERM, Université d'Angers, Angers, France
5. service de neuro-ophtalmologie, Fondation Rothschild, Paris, France
6. Service d'Ophtalmologie, Clinique Jules Vernes, Nantes, France
7. service de neuro-ophtalmologie, Chru de Lille, Lille, France
8. génétique médicale, CHU de rennes, Rennes, France
9. Affections génétiques ophtalmologiques, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Génétique et thérapies des neuropathies optiques héréditaires, Institut des Neurosciences de Montpellier, U1051 de l'INSERM, Angers, France

Mots clefs : neuropathies optiques héréditaires, mitochondries, aconitase, cycle de Krebs

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 (AOD), essentiellement liée à des mutations dans le gène *OPA1*, et rarement dans les gènes *MFN2*, *AFG3L2*, *SPG7*, *OPA3* et *DNM1L*. 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 mutations pathogènes du génome mitochondrial.

Le séquençage par NGS d'une cohorte de 1300 patients atteints d'une NOH, nous a permis identifier des variants pathogènes du gène *ACO2*, dans 13 familles récessives et 53 familles dominantes.

Le gène *ACO2* code pour l'aconitase mitochondriale du cycle de Krebs, assurant l'isomérisation du citrate en isocitrate via le cis-aconitase. Des mutations récessives d'*ACO2* ont été rapportées chez des patients avec une encéphalopathie infantile précoce, une atteinte du nerf optique et une atrophie cérébelleuse et récemment, dans des NOH isolées et syndromiques.

L'étude *in silico* de la dynamique moléculaire d'*ACO2* a montré que les variants identifiés augmentent la stabilité de la protéine et diminue la flexibilité des acides aminés. L'analyse de fibroblastes des patients *ACO2* a révélé une diminution de la quantité de la protéine, de la quantité d'ADNmt et de l'activité d'aconitase, plus importante dans les formes récessives. L'étude de la respiration mitochondriale sur les fibroblastes et les cellules KO *ACO2* montre un blocage de la première partie du cycle de Krebs, sans atteinte de l'activité enzymatique des complexes de la chaîne respiratoire.

Ces résultats démontrent que le gène *ACO2* représente la 2^{ème} cause de NOH autosomiques, après le gène *OPA1*.

#20294 : Effet de l'implémentation pré-analytique de l'avis d'une réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) sur le rendement diagnostique d'un panel de gènes des maladies autoinflammatoires (MAIs)

Auteurs :

Cécile RITTORE (1), Guilaine BOURSIER (1), Muriel GUTIERREZ (1), Déborah MECHIN (1), Florian MILHAVET (1), Guillaume SARRABAY (1), Isabelle TOUITOU (1)

1. UMAI, CHU ADV, Montpellier, France

Mots clefs : Maladies autoinflammatoires (MAIs), Séquençage haut débit (SHD), Panel de gènes, Diagnostic génétique

Résumé :

Introduction

Les maladies autoinflammatoires monogéniques (MAIs) sont caractérisées par des mutations dans les gènes codant pour des protéines impliquées dans la régulation de l'immunité innée. Plus de 40 gènes ont été identifiés, notamment grâce au séquençage haut débit (SHD). Nous présentons ici les résultats de nos 4 années d'expérience d'utilisation d'un panel SHD comme diagnostic de routine pour les MAIs.

Objectif

Évaluer la performance diagnostique d'un panel de 55 gènes ciblant les MAIs et l'effet sur ce rendement de l'implémentation en pré-analytique d'une réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) nationale du centre de référence des MAIs rares et des amyloses (CeRéMAIA) pour valider l'indication de l'examen.

Méthode

Les ADN de 631 patients présentant des signes cliniques de MAIs (âgés de 3 mois à 79 ans) ont été séquencés entre septembre 2014 et janvier 2019. Un enrichissement par capture a été utilisé pour préparer les bibliothèques (Nextera-Illumina ou SureSelect-Agilent) avant un SHD sur une plateforme Illumina (MiSeq ou NextSeq500). Les mutations ont été classées en 5 classes selon la base de données Infevers des MAIs ou selon les recommandations de l'American College of Medical Genetics and Genomics. Les données épidémiologiques, les signes cliniques et les marqueurs biologiques ont été recueillis dans un formulaire requis lors de toute demande de diagnostic génétique. Avant mars 2018, toutes les prescriptions de panels de gènes MAIs étaient acceptées. Après cette date, un avis positif d'une RCP CeRéMAIA a été demandé pour valider l'indication de cet examen si le prescripteur n'est pas issu d'un centre de référence.

Résultats

Un diagnostic génétique a été confirmé chez 7% des patients. Ce résultat est similaire aux rendements récemment publiés dans les MAIs. Les gènes dans lesquels nous avons identifié le plus de variants pathogènes étaient *MEFV*, *MVK*, et *NLRP3*. Après mars 2018, le rendement diagnostique a été amélioré de 6% à 10% ($p=0.021$), tous prescripteurs confondus. Concernant les prescriptions non issues d'un centre de référence, il a été amélioré de 6% à 14% (NS) après validation de l'examen par une RCP CeRéMAIA.

Conclusion

Notre panel de gènes des MAIs présente un faible rendement diagnostique, déjà observé par ailleurs. L'une des raisons pourrait être la définition stricte que nous avons utilisée pour confirmer un diagnostic génétique. De plus, de nombreux gènes et mécanismes moléculaires de la physiopathologie des MAIs sont encore inconnus. Toutefois, notre étude montre pour la 1^{ère} fois l'amélioration du rendement diagnostique des MAIs grâce à un filtre clinique préalable. Cette stratégie incluant les experts des centres de références pourrait donc être encouragée notamment dans le contexte du développement des analyses pangénomiques en routine.

#19908 : Signification des variants génétiques à faible fraction allélique détectés par séquençage à haut débit dans le cadre du diagnostic moléculaire des prédispositions aux cancers du sein et de l'ovaire**Auteurs :**

Flavie Boulouard (1), Valentin Harter (2), Etienne Muller (3), Sophie Krieger (3, 4), Nicolas Goardon (3), Agathe Ricou (3), Edwige Kasper (5), Angéline Legros (1), Alexandre Atkinson (3), Thibaut Lavolé (3), Olivia Bruet (1), Céline Quesnelle (1), Chankannira San (1), Robin Fouillet (1), Pascaline Berthet (6), Dominique Vaur (3), Laurent Castéra (3)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
2. Centre de Traitement des données du cancéropole nord-ouest (CTD-CNO), CLRC 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, Caen, France
4. Université, Caen-Normandie, Caen, France
5. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
6. Service d'oncogénétique, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France

Mots clefs : Mosaïque, hématopoïèse clonale, ADN tumoral circulant, BRCA1, TP53, cancer du sein, cancer de l'ovaire

Résumé :

Le diagnostic des prédispositions aux cancers du sein et de l'ovaire est réalisé aujourd'hui par le séquençage haut débit d'un panel de 13 gènes (*BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *RAD51C/D*, *CDH1*, *PTEN*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM* et *TP53*). Régulièrement, des variants ayant une fraction allélique (ou VAF pour "variant allele fraction") faible sont détectés questionnant de la présence d'une néomutation en mosaïque pouvant conduire à des tests présymptomatiques dans la descendance du cas index. Cependant, ces variants de faible VAF peuvent être expliqués par deux autres événements acquis plus tardivement et non transmissibles : l'hématopoïèse clonale (HC) et l'ADN tumoral circulant (ADNtc). Pour déterminer l'origine de ces variants, une recherche des variants de faible VAF a été effectuée chez l'ensemble des cas index analysés au laboratoire durant environ un an dans le cadre d'une recherche de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire. La présence de ces variants a été vérifiée par séquençage NGS, Sanger ou SNaPshot® sur différents tissus disponibles tels que le sang, les cellules jugales et la tumeur. Par ailleurs, une vérification de la taille des fragments extraits du sang a été réalisée par TapeStation® afin d'évaluer une potentielle contamination par de l'ADNtc traduite par la détection de fragments de petite taille. Parmi les 2007 cas index analysés, 20 patients porteurs d'un variant potentiellement pathogène présentant une VAF faible ont été détectés. Un cas exceptionnel de variant en mosaïque de *BRCA1* a été documenté chez une patiente ayant présenté un cancer de l'ovaire à 49 ans. La présence d'ADNtc a été démontrée chez une patiente atteinte d'un cancer du colon porteuse d'un variant de *TP53* et de *PTEN* avec des VAF proches de 30 %. Pour les 18 autres patients présentant uniquement des variants de *TP53*, l'hypothèse privilégiée, dans la réserve de l'absence d'analyse sur la tumeur chez 9 d'entre elles, était l'HC. En effet, ces 18 patients ayant présenté des cancers du sein tardifs et des cancers de l'ovaire n'étaient pas évocateurs d'une variation pathogène constitutionnelle de *TP53*. De plus, ces patients étaient plus âgés (67,6 vs 55,7 ans ; $p < 0,001$) par rapport aux autres cas index analysés dans l'étude en cohérence avec la présence d'HC. Enfin, la proportion de cas atteints d'un cancer de l'ovaire par rapport aux cas atteints d'un cancer du sein était augmentée significativement chez les patients présentant un variant de *TP53* ($p < 0,001$). Cette étude met en évidence la complexité d'interpréter ces variants de faible VAF. Les états en mosaïque restent des événements rares qu'il faut démontrer par des analyses complémentaires avant de tester les descendants pour éviter les erreurs diagnostiques traumatisantes qu'induirait la présence d'une HC ou d'ADNtc particulièrement en cas de détection de variants fréquemment impliqués dans l'HC et en somatique tumorale tels que ceux qui concernent le gène *TP53*.

Pièce jointe : Mosaic-NGS_last.docx

**#19877 : The French OncoGenetic Database : FrOG, développement d'un outil d'échange et d'expertise des variants
génomiques pour l'oncogénétique**

Auteurs :

Laurent Castéra (1), Sandrine Caputo (2), Stéphanie Baert-Desurmont (3), Audoux Jérôme (4), Nicolas Philippe (4), Raphaël Lanos (3), Alexandre Atkinson (1), Thibaut Lavolé (1), Imene Chentli (1), Groupe Génétique et Cancer d'Unicancer (5)

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. Université Paris Sciences-Lettres, Service de Génétique,, Institut Curie, Paris, France
3. Unité de Génétique moléculaire, INSERM U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU, Rouen, France
4. C/IRMB, SeqOne S.A.S, Montpellier, France
5. groupe, UNICANCER, Paris, France

Mots clefs : Bases de données, expertise , variant génétique , échange

Résumé :

Le diagnostic moléculaire des prédispositions aux cancers repose sur le séquençage de panel de gènes explorant simultanément plusieurs syndromes. Afin de garantir une interprétation pertinente cliniquement, pour une prise en charge optimale et harmonisée au niveau national, il est aujourd'hui nécessaire de disposer d'un système de centralisation de tous les types de variants identifiés chez les patients et donc d'organiser le recueil et l'échange des informations génétiques de façon centralisée. Nous avons développé le logiciel libre FrOG en collaboration avec le groupe Génétique et Cancer (GGC) et la société SeqOne. FrOG a pour objectif de collecter les variants identifiés dans les laboratoires de diagnostic en oncogénétique dans une base de données multi-géniques, permettant leur annotation, curation et expertise.

FrOG s'articule autour d'une base de données « scalable » (permettant l'insertion de variants uniques à celle de .vcf complets d'individus), d'une API sécurisée et d'une interface web de curation/consultation. Aujourd'hui, FrOG, en version beta, permet la reprise des données du GGC après normalisation et ré-annotation par un pipeline bio-informatique dédié et paramétrable prévu pour permettre les mises à jour itératives. Actuellement, elle intègre 11288 variants annotés pouvant être appelés via un moteur de recherche. Les résultats de la recherche sont filtrables. L'interface présente les annotations dans des pages variants et propose de nombreux liens vers des bases généralistes ou d'experts externes définis selon le gène. Elle permet également une gestion de la bibliographie et la traçabilité des décisions d'expertise préfigurant un système expert de curation automatisable. Elle permet l'accès aux co-occurrences et aux données individuelles. Néanmoins les accès sont soumis à des droits, gérés par l'API, qui limitent et contrôlent les accès selon le profil de l'utilisateur.

A l'avenir, cet outil permettra la mise en relation de réseaux d'experts permettant la curation assistée par le système associée à des alertes de reclassification pour les utilisateurs. Ce système permettra une interconnexion à d'autres systèmes (nationaux et internationaux). La mise en production de ce système à l'échelle nationale sera portée par un consortium en cours de constitution, réunissant dans un premier temps les laboratoires membres du GGC et le GGC lui-même sous l'égide d'UNICANCER. Ce consortium veillera à la contractualisation des échanges de données, à leur usage dans le respect des contraintes réglementaires (RGPD, CNIL, hébergement des données de santé) et définira les règles de fonctionnement avec les partenaires publics et privés. Les bénéfices attendus sont la mise en place d'un système d'aide à l'interprétation adaptée aux approches multigéniques, une standardisation des interprétations au niveau national, une valorisation des données au niveau international et une meilleure diffusion des informations aux professionnels.

Pièce jointe : FrOG_assise2020.docx

#20055 : PythieVar : un outil collaboratif pour l'intégration des données génétique et clinique des maladies rares

Auteurs :

Mélissa N'Débi (1), Alexis Proust (2), Loïc Foussier (3, 4), Guillemette Beaudonnet (5), Anya Rothenbuhler (6), Agnès Linglart (6, 1), Jacques Young (4, 3), Alessia Usardi (1), Anne Guiochon-Mantel (2, 3), Jérôme Bouligand (2, 3), Christophe Habib (1), Bruno Francou (2, 3)

1. Plateforme d'Expertise Paris Sud Maladies Rares, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
2. Génétique Pharmacogénétique et Hormonologie, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
3. UMR S 1185 Inserm et Faculté de Médecine Université Paris Sud Paris-Saclay, Inserm, Le Kremlin Bicêtre, France
4. Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
5. Neurologie Adulte, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
6. Endocrinologie Pédiatrique, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France

Mots clefs : bioinformatique, NGS, base de données, maladies rares, clinique

Résumé :

Context:

Paris-Sud University Hospitals (HUPS) gather 20 reference centers for rare disorders (CRMrs). High throughput DNA sequencing is already commonly used but produces a great amount of data, genotypic and phenotypic. It remains a real challenge to distinguish genetic polymorphism from causative disease variants among hundreds of identified variants. We have developed a unique database gathering multiple phenotypic traits and genotypic data.

PythieVar database is designed to get a global and more accessible picture of genetic and clinical data in the field of rare disorders. The main purpose is to facilitate their diagnosis and allow the establishment of correlations between genotypes and phenotypes from heterogeneous and isolated patients followed by the experts of our reference centers.

Methods:

Genetic data are uploaded in the database with Variant Calling Files (VCFs). Expert clinicians add disease-specific clinical data for 6 groups of rare diseases. Employed phenotypic reference terms are obtained from HPO (Human Phenotype Ontology) and the Orphanet classification.

Results:

Over the last years, more than 3000 VCFs were analyzed in our laboratory and 1753 patients included into the PythieVar database. This represents a total of 492 sequenced genes with an average of 356 variants per patient, among which approximately 35 appeared to be rare variants and 8 were predicted as deleterious according to various algorithms.

We have been able to collect complete clinical data for more than 200 patients, while for about 500 patients we only have preliminary clinical information. Depending on the number of patients presenting the same variant, the related phenotypes and other parameters, the variant will be ranked in five classes according to American College of Medical Genetics and Genomics classification. PythieVar users have access to different modules. Each module allows the management of a specific query and its result.

Interest / Conclusion:

PythieVar database has now been used for over one year to gather 3-years of NGS and clinical data produced by reference centers at HUPS. The main aim of this database is to facilitate patients' diagnosis. In multidisciplinary meeting between clinicians and biologists, it is now routinely used and essential for diagnosis. In addition, PythieVar is also used for research purposes. PythieVar represents an innovative tool that may allow a better molecular classification and medical management for rare disorders.

Pièce jointe : Poster_UPSUD_Pythivar_PEPS_clean.docx

#20064 : Origine oligogénique de la fibrillation ventriculaire responsable de mort subite**Auteurs :**

Zahia Touat-Hamici (1), Malorie Blancard (1), Ruifang Ma (2), Lianyun Lin (2), Isabelle Denjoy (3), Antoine Leenhardt (3), Zhiguang Yuchi (4), Pascale Guicheney (1)

1. UMRS 1166, Faculté de médecine Sorbonne-Université, Paris, France
2. Collaborative Innovation Center of Chemical Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin, Chine
3. Département de Cardiologie, Hôpital Bichat, Paris, France
4. Collaborative Innovation Center of Chemical Science and Engineering, Tianjin University, Paris, France

Mots clefs : Cœur, arythmies, fibrillation ventriculaire, récepteur à la ryanodine de type 2, connexine 40

Résumé :

La plupart des patients atteints de fibrillation ventriculaire idiopathique (FVI) sont des cas sporadiques. Ces arythmies avec une pénétrance partielle peuvent avoir une origine oligogénique. Nous avons identifié 3 variants pathogènes chez un patient FVI présentant des antécédents familiaux de mort subite.

Par séquençage d'exome, nous avons recherché des variants qui ont été filtrés en fonction de leur fréquence allélique et des scores de pathogénicité. Nous nous sommes intéressés aux gènes impliqués dans les canalopathies et les cardiomyopathies, ainsi qu'à des gènes surexprimés dans les fibres de Purkinje. Afin d'explorer l'activité du Récepteur à la Ryanodine (RyR2), une étude fonctionnelle a été réalisée sur des cellules HEK293 exprimant le plasmide sauvage ou portant le variant par microscopie confocale. Une étude cristallographique a permis la résolution du domaine SPRY1 et la stabilité thermique en présence du variant a été mesurée.

Un homme de 35 ans a présenté une syncope au repos en l'absence d'anomalies cardiaques structurales. De fréquentes extrasystoles ventriculaires à couplage court accompagnées de salves de tachycardies ventriculaires polymorphes ont été enregistrées. Il est décédé subitement à l'âge de 41 ans après une FV incontrôlable. Nous avons identifié trois variants très rares, deux variants faux-sens dans les gènes *RYR2* et *GJA5* et un variant non-sens dans le gène *TNNI3K*. *GJA5* code pour la connexine 40 (Cx40) qui joue un rôle majeur dans le couplage électrique. Le gène *TNNI3K*, code pour la Troponin I-Interacting Kinase, et est un modulateur de la conduction cardiaque et la fonction myocardique chez la souris et l'homme. Le variant du gène *RYR2* conduit à la substitution p.Ile784Phe, un acide aminé hautement conservé. Il est localisé dans le domaine SPRY1 en dehors des zones où la majorité des variants ont été identifiés. Le variant de *GJA5* conduit à la substitution p.Ala96Ser, ce variant a déjà été rapporté comme pathogène chez un patient présentant une fibrillation atriale. Le troisième variant, dans *TNNI3K*, induit la formation d'un codon stop en position 244, p.Arg244X. L'imagerie calcique intracellulaire a montré que les cellules HEK293 exprimant le variant RyR2-I784F présentaient une augmentation de la libération de Ca^{2+} en présence ou en absence de 8-bromo-AMPC. L'analyse cristallographique a révélé un changement de conformation qui pourrait affecter les interactions entre domaines, ainsi qu'une déstabilisation de la structure.

Nos données montrent que le variant RyR2-I784F induit un gain-de-fonction, probablement dû à une modification structurale affectant l'ouverture du canal. Associé à deux variants pathogènes affectant la conduction, Cx40-A96S et TNNI3K-R244X, il est très probablement responsable de la FV mortelle du patient. La présence de plusieurs variants expliquerait la pénétrance incomplète des morts subites par fibrillation ventriculaire idiopathique.

Pièce jointe : Abstract Touat-Guicheney.docx

#19875 : Extension du spectre phénotypique lié à des variations du gène PHF21A

Auteurs :

Caroline Racine (1), Ange-Line Bruel (2), Arthur Sorlin (1, 2), Juliette Albuissou (3), Sébastien Moutton (1), Thevenon Julien (1, 2), Daphné Lehalle (1), Nolwenn Jean-Marçais (1), Antonio Vitobello (2), Frédéric Tran Mau-Them (2), Anand Saggar (4), Christophe Philippe (2), Laurence Faivre (5, 2), Christel Thauvin-Robinet (2, 6), Anne-Sophie Denommé-Pichon (2)

1. Centre de référence anomalies du développement et syndrome malformatifs, CHU de Dijon, DIJON, France
2. Equipe GAD (Génétique des anomalies du développement), UMR INSERM 1231, Université de Bourgogne, DIJON, France
3. Département de Biologie et Pathologie des Tumeurs, Centre Georges-François Leclerc, DIJON, France
4. Clinical Genetics Unit, St George University of London, London, Royaume Uni
5. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Dijon, DIJON, France
6. Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de causes rares, CHU de Dijon, DIJON, France

Mots clefs : PHF21A, syndrome marfanoïde, déficience intellectuelle, retard des acquisitions

Résumé :

Les variations pathogènes du gène *PHF21A* sont habituellement responsables d'une déficience intellectuelle syndromique avec particularités cranio-faciales (brachycéphalie, microcéphalie, particularités morphologiques du nez) et, de manière inconstante, une grande taille. Huit patients porteurs de 7 variations pathogènes différentes du gène *PHF21A* sont actuellement décrits dans la littérature. Ce gène est par ailleurs impliqué dans le syndrome de Potocki-Shaffer, caractérisé par de multiples exostoses et un élargissement des foramina pariétaux, en plus de la déficience intellectuelle et des particularités cranio-faciales. Ce syndrome résulte d'une délétion de gènes contigus localisée en 11p11.2, qui inclut, entre autres, les gènes *PHF21A*, *EXT2* et *ALX4*.

Nous décrivons 5 patients (5 hommes – âge médian de 22,6 ans), porteurs de nouvelles variations pathogènes du gène *PHF21A*, identifiées par séquençage d'exome. Ces 5 variations (2 non-sens, 2 variations d'épissage, et 1 variation entraînant un décalage du cadre de lecture) sont probablement à l'origine d'une perte de fonction de la protéine. L'une des variations est survenue *de novo*, une autre n'est pas héritée du père (mère non disponible) ; la ségrégation familiale est en cours pour les autres patients. Les principaux signes cliniques présents chez ces 5 patients sont un retard de langage (4/5), un retard des acquisitions (3/5), des particularités cranio-faciales (3/5) et une hyperlaxité articulaire (3/5). Sont également présents une épilepsie (1/5), une hypotonie (1/5) et une microcéphalie (1/5). Un seul patient présente une déficience intellectuelle. Deux patients présentent un habitus marfanoïde avec grande taille (2/5), palais ogival (2/5), cyphose dorsale importante (2/5), pectus excavatum ou carinatum (2/5), dolichosténomélie (1/5) et arachnodactylie (1/5), sans malformation vasculaire ni anomalie ophtalmologique. Contrairement aux autres patients décrits dans la littérature, deux des cinq étaient initialement adressés pour syndrome marfanoïde et, à notre connaissance, un seul présente une déficience intellectuelle.

Ces 5 nouveaux cas permettent non seulement d'étendre le spectre phénotypique du gène *PHF21A* à la déficience intellectuelle avec habitus marfanoïde, mais aussi de constater que la déficience intellectuelle n'est pas systématiquement présente. Ces résultats suggèrent également qu'il faut évoquer le gène *PHF21A* lors du bilan étiologique de patients avec une présentation clinique marfanoïde sans anomalie vasculaire ni ophtalmologique, avec ou sans déficience intellectuelle ou retard de développement.

#20019 : Diagnostic moléculaire des mutations récurrentes des gène XPC et XPA chez une population marocaine atteinte de xeroderma pigmentosum: a propos de 24 cas.

Auteurs :

meriame abbassi (1), hanane sayel (1), mohammed ahakoud (1), oussama kettani (1), badredine el makhzen (2), said tranint (1), ihssane el otmani (1), hanane baybay (3, 4), fatima-zahra mernissi (5, 4), karimouldim (1, 4), laila bouguenouch (1, 4), meriame abbassi (1)

1. Génétique Médicale et d'oncogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, fès, Maroc
2. Génétique médicale et d'oncogénétique, Centre Hospitalier Universitaire , fès, Maroc
3. Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, fès, Maroc
4. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Univetsité Sidi Mohammed Benabdellah, fès, Maroc
5. Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire, fès, Maroc

Mots clefs : Xeroderma Pigmentosum (XP), gènes XPC et XPA, analyse moléculaire, Conseil génétique.

Résumé :

Le Xeroderma Pigmentosum (XP), est une maladie autosomique récessive rare 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 brûlures, 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.

À ce jour, huit gènes (*XPA* à *XPG* et *XPV*) sont responsables de la maladie. Parmi eux, les gènes *XPA* et *XPC* décrits comme les plus fréquemment mutés chez les patients XP dans les pays du Maghreb.

Cette présente étude consiste à l'exploration de deux mutations qui par la littérature semblent les plus fréquentes dans les pays du Nord Africain: Mutation non-sens (c.682C > T, p.Arg228X) siégeant au niveau du gène *XPA*, et une délétion de deux paires de bases (c.1643_1644delTG ou p.Val548Ala fsX25) au niveau du gène *XPC*.

Un échantillon de 24 cas index appartenant à 22 familles non apparentées ont été caractérisées, révélant 14 cas de patients *XPC* et 6 cas *XPA*.

L'étude de la corrélation entre le génotype et le phénotype dans notre étude a mis en évidence que l'atteinte neurologique était retrouvée de façon significative chez les patients *XPA* et que ces patients *XPA* développent plus précocement les tumeurs cutanées malignes par rapport aux patients *XPC*.

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.

Pièce jointe : ABBASSI MERIAME absract XPC et XPA.docx

#20458 : Le spectre phénotypique associé aux mutations du gène *GFM1* : description de 9 nouveaux patients

Auteurs :

Giulia Barcia (1), Marlène Rio (1), Zahra Assouline (1), Zingaretti Coralie (2), Naig Guéguen (3), Valérie Desquirit-Dumas (4), Pascale Marcorelles (5), manuel Schiff (6), Magalie Barth (4), Marie Hully (7), Pascale De Lonlay (6), Arnold Munnich (8), Isabelle Desguerre (9), Julie Steffann (1), Vincent Procaccio (4), Nathalie Boddaert (10), Jean-Paul Bonnefont (1), Agnes Rötig (11), Metodi Metodiev (11), Benedetta Ruzzenente (11)

1. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. INSERM U1163, Université Paris Descartes - Sorbonne, Paris cité, Institut Imagine, paris, France
3. UMR CNRS 6015-INSERM U1038, MitoVasc Institute, Angers University, Angers, France, Angers, France
4. UMR CNRS 6015-INSERM U1038, MitoVasc, Université d'Angers, France, Angers, France
5. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, CHRU de Brest, Brest, France, paris, France
6. Maladies métaboliques, Hopital Necker - enfants Malades, Paris, France, paris, France
7. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
8. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
9. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
10. Neuroradiologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
11. Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : *GFM1*, traduction mitochondriale, maladies mitochondriales, EFG1, chaîne respiratoire mitochondriale

Résumé :

Deficiencies of the oxidative phosphorylation system (OXPHOS) can be caused by mutations in nuclear genes involved in mitochondrial translation, causing heterogeneous, early-onset and often fatal mitochondrial diseases. Disease-causing variants in the *GFM1* gene, encoding the mitochondrial translation elongation factor EFG1, have been linked to neurologic phenotypes with or without liver involvement, but only few cases have been reported in literature.

We describe clinical, biochemical, genetic, and neuroimaging findings from nine unrelated children carrying homozygous or compound heterozygous *GFM1* variants, 10 of which were not previously reported.

All patients presented with neurological involvement—mainly axial hypotonia and dystonia during the neonatal period—with five out of nine patients diagnosed with West syndrome. Only two children had liver involvement with cytolysis episodes or hepatic failure. While two patients died in infancy, six exhibited a stable clinical course. Brain MRI showed involvement of basal ganglia, brainstem and periventricular white matter. Western immunoblotting revealed a decrease of mutant *GFM1* in fibroblasts from six patients and changes in the abundance of OXPHOS proteins consistent with impaired mitochondrial translation.

#20442 : Translocation t(X;Y) à propos de 2 observations avec un phénotype féminin

Auteurs :

martine Doco-Fenzy (1), céline Poirsier (2), anne-sophie Salmon (3), Marie-Claude Melun-Blocquaux (4), Emilie Landais (5), hugo Thorn (4), Lucas Hérissant (4), Marine Grellet (4), Guillaume Jouret (4), Pierre François Souchon (3)

1. génétique, CHU Reims, Reims, France
2. Génétique , CHU reims, reims, France
3. Pédiatrie, CHU reims, Reims, France
4. Génétique , CHU reims, Reims, France
5. Génétique, CHU Reims, Reims, France

Mots clefs : translocation t(X;Y), gonadoblastome, déterminisme du sexe, homme XX, ambiguïté sexuelle, SRY

Résumé :

Les translocations t(X;Y) sont souvent associées à des anomalies gonadiques. Le transfert de séquences Y dont SRY en Xp est souvent associé à un phénotype masculin (XX) ou rarement un hermaphrodisme.

Nous rapportons 2 observations de patientes avec une translocation t(X;Y) dont l'une comporte le gène SRY et l'autre pas, et leurs problématiques respective de prise en charge.

La 1ère observation concerne une enfant adressée à la naissance pour une ambiguïté sexuelle avec hypertrophie d'un bourgeon génital, malformation du sinus urogénital, et hyper-sécrétion de testostérone. Le caryotype était : 46,XX et les investigations par PCR, FISH et ACPA ont montré une translocation 46,X,der(X)t(X;Y)(p22.3;p11.31) impliquant le gène SRY . De manière surprenante cette translocation est héritée de la mère dont le phénotype est normal.

Durant la grossesse, les échographies étaient en faveur d'un sexe féminin avec des organes génitaux visualisés à 23SA+6j, et 32 SA + 6j. La patiente est née eutrophe. Hormis la testostérone, le bilan biologique était normal, sans hyperplasie congénitale des surrénales. Les ovaires étaient de petite taille et d'aspect normal. L'utérus ne présentait pas de malformations.

La difficulté fut de définir dans un temps extrêmement court le sexe de cette enfant. Devant le phénotype normal maternel, nous évoquons un biais d'inactivation de l'X différent entre la mère et l'enfant ou un deuxième gène impliqué.

La 2ème observation est celle d'une jeune fille de 15 ans adressée pour retard de croissance avec une translocation t(X ;Y) n'impliquant pas SRY. La difficulté de cette observation fut la conduite à tenir par rapport au risque de gonadoblastome.

#19834 : Faut-il prescrire un caryotype avant une prise en charge en FIV-ICSI ?

Auteurs :

Hélène Piant (1), Mathilda Kretz (1), Julia Lauer-Zillhardt (2), Philippe Gosset (2), Catherine Rongières (2), Olivier Pirrello (2)

1. Service Gynécologie et Obstétrique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France

2. Service d'Assistance Médicale à la Procréation, CMCO, Schiltigheim, France

Mots clefs : caryotype, FIV, ICSI, aide, médicale, procréation

Résumé :

Introduction : A ce jour, la réalisation d'un caryotype des deux membres d'un couple infertile avant une prise en charge en FIV-ICSI n'est pas recommandée par l'Agence de Biomédecine alors que c'est le cas pour la société française de génétique. En effet, quelques services d'AMP en France le réalisent en routine et la question se pose d'en réaliser un systématiquement avant FIV-ICSI. L'objectif de l'étude est d'évaluer la prévalence des anomalies du caryotype et leur type, ceci chez les couples pris en charge dans notre centre.

Matériels et méthodes : Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective, observationnelle et monocentrique. La population incluse est l'ensemble des couples infertiles entre le 1er janvier 2015 et le 30 juin 2018, toutes causes d'infertilité confondues, ayant consultés pour bilan d'infertilité et ayant eu un caryotype sanguin. Les critères d'exclusion sont les préservations de la fertilité, les dons de gamètes, les accueils d'embryons et les couples adressés pour anomalie du caryotype en vue d'un DPI.

Résultats : 5258 patients ont été inclus dans l'étude. 67 caryotypes n'ont pas été réalisés. Au final, un total de 174 caryotypes n'étaient pas connus et 5084 caryotypes étaient exploitables. La prévalence des anomalies de caryotypes était de 1,38% : 0,65% de caryotypes anormaux nécessitant un conseil génétique et une prise en charge adaptée (DPN, DPL...), et 0,73% de caryotypes anormaux sans risque pour la descendance, mais pouvant nécessiter une prise en charge adaptée. Concernant les indications de prises en charge, 71% des cas d'anomalie du caryotype avaient une cause d'infertilité connue pour être associée à une fréquence augmentée d'anomalie chromosomique (Azoospermie, OATS, IOP ou ≥ 3 FCS). 16% des cas avait une infertilité idiopathique et 13% une découverte fortuite d'anomalie du caryotype.

Conclusion : Le taux d'anomalies du caryotype retrouvé représente le double par rapport à la valeur observée chez des nouveau-nés sans pathologie évidente. D'après nos données, nous proposons une analyse du caryotype en PMA en cas: d'azoospermie, d'OATS, d'insuffisance ovarienne prématurée, d'antécédent d'au moins deux fausses couches, d'infertilité idiopathique et en cas d'antécédent d'échec de PMA. Une étude médico-économique complète serait nécessaire pour évaluer les bénéfices du caryotype.

#19951 : Diagnostic anténatal au premier trimestre d'un syndrome d'hypercroissance lié à une surexpression en mosaïque du gène PIK3CA**Auteurs :**

Laurent Guibaud (1, 2), Sara Cabet (1), Antoine Fraissenon (1), Axel Fichez (3), Carine Abel (4), Guillaume Canaud (5)

1. Service d'Imagerie pédiatrique et fœtale, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Centre de compétence des malformations vasculaires superficielles, filière FAVA-Multi et Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. INSERM U1151, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : syndrome d'hypercroissance, mégalencéphalie, anomalies des extrémités, PIK3CA, malformation lymphatique, imagerie anténatale

Résumé :

Les variants gain-de-fonction du gène *PIK3CA* en mosaïque sont responsables de syndromes d'hypercroissance d'expression variable réalisant un continuum clinique comprenant notamment le syndrome CLOVE (*Congenital Lipomatous Overgrowth, Vascular malformations, Epidermal nevi*), le syndrome mégalencéphalie - malformation capillaire et une partie des syndromes Klippel-Trenaunay. Nous rapportons un cas de syndrome d'hypercroissance lié au gène *PIK3CA* diagnostiqué en anténatal.

L'examen échographique réalisé durant le premier trimestre de grossesse a permis de mettre en évidence une macrocéphalie sans hydrocéphalie, une hypercroissance focale du membre inférieur droit et des lésions kystiques diffuses atteignant le médiastin antérieur, le creux axillaire gauche, le rétropéritoine et les membres inférieurs. Le diagnostic de malformation lymphatique étendue a donc été posé devant l'association macrocéphalie, hypertrophie d'un segment de membre et lésions kystiques multiples. Une analyse échographique ciblée des extrémités a alors révélé un écart excessif entre le premier et le deuxième orteils ou "signe de la sandale" et une syndactylie entre les troisième et quatrième orteils à droite. Ces anomalies des extrémités nous ont orientés vers le diagnostic de syndrome d'hypercroissance lié au gène *PIK3CA* qui a été confirmé par séquençage.

Notre travail souligne donc l'importance de l'analyse morphologique attentive des extrémités lors des échographies du premier et du deuxième trimestres, cette analyse étant moins sensible au dernier trimestre en raison de la réduction du volume de liquide amniotique. Nous rappelons aussi qu'un syndrome d'hypercroissance lié au gène *PIK3CA* doit être évoqué en anténatal devant toute malformation lymphatique étendue ou hypertrophie focale des tissus mous et insistons sur le fait que des malformations des extrémités associées telles qu'une macrodactylie, une syndactylie ou un "signe de la sandale" doivent être recherchées afin d'étayer le diagnostic.

Pièce jointe : Assises de Génétique 2020_PIK3CA_Lyon.docx

#20284 : Séquençage de l'exome entier chez des fœtus avec anomalies échographiques

Auteurs :

Detlef Trost (1), Aïcha Boughalem (1), Patricia Blanchet (2), Dard Rodolphe (3), Alexandra Benachi (4), Viorica Ciorna-Monferrato (5), Renaud Touraine (6), Pascale Kleinfinger (1), Laurence Lohmann (7), Mylène Valduga (1), Jean Marc Costa (1)

1. Génétique Humaine, Laboratoires CERBA, 95 310 Saint Ouen l'Aumône, France
2. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », CHU Hôpital Arnaud de Villeneuve, 34295 Montpellier Cedex 5, France
3. Génétique médicale, CHI Poissy, 78300 Poissy, France
4. Service de gynécologie obstétrique et médecine de la reproduction, GHU Paris-Sud - Hôpital Antoine Bécère, 92140 CLAMART, France
5. Génétique Médicale et Oncogénétique, Hôpital Femme Mère Enfant, CHR Metz-Thionville, 57085 Metz Cedex 03, France
6. Service de Génétique, CHU-Hôpital Nord, 42055 Saint Etienne cdx2, France
7. Génétique Humaine, Laboratoires CERBA, ", 95 310 Saint Ouen l'Aumône, France

Mots clefs : WES, diagnostic prénatal, fœtopathologie, conseil génétique, Exome, NGS

Résumé :

Les anomalies du développement fœtal sont en partie d'origine génétique. L'aneuploïdie fœtale ainsi que les anomalies de la structure chromosomique sont aujourd'hui explorées par caryotype et caryotype moléculaire (ACPA) en cas de signes d'appels échographiques fœtaux.

L'utilité du séquençage de l'exome entier (WES) prénatal est discuté. Les informations sur l'intérêt du WES prénatal restent limitées. Dans notre cohorte de 25 fœtus à caryotype et ACPA sans anomalie un séquençage de l'exome entier a été réalisé. Tous les fœtus présentaient des anomalies échographiques de pronostic péjoratif. La majorité des fœtus (19) a été analysée après interruption médicale de grossesse, 3 analyses après mort fœtale in utero, 3 analyses ont été réalisées sur des grossesses en cours pour signes échographiques isolés afin d'exclure un cadre syndromique.

Un variant pathogène ou probablement pathogène a été identifié chez 11 des 25 fœtus analysés. L'origine des variants pathogènes ou probablement pathogènes étaient : 6 variants dominants de novo, 5 variants homozygotes associés à des pathologies de transmission récessives.

Le séquençage de l'exome entier a permis d'identifier une cause génétique aux anomalies fœtales observées dans 11 des 25 cas analysés. Ceci a permis de réaliser un conseil génétique pour les familles et de proposer en cas de maladie récessive un diagnostic prénatal ciblé lors d'une nouvelle grossesse.

Pièce jointe : WES grossesse.docx

#19819 : Enseignements de l'essai TOTEM évaluant le taselisib, inhibiteur de la PI3K, dans les syndromes hypertrophiques liés à PIK3CA.**Auteurs :**

Maxime LUU (1), Pierre VABRES (2, 3), Hervé DEVILLIERS (4), Romaric LOFFROY (5), Maud CARPENTIER (6), Agnès MAURER (4), Meriem YOUSFI (7), Camille FLECK (8), Alice PHAN (9), Ludovic MARTIN (10), Fanny MORICE-PICARD (11), Florence PETIT (12), Marjolaine WILLEMS (13), Didier BESSIS (14), Marie-Line JACQUEMONT (15), Annabel MARUANI (16), Christine CHIAVERINI (17), Marc BARDOU (1), Laurence FAIVRE (2, 18)

1. CIC 1432, CHU Dijon, Dijon, France
2. Inserm UMR 1231 GAD, Genetics of Developmental disorders, Université de Bourgogne-Franche Comté, FHU TRANSLAD, Dijon, France
3. Centre de Référence Maladies Dermatologiques en Mosaïques MAGEC, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. CIC 1432 INSERM, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
5. Radiologie et Imagerie médicale diagnostique et thérapeutique, CHU Dijon, Dijon, France
6. DRCI, CHU Dijon, Dijon, France
7. CRMR Anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
8. DRCI, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
9. Dermatologie, HFME Lyon, Lyon, France
10. Centre référence MAGEC, CHU Angers, Angers, France
11. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
12. Centre de Référence Maladies Rares, CHRU Lille, Lille, France
13. CRMR Anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Montpellier, Montpellier, France
14. Dermatologie, CHU Montpellier, Montpellier, France
15. Génétique, CHU La Réunion, St Pierre, France
16. Centre référence MAGEC, CHU Tours, Tours, France
17. Centre de référence MRP-Sud, CHU Nice, Nice, France
18. Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement et syndromes malformatifs", FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : CLOVES, hypertrophie, Klippel-Trenaunay, phosphatidyl-inositol-3-kinase, thérapie ciblée

Résumé :

Introduction: Les syndromes de Klippel-Trenaunay et CLOVES font partie du spectre hypertrophique lié à PIK3CA (PROS). Ils sont dus à des mutations activatrices du gène *PIK3CA* codant la sous-unité alpha de la phosphatidyl-inositol-3-kinase, qui activent la voie MTOR, dont l'inhibition représente donc une possibilité de traitement. Nous avons rapporté une réduction partielle de l'hypertrophie ou des douleurs sous sirolimus, inhibiteur de MTOR. De plus, une réponse jugée importante sur la réduction des malformations lymphatiques ou de l'hypertrophie des tissus mous a été rapportée sous alpelisib, inhibiteur spécifique de la sous-unité alpha de la PI3K, en cours d'évaluation dans le cancer du sein, mais peu de données de tolérance sont disponibles. Nous avons mis en place un essai de phase I/II pour évaluer la tolérance et l'efficacité dans le PROS d'un autre inhibiteur de PI3K, le taselisib.

Matériel et Méthodes: Essai ouvert à un seul bras multicentrique de phase IB / IIA évaluant la tolérance de faibles doses de taselisib sur 6 mois, prévu chez 30 adultes PROS, avec schéma d'augmentation progressive des doses : 1 mg /j chez les 6 premiers patients, puis 2 mg/j chez le reste des participants. Le critère de jugement principal était la survenue de toxicité de grade ≥ 3 limitant la dose, voire motivant l'arrêt de l'essai à partir d'un nombre important d'événements indésirables (EI) graves, suspectés (5) ou inattendus (SUSAR, 2). L'efficacité a été évaluée par mesure du volume des zones hypertrophiques par IRM ou absorptiométrie (DEXA) en comparant les sites atteints et indemnes, et sur l'aspect des malformations vasculaires, la coagulopathie, et la qualité de vie.

Résultats: Au total, 19 patients ont été inclus dont 17 ont reçu taselisib, parmi lesquels 11 ont reçu les 6 mois de traitement. Bien qu'aucun EI grave ne soit survenu à 1 mg/j (6 patients), l'étude a été arrêtée après l'inclusion de 11 patients à 2 mg, dont 5 avaient terminé l'essai, en raison de 2 SUSAR (iléite aiguë et pachyméningite). Tous les patients traités ont présenté au moins un EI (113 au total), et 3 ont présenté un EI de grade 3 (2 SUSAR et 1 infection à parvovirus). Les troubles gastro-intestinaux, du système nerveux et les infections représentaient respectivement 43%, 17% et 12% des 113 EI. Une amélioration de la qualité de vie, une réduction de la douleur, ou l'arrêt d'un saignement chronique ont été observés mais la réduction de l'hypertrophie était modeste ou nulle.

Conclusion: Ce premier essai thérapeutique d'un inhibiteur de PI3K dans le PROS a montré un profil de tolérance insuffisant du taselisib, malgré un certain degré de réponse, motivant l'arrêt de son développement dans cette indication. D'autres inhibiteurs de PI3K restent à évaluer dans des essais cliniques, en particulier l'alpelisib, mais les EI observés ici motivent une surveillance attentive de la tolérance de cette classe de médicaments.

#19787 : De l'arbre généalogique au génogramme : proposer une autre histoire au patient.

Auteurs :

Eva TOUSSAINT (1)

1. génétique médicale, chu Pellegrin, Bordeaux, France

Mots clefs : psychologie, arbre généalogique, génogramme, systémie

Résumé :

C'est pendant mes études que j'ai découvert le génogramme comme outil possible à la prise en charge thérapeutique. Mais cela n'était que de l'informatif : on m'a présenté un outil sans formation autour de cet outil. On peut dire que du coup ma première rencontre avec le génogramme a coïncidé avec mon poste de psychologue dans un service de génétique car en génétique toute consultation commence par la réalisation d'un arbre généalogique.

La consultation de génétique est toujours une consultation familiale ; même si la personne vient seule. Avec l'arbre généalogique systématiquement fait lors de la consultation de génétique, la famille est convoquée et interrogée dans sa normalité médicale dès le départ. C'est une consultation difficile et longue pendant laquelle le médecin va recueillir des données dites « objectives » (antécédents médicaux, enfants décédés....). La construction de l'arbre généalogique, mais aussi le fait de se placer sur cet arbre déjà construit, renvoie la personne à cette histoire qui est la sienne et celle de sa famille. Cette consultation peut rappeler des souvenirs, elle renvoie aux pertes et elle place certaines personnes en tant que: responsable de, ou futur malade.

Mais déjà lorsque le psychologue participe aux consultations médicales, il peut venir superposer un autre arbre à celui purement généalogique et médical pour faire en sorte que la personne ne reste pas dans un type de « cognition » (pensée) unique.

Nous tenterons dans cette présentation de reprendre comment le thérapeute travaillant dans un service de génétique peut se saisir de l'arbre généalogique comme source d'informations sur les liens familiaux, les enjeux psychiques. Et comment le génogramme peut être un outil qui permettra au sujet de se « reconnecter » à son histoire.

#20363 : Prévalence et caractéristiques du diabète dans l'hypercholestérolémie familiale : une étude rétrospective du registre HF Nantais.**Auteurs :**

Bleuenn DEVRES (1), Chloé FOURNIER (1), Matthieu WARGNY (1, 2), Matthieu PICHELIN (1, 2), Michel KREMPF (1), Mathilde DI-FILIPPO (3, 4), Sophie BELIARD (5, 6), Bertrand CARIOU (1, 2)

1. CIC endocrinologie-Nutrition, INSERM 1413, CHU Nantes, Nantes, France
2. L'institut du Thorax, INSERM CNRS, UNIV NANTES, CHU Nantes, Nantes, France
3. UF Dyslipidémies, service de Biochimie Moléculaire Grand Est, GHE, LBMMS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. INSERM U1060, INSA de Lyon, INRA 01235, Univ Lyon-1, Université de Lyon, Villeurbanne, Oullins, France
5. Département de Nutrition, Maladies Métaboliques et Endocrinologie, APHM, Hôpital La Conception, Marseille, France
6. , Université d'Aix Marseille, INSERM, INRA, C2VN, Marseille, France

Mots clefs : hypercholestérolémie familiale hétérozygote, diabète, statines, PCSK9, registre HF

Résumé :**Contexte**

L'hypercholestérolémie familiale hétérozygote (HeFH) est la maladie monogénique la plus fréquente (prévalence entre 1/300 et 1/200). L'HeFH se caractérise par une augmentation du LDL cholestérol (LDL-C) tout au long de la vie, avec une augmentation du risque cardiovasculaire. Elle est le plus souvent liée à une mutation sur les gènes *LDLR*, *APOB* ou *PCSK9*. Récemment, plusieurs études ont suggéré un lien entre le métabolisme du LDL-C et le risque de diabète. D'une part, les essais randomisés ont mis en évidence un risque diabétogène des statines. D'autre part, les études de randomisation mendélienne sur les gènes *LDLR* et *HMGCOAR* (cible moléculaire des statines) démontrent que la baisse génétique du LDL-C est associée à une augmentation du risque de diabète. Enfin, une étude observationnelle Hollandaise a mis en évidence une moindre prévalence du diabète parmi les patients HeFH.

Objectifs-Méthodes

Nous avons conduit une étude rétrospective monocentrique basée sur les données du registre Français des patients HeFH (défini par un score DLCN > 5) suivis au CHU de Nantes de 02/2015 à 07/2019 pour déterminer la prévalence, les facteurs de risque et le profil évolutif du diabète dans l'HeFH. Les informations du registre collectées à l'inclusion et à l'occasion de la dernière visite au CHU de Nantes ont été complétées par l'analyse des données des dossiers patients.

Résultats

Au total 568 patients HeFH ont été inclus dans cette étude. La prévalence du diabète est de 6,0 %, supérieure au taux régional (Pays de La Loire) en population générale de 4,6%. Il s'agit très majoritairement (82,4%) de diabète de type 2, faiblement hyperglycémique à la découverte (HbA1C : 6.8%) avec significativement plus d'antécédents d'AVC ou d'AOMI (comparativement aux HeFH non diabétiques). L'âge ($p=0,0005$), l'HTA ($p < 0,0001$), l'IMC ($p < 0,0001$), l'hypertriglycéridémie ($p=0,012$) et les variants *PCSK9-GOF* ($p=0,044$) étaient associés à la survenue du diabète. Aucun lien n'a été observé avec les mutations *LDLR* et *APOB*. La prise de statines n'est pas significativement associée au diabète ($p=0,17$) bien que l'exposition précède très fréquemment sa survenue.

Conclusions

Cette étude ne semble pas confirmer l'hypothèse d'une protection des patients HeFH vis-à-vis du risque de diabète, avec une prévalence supérieure à celle observée dans la population générale. Cette étude est actuellement étendue à l'ensemble du registre HF Français pour confirmer les facteurs prédictifs identifiés, notamment l'implication de PCSK9 et préciser l'imputabilité des traitements hypolipémiants.

Pièce jointe : Abstract HF & Diabète Assises 2020 .doc

#20408 : Distribution des mutations KRAS et NRAS Chez des patients marocains atteints de cancer colorectal

Auteurs :

Hind Dehbi (1), Oum kaltoum AIT BOUJMIA (2), Samira Benayad (3), Hossam Hilal el idrissi (2), Mehdi Karkouri (3)

1. , Laboratory of Cellular and Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Pharmacy of Casablanca, University Hassan II, Casablanca, Maroc

2. , Laboratory of Cellular and Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Pharmacy of Casablanca, University Hassan II, Casablanca, Morocco, Casablanca, Maroc

3. , Anathomo-Pathology Department, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Morocco, Casablanca, Maroc

Mots clefs : KRAS, NRAS, Colorectal cancer, Morocco

Résumé :**Abstract**

Objective: Activating mutations in the RAS proto-oncogene (KRAS, HRAS and NRAS) play a crucial role in carcinogenesis and drug resistance in many cancers including, colorectal cancer. The aim of the present study was to evaluate the frequencies of KRAS and NRAS oncogenic mutations in Moroccan CRC patients.

Patients and methods:

In the present study, formalin-fixed paraffin-embedded CRC specimens from 114 Moroccan CRC patients were analyzed. To detect mutations in codons 12, 13 and 61 of the KRAS and NRAS genes, the

pyrosequencing technique was used.

Results:

114 colorectal cancer patients were included in this study, 64 were males and 50 were females, the primary tumor was the most frequent type (78.1%) and the commonest histological type was ADK (77.2%). KRAS mutation was found in 49 of all CRC patients and the most frequent KRAS mutations were 35G>T, 35G>A and 38G>A. On the other hand NRAS mutation was detected only in 6 patients. No statistically significant relationship between CRC patient's characteristics and RAS mutations was found.

Conclusion:

Our results suggest that the KRAS mutation is more frequent among Moroccan patients with CRC, which is in agreement with the most previous studies. Further studies, with a larger number of CRC patients, are needed to confirm our findings.

#20401 : Récidive de mort fœtale in utero avec anasarque à 14 SA : un diagnostic inattendu

Auteurs :

Matthieu Dap (1), Houria Salhi (1), Sarah Grotto (2), Clémence Jauny (2), Aude Tessier (1), Aurélie Coussement (3), David Cheillan (4), Amale Ichkou (1), Laurence Loeuillet (1), Olivia Anselem (5), Tania Attié-Bitach (1, 6)

1. Unité d'Embryofœtopathologie, Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
2. Unité de Génétique Clinique, Maternité Port-Royal, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
3. Service de Cytogénétique, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
4. Service Maladies héréditaires du métabolisme, dépistage néonatal et biologie foeto-maternelle, CHU de Lyon, Lyon, France
5. Service du Diagnostic Anténatal, Maternité Port-Royal, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
6. INSERM U1163, Institut Imagine et Université Paris Descartes, Paris, France

Mots clefs : MFIU, exome, blackfan-diamond

Résumé :

Les causes de mort fœtale *in utero* (MFIU) précoces sont le plus souvent d'origine chromosomique, placentaire ou infectieuse. L'identification des autres causes est difficile en fœtopathologie, et en l'absence de malformation ou pathologie de surcharge, les causes géniques restent très rares et méconnues. Nous rapportons l'histoire d'un couple non apparenté sans antécédent médical notable ayant eu deux enfants bien portants et deux MFIU précoces entre 16 et 17 semaines d'aménorrhées (SA) associées à une anasarque fœtale chez des fœtus de sexe féminin, et dont la cause a été identifiée par séquençage d'exome.

La première grossesse a été marquée par une nuque épaissie au premier trimestre (5mm). Le caryotype et l'ACPA réalisés dans ce contexte étaient sans particularité. A 17 SA, il était constaté une MFIU avec anasarque. L'examen fœtopathologique ne révèle pas d'anomalie en dehors d'un retard de croissance et l'anasarque, le décès est évalué à 14SA. La deuxième grossesse est également marquée par la découverte d'une nuque épaissie au premier trimestre (4,9 mm), l'absence d'anomalie au caryotype et ACPA, et la constatation d'une MFIU à 16SA. L'examen fœtopathologique ne met pas en évidence de malformation.

L'exploration génétique a d'abord été réalisée par le séquençage d'un Panel Anasarque d'origine Métabolique dont le résultat a été négatif. Une analyse d'Exome en quatuor a ensuite été réalisé et mis en évidence une mutation tronquante du gène *RPS19*, présente chez les deux fœtus à l'état hétérozygote mais absente chez le couple, évoquant une mosaïque germinale chez l'un des deux parents.

RPS19 codant pour une protéine de la sous-unité 40S du ribosome est le gène le plus fréquemment muté chez les patients atteints d'anémie arégénérative de Blackfan Diamond (DBA), de transmission autosomique dominante. L'anémie est présente dès la naissance dans moins de 15% des cas, et dans 50% des cas, la DBA est associée à d'autres malformations, ce qui n'était pas le cas chez ces fœtus. Plusieurs cas de DBA de révélation anténatale au 2° ou 3° trimestre ont été rapportés, nécessitant des transfusions *in utero*, ou déclenchement prématuré de l'accouchement. Les signes les plus précoces ont été rapportés par Souka *et al.* qui ont décrit le suivi de deux fœtus avec des nuques supérieures à 4mm au premier trimestre, diagnostiqués ultérieurement comme étant atteints de DBA. Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature de cas décrits de MFIU précoces, mais Gri *et al.* rapportent en 2018 un taux de fausse-couche plus élevé chez les mères d'enfants atteints de DBA.

La DBA est une cause rare d'anémie fœtale, et cette observation permet de suggérer la DBA comme une cause possible de MFIU précoce. Les études des immuno-histochimies en cours permettront peut-être de mieux comprendre la physiopathologie et la survenue précoce de cette maladie.

#19771 : Analyse de la méthylation d'ADN sur puces : étude comparative d'échantillons de tissus congelés et tissus FFPE**Auteurs :**

Badreddine MOHAND OUMOUSSA (1), Abiba DOUKANI (1), Cassandra GASPARD (1), Franck BIELLE (2)

1. UMS PASS 037, plateforme P3S, Sorbonne Université, Paris, France

2. Département de Neuropathologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière AP-HP, Paris, France

Mots clés : FFPE, puce à ADN, tumeurs, EPIC, méthylation, restauration

Résumé :

Les études de méthylome permettent de mesurer sur l'intégralité du génome les niveaux de méthylation des sites CpG qui conditionne l'expression des gènes dans chaque cellule et sont réalisées à partir de tissus cryo-préservés ou fixés. En clinique, la méthode de fixation dans le formol et d'inclusion dans la paraffine (FFPE) représente un moyen incontournable de conservation des biopsies. L'étude du méthylome à partir des ADNs extraits de tissus FFPE, souvent dégradés en raison des conditions de fixation et d'inclusion des tissus, reste un défi. Plusieurs techniques d'analyse de méthylation ont été développées dont la puce Infinium Methylation EPIC (850K) d'Illumina. Cette puce commercialisée depuis 2015, permet d'analyser 850 000 sites de méthylation répartis sur l'ensemble du génome humain. Afin d'améliorer la qualité des ADNs issus de matériel conservé par FFPE et par conséquent la reproductibilité de la méthode, une optimisation de protocole par une étape de « restauration » a été introduite. Dans une étude pilote, nous avons comparé par puce Illumina Infinium Methylation EPIC, le méthylome de tumeurs cérébrales ayant été conservées en parallèle par congélation et en paraffine dans le but d'optimiser l'analyse du méthylome sur tissus FFPE. Nous avons donc comparé des paires de biopsies tumorales : Cryo préservées *versus* FFPE.

Les résultats montrent une distribution des valeurs *Beta* des niveaux de méthylation similaire entre les échantillons FFPE et leurs paires congelées, bien que les intensités des sondes soient plus faibles dans le cas des tissus FFPE dégradés par rapport aux congelés ; elles restent néanmoins exploitables.

La corrélation des paires FFPE-congelés reste élevée sur la base des valeurs *Beta* des sondes filtrées sur les SNP (r^2 moyen = 0.92, intervalle entre 0.86 et 0.98). Une corrélation est aussi observée au niveau des intensités des sondes qui s'hybrident sur le chromosome Y et qui permettent de valider l'appartenance au même sexe des échantillons appariés. Cependant, sur la base des valeurs *Beta* de l'ensemble des sondes, la corrélation est faible entre certains échantillons appariés. Cela est probablement lié à la composition cellulaire entre la composante congelée et celle incluse en paraffine.

Ces résultats suggèrent que les tissus FFPE peuvent être utilisés, après réalisation du protocole de restauration d'Illumina, pour l'analyse de la méthylation par puces EPIC. Ces analyses ont par ailleurs permis l'identification de différentes sous classes de tumeurs dans les tissus FFPE et congelés et devraient aider à la caractérisation encore en cours de potentiels marqueurs de diagnostic et de pronostic. Cette étude pilote sur tissus FFPE réalisée en collaboration avec le Dr Franck BIELLE, nous permet de proposer une nouvelle prestation sur notre plateforme, l'analyse de la méthylation sur les échantillons FFPE. Cette nouvelle offre complète le catalogue de puces à ADN de la plateforme P3S.

Pièce jointe : résumé Assises_2020_P3S.docx

#19866 : Le SNPXPlex, une technique de barcoding simple et rapide assurant l'identitovigilance du diagnostic par NGS

Auteurs :

Cécile CAZENEUVE (1), Sandrine NOEL (1)

1. Département de Génétique, UF de Neurogénétique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, GHU APHP Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

Mots clefs : identitovigilance, barcoding, NGS

Résumé :

Les recommandations de bonnes pratiques de NGS (Next Generation Sequencing) à des fins diagnostiques s'accordent sur l'intérêt de disposer d'une technique de barcoding permettant de tracer les échantillons lors de la réalisation d'une technique de NGS.

Pour valider les résultats de NGS par comparaison d'un profil de SNPs obtenu de manière indépendante par NGS et par une autre technique, nous avons mis au point la technique SNPXPlex consistant en une PCR multiplex spécifique d'allèle permettant le génotypage simultané de 15 SNPs.

La technique est adaptée à une utilisation en routine. En effet, elle est rapide –une seule PCR est réalisée à partir de l'ADN du tube mère suivie d'un dépôt sur séquenceur capillaire–, peu coûteuse (maximum 5 euros/patient) et utilise des équipements présents dans tout laboratoire de génétique moléculaire. Les pré-mix de PCR sont stables sur une durée au moins égale à 12 mois. Les SNPs choisis sont dans des gènes non impliqués dans une pathologie : il n'y a donc pas de risque d'incident findings lié au séquençage par NGS des régions contenant les SNPs. La même combinaison de SNPs peut être utilisée dans tous les kits de capture à façon : ainsi, la technique de SNPXPlex peut être l'unique technique de barcoding d'un laboratoire utilisant différents panels de NGS. L'informativité de la combinaison de SNPs est telle que dans une série de 96 patients, le risque que deux patients présentent le même profil SNPs est < à 5 %, quelle que soit l'origine des patients, ce risque atteignant 0.2% pour des patients d'origine européenne. L'interprétation des résultats de SNPXPlex est simple et rapide. Les résultats de génotypage des SNPs par NGS sont fiables (couverture > 30X). Un fichier Excel adapté permet de comparer très rapidement les résultats de profil SNPs obtenus par NGS et SNPXPlex pour des séries allant jusqu'à 96 patients et de déterminer si plusieurs patients de la série présentent le même profil SNPs. La technique SNPXPlex est également directement utilisable pour des résultats d'exome et de génome, la couverture des 15 SNPs s'étant révélée suffisante.

Ainsi, si les profils SNP obtenus par NGS et par SNPXPlex sont strictement identiques et s'il n'y a pas plusieurs patients de la série présentant le même profil SNP, il n'y a pas nécessité de vérifier les résultats de séquençage NGS par une autre technique (sous réserve de la qualité du séquençage NGS), ce qui permet un gain de temps considérable. Pour les éventuels patients de la série présentant un même profil SNP, une validation par une technique adaptée sera nécessaire.

La technique de SNPXPlex est actuellement utilisée en routine par plusieurs unités fonctionnelles du Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique de l'hôpital Pitié-Salpêtrière (environ 7000 analyses de NGS ont utilisé le SNPXPlex en un an).

Pièce jointe : Abstract SNPXPlex_191002_envoyé.doc

#20123 : Suivi et prise en charge des personnes prédisposées au cancer colorectal. Retour sur 9 ans d'existence du réseau Francilien PRED-IdF

Auteurs :

Guillaume PERROD (1), Chrystelle COLAS (2), Jeanne NETTER-COTI (3), Olivier CARON (4), Veronica CUSIN (5), Géraldine PERKINS (6), Aziz ZAANAN (6), Bruno BUECHER (7), Emmanuelle FOURME (8), Jérôme BELLANGER (3), Yann PARC (9), Stanilass CHAUSSADE (10), David MALKA (4), Pierre LAURENT-PUIG (6), Robert BENAMOUZIG (11)

1. Gastroentérologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
2. Oncogénétique, Institut Curie, Paris, France
3. Gastroentérologie, Saint-Antoine, PARIS, France
4. Oncogénétique, IGR, PARIS, France
5. Oncogénétique, Pitié Salpêtrière, Paris, France
6. Oncogénétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
7. Oncogénétique, Cochin, PARIS, France
8. Oncogénétique, Institut Curie, PARIS, France
9. Chirurgie digestive, Saint-Antoine, PARIS, France
10. Gastroentérologie, Cochin, PARIS, France
11. Gastroentérologie, Avicenne, PARIS, France

Mots clés : Syndrome de prédisposition aux cancers digestifs, Cancer colorectal, Lynch, PAF, Peutz-Jeghers, Cowden, POLE, Polyposse juvénile

Résumé :

Objectifs:

Les patients présentant un syndrome de prédisposition au cancer colorectal ont un risque élevé de développer une néoplasie au cours de leur vie. La prise en charge et le suivi de ces patients doit être réalisée au sein de centres spécialisés. Dans ce travail, nous présentons les résultats du réseau Francilien PRED-IdF depuis sa création.

Méthodes:

Labellisé et financé par l'Institut national du cancer (INCa), le réseau PRED-IdF a été créé en 2009 en Ile-de-France. Il comprend désormais cinq hôpitaux universitaires (Hôpital Européen Georges Pompidou, Hôpital Cochin, Hôpital Saint-Antoine, Hôpital Avicenne, Groupe Hospitalier La Pitié Salpêtrière) et deux instituts dédiés à l'oncologie (Institut Gustave Roussy et Institut Curie). Le but de ce réseau est de mettre en place et coordonner un suivi individualisé des personnes prédisposées héréditairement au cancer grâce à l'établissement d'un plan personnalisé de suivi (PPS), d'assurer l'accès aux compétences multidisciplinaires et de proposer une activité de recours et d'expertise pour les cas difficiles.

Résultats:

Depuis 2009, 3339 patients ont été inclus consécutivement et un total de 5755 dossiers ont été présentés en réunions de concertations pluridisciplinaires. Parmi ces patients, 1925 sont suivis pour un syndrome de Lynch et 539 pour une polyposse adénomateuse familiale liée aux mutations du gène *APC* (439) ou *MUTYH* (100), ce qui représente 73,8% de l'ensemble de la cohorte PRED-IdF. Les autres syndromes identifiés sont le syndrome de Lynch-like 146, la polyposse festonnée 126, la polyposse adénomateuse atténuée (sans mutation) 77, le syndrome de Peutz-Jeghers 78, le syndrome de Cowden 48, la polyposse juvénile 46, le cancer gastrique héréditaire de type CDH1 44 et les polyposes de type *POL* 14. Fort de cette cohorte prospective, le réseau PRED-IdF a déjà montré son impact dans la prise en charge des patients, notamment pour le dépistage des lésions coliques chez les patients suivis pour syndrome de Lynch (1,2). De nombreuses études sont en cours (3), tant sur le plan fondamental que sur le plan clinique. Le réseau PRED-IdF est disponible pour tout projet de recherche collaboratif.

Conclusion :

Le réseau PRED-IdF dispose de la plus grande cohorte de patients prédisposés héréditairement au cancer colorectal en France. La mise en place de projets collaboratifs à l'échelle nationale couplée à l'utilisation des données épidémiologiques et cliniques de cette cohorte, doit permettre l'amélioration de nos connaissances.

#20090 : Prédilection héréditaire aux cancers : Retour d'expérience sur 680 cas testés au laboratoire CERBA

Auteurs :

Armelle LUSCAN (1), Jean-Marc COSTA (1), Claude ADENIS (2), Veronica CUSIN (2), Adil ALAOU (2), Jérôme AUDOUX (3), Sylviane OLSCHWANG (2, 4), Mylène VALDUGA (1)

1. Pôle Génétique Humaine, laboratoire Cerba, Saint-Ouen-L'Aumône, France
2. Oncogénétique, Ramsay Général De Santé, Paris, France
3. Bioinformatique, SeqOne, Montpellier, France
4. INSERM, MMG, Aix Marseille Univ, Marseille, France

Mots clefs : Prédilection héréditaire aux cancers, panel NGS

Résumé :

En France, près de 5 % des cancers diagnostiqués sont liés à la présence d'altérations génétiques constitutionnelles (1). Transmissibles à la descendance, ces altérations peuvent être recherchées chez des personnes dont les antécédents médicaux, personnels et/ou familiaux, sont évocateurs d'une forme héréditaire de cancer. L'identification des personnes prédisposées au cancer, qu'il s'agisse de cas index ou d'apparentés, est très importante afin de leur proposer un suivi spécifique, basé sur la surveillance et/ou la chirurgie préventive, adapté aux différents risques tumoraux associés à l'altération génétique identifiée.

Au laboratoire Cerba, un panel unique de 62 gènes de prédisposition héréditaire aux cancers est proposé depuis octobre 2018. Les régions codantes et les jonctions introns/exons de ces gènes sont enrichies par la méthode *SureSelect*® d'Agilent puis séquencées en *paired-end* sur une plateforme MiSeqDx ou NextSeq500 d'Illumina. Les données de séquençage sont analysées et interprétées à l'aide de la plateforme SeqOne. Bien que tous séquencés, les gènes étudiés peuvent être limités *in-silico* aux gènes d'intérêt selon l'indication pour laquelle le patient est adressé. Seuls les variants pathogènes ou probablement pathogènes sont rapportés dans le compte-rendu, les variants de signification inconnue (classe 3) étant répertoriés indépendamment. Ce test d'oncogénétique s'inscrit dans une démarche de qualité importante avec notamment la certification CE/IVD de la plateforme SeqOne.

En 2019, 505 cas index et 175 apparentés ont été testés au laboratoire dans un contexte de suspicion de prédisposition héréditaire à un cancer avec un délai moyen de rendu du résultat de 4 à 5 semaines. Chez 55 cas index (11%), une mutation a été identifiée dans un des gènes de prédisposition aux cancers, toutes indications confondues. Parmi les cas index adressés au laboratoire, 402 (80%) l'étaient dans un contexte de cancer du sein et/ou de l'ovaire et 62 (12%) dans un contexte de cancer digestif. Une mutation a été identifiée chez 12% des cas index adressés dans un contexte de cancer du sein et/ou de l'ovaire dont 69% de mutations au sein des gènes *BRCA1* ou *BRCA2* et 31% au sein d'autres gènes (5 *CHEK2*, 3 *ATM*, 3 *RAD51C*, 2 *PMS2*, 1 *NBN* et 1 *TP53*). De même, une mutation a été identifiée chez 13% des cas index adressés dans un contexte de cancer digestif (3 *MLH1*, 2 *PMS2*, 1 *MSH6*, 1 *MSH2* ou 1 *MUTYH* (mutation bi-allélique)).

Chez un cas index adressé au laboratoire pour suspicion de prédisposition héréditaire à un cancer du rein, une mutation *BRCA1* a été identifiée en donnée « incidente » et communiquée au patient en accord avec le prescripteur et le patient, selon les recommandations de la SFMPP (2).

(1) © Oncogénétique en 2016 /consultations, laboratoires et suivi, **INCa**, décembre 2017

(2) Pujol et al, Guidelines for reporting secondary findings of genome sequencing in cancer genes: the SFMPP recommendations. **Eur J Hum Genet.** 2018;26:1732-1742.

Pièce jointe : Abstract 2 - Prédilection héréditaire aux cancers - données CERBA_VF.pdf

#20116 : Développement d'applications web et smartphone en oncogénétique destinées aux professionnels de santé**Auteurs :**

Maud Branchaud (1), Nathalie Parodi (1), Yann Lurton (1), Gaëlle Collet (1), Pascaline Berthet (2), Dominique Vaur (3), Antoine Leveneur (4), Laurent Roussel (5), Thierry Frebourg (6)

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. Département de Biopathologie Laboratoire de biologie et de génétique du cancer, Centre François Baclesse, Centre de Médecine Génomique et Personnalisée de Normandie, CLCC de Caen, Caen, France
4. URML (Union Régionale des Médecins Libéraux), - Normandie, Caen, France
5. Direction des Systèmes d'Information, Centre François Baclesse, CLCC de Caen, Caen, France
6. Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : Application, smartphone, oncogénétique, cancer du sein et de l'ovaire

Résumé :

Un des défis de l'oncogénétique clinique est d'assurer une accessibilité aux consultations, non seulement en termes de délai, mais également en termes de couverture de la population. Après avoir implanté en Normandie une nouvelle procédure basée sur les entretiens téléphoniques de préparation (ETP) et le routage, permettant d'accélérer la prise en charge des patients, nous avons de façon complémentaire développé un nouvel outil facilitant la reconnaissance, par l'ensemble des médecins généralistes et spécialistes non formés à la génétique, des personnes dont l'histoire personnelle et/ou familiale relève d'une consultation d'oncogénétique. Cet outil, destiné aux professionnels de santé et que nous avons élaboré en étroite collaboration avec l'union régionale des médecins libéraux, correspond à une application utilisable sur smartphones et ordinateurs. Le but de cette application n'est pas d'apporter une expertise en oncogénétique mais de déterminer si un(e) patient(e) doit être orienté(e) vers une consultation d'oncogénétique afin d'arriver le plus rapidement possible, en moins de 2 minutes, à la conclusion : « indication à un ETP » ou « pas d'indication à un ETP ». La première version de cette application a été focalisée sur les prédispositions héréditaires au cancer du sein et de l'ovaire. L'algorithme que nous avons développé est basé sur des questions à choix multiples simples (« Mon patient est-il une femme ou un homme », « tranche d'âge », « type de pathologie », ...) avec 3 réponses simples par question (oui/non/ne sait pas) et l'ordre des questions a été défini en commençant par les critères les plus prédictifs de l'indication d'une consultation de génétique (cancer du sein chez un homme, cancer du sein chez une femme avant l'âge de 36 ans, cancer du sein triple négatif avant l'âge de 51 ans...), puis en intégrant les antécédents familiaux. Cette application intègre également la possibilité de propositus asymptomatique, considérant que les professionnels de santé sont amenés à prendre en charge des jeunes femmes ou des pères, qui ont un antécédent de cancer du sein ou de l'ovaire au premier degré. Lorsque l'indication à un ETP est retenue, l'application indique les coordonnées du service de génétique le plus proche, ainsi qu'un code que le patient communique lors de sa prise de rendez-vous. Ce code permet de façon cryptée et anonyme de tracer le parcours sur l'application qui a conduit à cette prise de RDV et justifie l'ETP. Cette application est en cours de diffusion séquentielle en Normandie et son impact sur le parcours du patient sera évalué. Cette application, qui pourra être diffusée après son évaluation à l'ensemble des régions françaises, devrait contribuer avec la stratégie des ETPs et du routage à construire un nouveau parcours en oncogénétique, permettant ainsi une meilleure réactivité et diffusion des consultations d'oncogénétique.

#20353 : Ne pas méconnaître l'étiologie des troubles neuro-développementaux : l'exemple de deux diagnostics tardifs de Syndrome de Williams-Beuren**Auteurs :**

Emilie LACOT-LERICHE (1, 2), Sara COSTANTINI (1), Olivier GODEFROY (3, 4), Laure IBERNON (2), Florence AMRAM (1), Guillaume JEDRASZAK (5), Gilles MORIN (6), Florence JOBIC (1)

1. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
2. CRP-CPO EA 7273, Université Picardie Jules Verne, Amiens, France
3. Service de Neurologie, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
4. Laboratoire de Neurosciences Fonctionnelles et Pathologies (EA 4559), Université Picardie Jules Verne, Amiens, France
5. Laboratoire de Génétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
6. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France

Mots clefs : Syndrome de Williams-Beuren, diagnostic tardif, étiologie, déficience intellectuelle, coordination des soins

Résumé :

Initialement décrit comme deux entités distinctes, le syndrome de Williams (1961) et le syndrome de Beuren (1962), le syndrome de Williams-Beuren (SWB) est une maladie génétique rare (#OMIM 194050) dont la prévalence est estimée à 1/7500. Son diagnostic est généralement fait pendant la petite enfance. Le SWB se caractérise principalement par l'association d'une dysmorphie faciale suggestive, de troubles neuro-développementaux, d'une atteinte cardiaque, d'une hypercalcémie et d'un retard de croissance. La microdélétion chromosomique causale est située dans la région q11.23 du chromosome 7 et a été découverte quelques années plus tard en 1993. Dans ce contexte de syndrome multi-systémique, il paraît primordial de pouvoir proposer à tous les patients un suivi précoce pluridisciplinaire. Le diagnostic est plus aisé pendant la petite enfance devant la dysmorphie faciale et le profil neuro-comportemental spécifique. A l'âge adulte, le diagnostic est plus difficile en raison du phénotype moins typique et en l'absence de lien entre les différents suivis.

Nous rapportons deux patientes adultes avec un diagnostic tardif d'un SWB. Pour la première patiente, le diagnostic a été effectué à l'âge de 69 ans. Cette femme peu scolarisée, ne sachant ni lire ni écrire, était suivie pour des troubles neuro-développementaux dont l'étiologie supposée était une prématurité. Devant une aggravation neurologique avec apparition d'hallucinations auditives et visuelles, la question d'une étiologie génétique sous-jacente s'est posée. Pour la seconde patiente, le diagnostic a été effectué à l'âge de 45 ans. Pendant l'enfance, elle avait bénéficié d'un suivi pédiatrique compte-tenu d'un retard staturo-pondéral et psychomoteur. Cette dame a été scolarisée, a acquis la lecture et l'écriture ne permettant toutefois pas l'autonomie professionnelle. Suite à un placement en institution, elle a été orientée en génétique.

Ces deux observations mettent en exergue la difficulté d'un diagnostic génétique chez les adultes présentant une déficience intellectuelle syndromique. Le recours à l'expertise des généticiens était moins systématique et les moyens de diagnostic moins efficaces il y a une trentaine d'années. Ainsi, chez certains adultes, l'origine de leurs symptômes n'a pu être retrouvée ne permettant pas de faire un lien entre leurs différents suivis médicaux. Un tel diagnostic est pourtant souhaitable afin d'adapter le suivi des patients, prévenir les complications et effectuer le conseil génétique aux familles. Il est donc important de sensibiliser nos confrères aussi bien de pédiatrie que de médecine adulte sur la nécessité d'explorer ce type de troubles neuro-développementaux afin de ne pas retarder de tel diagnostic et d'améliorer la prise en charge de ces patients.

Pièce jointe : Assises-2020-SWB-ServiceGénétiqueClinique-CHU_Amiens-Picardie.docx

#20323 : Intérêt de la réinterprétation des variants de signification incertaine : exemple d'une délétion hétérozygote incluant le gène *PLAG1* chez un patient avec retard de croissance

Auteurs :

Audrey Schalk (1), Benjamin Durand (1), Valérie Kremer (1), Sylvie Rossignol (2), Salima El Chehadeh (2), Sophie Scheidecker (3, 4)

1. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
2. Service de génétique médicale, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
3. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
4. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Résumé :

La réinterprétation des données antérieures des analyses chromosomiques sur puce à ADN réalisées au laboratoire nous a permis de reclasser certaines variations du nombre de copie initialement considérées comme étant de signification incertaine (classe 3), en variants de classes 4 ou 5, pouvant expliquer le phénotype du patient. Nous rapportons l'exemple d'une délétion impliquant le gène *PLAG1*, présente à l'état hétérozygote, détectée il y a plusieurs années chez un patient présentant un retard de croissance.

Le patient, âgé de 8 ans, présentait un retard de croissance intra-utérin dysharmonieux (taille et poids de naissance à -4 DS, périmètre crânien (PC) à -2 DS), non rattrapé (taille à -2,5 DS ; poids à -4 DS ; PC à -3,5 DS). Il avait également des particularités morphologiques incluant un phototype pâle, des cheveux et des sourcils épars, un visage triangulaire ainsi que des anomalies des extrémités de type syndactylie 2-3 des mains et clinodactylie de plusieurs orteils. S'y associaient des troubles digestifs à type de colopathie fonctionnelle. Par ailleurs le développement psychomoteur était dans les normes pour l'âge.

L'analyse par CGH-array réalisée en 2016 avait mis en évidence chez ce patient une perte d'une copie de la région 8q21.1 d'environ 184 kb incluant la totalité des gènes *MOS*, *PLAG1*, *CHCHD7* et des parties codantes du gène *RPS20*. L'analyse parentale avait conclu à une variation *de novo*. Au moment de l'interprétation, les gènes inclus dans la délétion n'étaient pas rapportés en pathologie humaine constitutionnelle. *PLAG1* était décrit comme un oncogène chez l'homme et des modèles animaux avaient démontré son implication dans la croissance. Cependant, les données de la littérature et des bases de données étaient insuffisantes pour conclure quant à la pathogénicité de cette délétion.

Des données récentes ont permis de démontrer le rôle majeur de *PLAG1* dans la voie signalisation *HMG2-PLAG1-IGF2* impliquée dans la physiopathologie des retards de croissance. De plus, des variants *frameshift* à l'état hétérozygote dans le gène *PLAG1* ont été rapportés chez des patients présentant un phénotype évocateur de syndrome de Silver-Russell. L'ensemble de ces données, en faveur d'une haploinsuffisance du gène *PLAG1* responsable d'un retard de croissance, nous ont permis de reclasser la délétion identifiée chez notre patient comme étant « probablement pathogène » (classe 4) et expliquant son phénotype.

En conclusion, cet exemple souligne l'importance de la réinterprétation des variants de pathogénicité incertaine plusieurs années après la date de rendu de résultat, avant de poursuivre vers d'autres investigations génétiques (séquençage haut-débit ciblé, séquençage d'exome...). Nous rapportons à notre connaissance la première délétion impliquant le gène *PLAG1* présente à l'état hétérozygote, chez un patient au phénotype évocateur de syndrome de Silver-Russell.

Pièce jointe : Abstract_PLAG1_Assises2020_final.docx

#19836 : Confirmation de l'implication du gène VPS13D dans les ataxies spastiques grâce au séquençage d'exome**Auteurs :**

Christelle Durand (1, 2), Chloé Angelini (2)

1. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

2. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : VPS13D, ataxie spastique, exome

Résumé :

Les paraplégies spastiques héréditaires sont des pathologies caractérisées par une spasticité progressive des membres inférieurs. Récemment, des variants bialléliques dans *VPS13D* ont été rapportés chez des patients présentant une paraplégie spastique ou des troubles du mouvement de début infantile.

Nous rapportons ici le cas d'un patient avec une ataxie spastique liée à *VPS13D*. Le patient, sans antécédents familiaux notables, a présenté une paraplégie spastique touchant les membres inférieurs, qui s'est installée depuis l'âge de 7 ans. Celle-ci s'est progressivement aggravée, avec la nécessité de marcher avec une canne à l'âge de 19 ans puis de se déplacer en fauteuil roulant à partir de 26 ans. Il s'est plaint de troubles mnésiques et attentionnels à partir de ses 22 ans, troubles qui ont été confirmés par un bilan neuropsychologique. A 45 ans, une ataxie principalement statique a également été notée, associée à une spasticité sévère des membres inférieurs. L'IRM cérébrale a mis en évidence une atrophie cérébelleuse prédominant sur le vermis ainsi qu'une moelle cervicale atrophique.

Le séquençage d'exome en trio chez ce patient a mis en évidence la présence de variants présents à l'état hétérozygote composite dans *VPS13D* : c.946C > T, p.Arg316* et c.12416C > T, p.Ala4139Val. Le dernier variant était prédit comme pathogénique grâce aux outils de prédiction *in silico*.

Des analyses fonctionnelles ont été réalisées grâce à la biopsie de peau réalisée chez ce patient, afin de préciser l'impact de ces variants sur la fonction mitochondriale. En effet, la littérature médicale avait mis en évidence une implication de *VPS13D* dans le fonctionnement mitochondrial. L'analyse de l'organisation du réseau mitochondrial par microscopie à fluorescence a montré des mitochondries fragmentées. Les analyses par western blot ont également mis en évidence une diminution drastique des complexes mitochondriaux, suggérant une altération de la fonction mitochondriale.

Ces analyses fonctionnelles renforcent le caractère pathogène de ces variants de *VPS13D* et ce nouveau patient confirme donc la présence d'ataxies spastiques liées à *VPS13D*.

Pièce jointe : VPS13D assises.docx

#20254 : Extension du spectre clinique de l'ataxie récessive associée à STUB1

Auteurs :

Jean-Marie Ravel (1), Cecilia Marelli (2), Claire EWENCZYK (3), Michel Koenig (4), Jamel Chelly (5), Mathilde Renaud (1)

1. génétique clinique, CHRU Nancy, Nancy, France
2. Neurologie, CHU Gui de Chauliac, Montpellier, France
3. Département de génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire , EA7402 Institut Universitaire de Recherche Clinique, Montpellier, France
5. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Unité de génétique moléculaire, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Strasbourg, France

Résumé :

Autosomal recessive spinocerebellar ataxia-16 (# 615768) is a rare progressive neurological disorder caused by homozygous or compound heterozygous mutation in the STUB1 gene (MIM 607207) on chromosome 16p13. Only a few reports are available in the literature and associated truncal and limb ataxia resulting in gait instability.

Here we report four adult cases: two adult sisters belonging to a non-consanguineous French family affected with progressive cerebellar ataxia and two other cases from independent families.

The first sister had slowly progressive ataxia, upper limb dystonia with amyotrophic hand, and pyramidal signs. The second had a major static and kinetic syndrome associated with diffuse amyotrophy, psychomotor delay and dystonia. Age of onset was respectively 22 and 14. Brain MRI showed marked cerebellar atrophy in both cases.

Using Truesight panel, two mutations in exon 7 of STUB1 were found in the first sister: c.814C>T causing the missense change p.Arg272Trp and c.863_865delAGG causing the false sense p.Glu288del.

The phenotypic findings associated with STUB1 mutations include wide spectrum ranging from slowly progressive to severe encephalopathy and syndromic recessive ataxia.

#20489 : L'effet des CNVs neuro-psychiatriques sur la structure et la connectivité fonctionnelle cérébrale

Auteurs :

Sébastien Jacquemont (1), Claudia Modenato (1), Moreau Clara (2), Kuldeep Kumar (3), Sebastian Urchs (4), Catherine Schramm (5), Guillaume Huguet (6), Bogdan Draganski (7), Carrie Bearden (8), Pierre Bellec (9)

1. Service de Génétique, University of Montréal, University Hospital Sainte Justine, Montréal, Canada
2. Département de Neurosciences, University of Montréal, University Hospital Sainte Justine, Montréal, Canada
3. Département de Neurosciences, Centre de Recherche de l'Hôpital Sainte Justine, Montréal, Canada
4. Département de Neurosciences, Montreal Neurological Institute, McGill University, Montréal, Canada
5. Département de statistique et mathématique, Centre de Recherche de l'Hôpital Sainte Justine, Montréal, Canada
6. , Centre de Recherche de l'Hôpital Sainte Justine, Montréal, Canada
7. Département de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois CHUV, Lausanne, Suisse
8. Department of Psychology, University of California, Los Angeles, Semel Institute for Neuroscience and Human Behavior, Los Angeles, Etats-Unis
9. Département de Psychologie, Centre de Recherche de l'Institut Universitaire de Gériatrie de Montréal, Montréal, Canada

Mots clefs : CNV, Brain structure, Resting state functional connectivity

Résumé :

Context:

Standard diagnostic practices identify rare Copy Number Variants in 5 to 20% of patients referred to the clinic for neuropsychiatric conditions such as autism, intellectual disabilities and schizophrenia. However, most CNVs are ultra-rare and remain undocumented. We recently developed statistical models to estimate the effect size of any undocumented CNVs on IQ and autism risk. However, mechanisms linking CNVs to an increase in neuropsychiatric risk remains mostly unknown. In particular, very few neuroimaging studies have been conducted on rare variants.

Aims:

- 1) To characterize the effect of 8 neuro-psychiatric CNVs on neuroanatomy and functional connectivity.
- 2) Establish the potential convergence of CNVs on shared intermediate brain phenotypes.
- 3) Investigate if these CNV patterns may help decipher the complex alterations observed in idiopathic psychiatric conditions.

Methods

The brain MRI analyses were performed on T1 weighted images and resting-state functional Magnetic Resonance Imaging (Rs-fMRI) data. We studied participants ascertained using three methods:

- 1) 300 CNV carriers (16p11.2, 22q11.2, 1q21.1) and 300 controls ascertained in the neurodevelopmental disorder clinic.
- 2) 170 CNV carriers (1q21.1, 15q11.2) and 4000 controls ascertained from the general population.
- 3) 755 individuals ascertained for idiopathic ASD, SZ, or ADHD and 2625 controls.

Results:

CNVs at all loci have global and independent regional effects on brain structure and functional connectivity. The effect sizes on brain measures are similar to those measured on cognition. Brain phenotypes are present whether the carrier is ascertained in the clinic or the general population. We show that CNVs at all loci converge on several neuroanatomical alterations involving middle and anterior cingulate, the medial frontal cortex, posterior insula, fusiform gyrus, lingual gyrus, thalamus and parahippocampal gyrus. At the functional level, there are also overlapping patterns between CNVs involving the frontoparietal, ventral attentional, and somatomotor networks. Functional connectivity-signatures of CNVs showed significant similarities to the connectomes of individuals with idiopathic ASD and SZ (not ADHD) when compared to controls. Individuals with higher similarity to deletion FC-signatures had worse behavioural and cognitive symptoms.

Conclusion:

CNVs at different loci converge on neuroanatomical and functional connectivity patterns. We hypothesize that CNVs at many more loci also share these effects. We will present preliminary data on the genome-wide impact of CNVs on brain structure. It is unclear why genes involved in unrelated functions share overlapping brain phenotypes, and we will present preliminary results on patterns of gene expression in the brain.

#20495 : Identification d'une mutation sur le gène CDH1 dans une famille sans cas index accessible

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 : Linéites gastrique, CDH1, dépistage, conseil génétique

Résumé :

Une mutation germinale délétère du gène CDH1, qui code pour la protéine d'adhésion inter-cellulaire E-cadhérine, est identifiée dans 50 % des cas de carcinome gastrique à cellule indépendante. La pénétrance élevée de ce syndrome n'est pas complète. Certaines études récentes semblent indiquer un risque moins important et plus tardif que celui préalablement décrit.

Un homme de 32 ans avait déclaré un carcinome gastrique de type linéite avec cellule en bague à chaton, métastatique d'emblée, sans facteur de risque (cas index). Selon les informations transmises initialement, il n'existait pas d'antécédent de cancer du sein ou de l'estomac chez ses apparentés. L'évolution clinique rapide n'a pas permis la réalisation d'une consultation en oncologie génétique. En raison de la notion du taux faible de néo mutation du gène CDH1, malgré l'absence d'antécédents familiaux et après discussion en RCP locale, l'indication d'analyse chez les parents du patient a été validée, dans l'objectif d'un conseil familial.

Nous avons identifié une mutation non-sens sur le gène CDH1 (c.2398del) chez le père du cas index. La sœur, 2 oncles (sur 5) et 1 cousine du cas index sont également porteurs de cette mutation. Tous ces patients ont accepté la gastrectomie.

Il a été identifié une lésion infiltrante d'adénocarcinome à cellule indépendante gastrique à la fois chez le père (58 ans) et l'un des oncles (59 ans) du cas index. En revanche il n'a été détecté aucune lésion ou foyer de cellule indépendante même après relecture sur la pièce de gastrectomie du 2^{ème} oncle (56 ans).

Pour la sœur (31 ans) et la cousine (28 ans, fille de l'oncle ayant déclaré une lésion infiltrante), il existait sur dans la moitié supérieure de l'estomac une dizaine de foyers microscopiques constitués de cellules indépendantes en bague à chaton mais pas de lésion infiltrante.

Le dépistage familial est en cours dans les branches plus éloignée et a déjà permis d'identifier des individus à risque. Avec la reprise de l'interrogatoire, aucune des apparentées de sexe féminin, porteuses obligatoires, n'auraient déclaré de cancer du sein mais possiblement des cancers de l'estomac. L'ancienneté des dossiers ne permet pas de vérification et donc de s'assurer du type histologique.

Ce tableau clinique est compatible avec la notion de pénétrance incomplète de ce syndrome et semble en accord avec les descriptions récente de risque tardif de cancer de l'estomac. Associé avec la notion de taux faible de néo-mutation, nous suggérons que cela puisse argumenter la recherche d'apparentés sains en vue d'un dépistage même s'ils sont relativement âgés et asymptomatique. Poursuivre les investigations dans cette famille permettrait peut-être de déterminer des facteurs expliquant les différences de phénotype intrafamilial.

#19936 : Les actions de la filière AnDDI-Rares pour les personnes atteintes d'anomalies du développement sans diagnostic**Auteurs :**

Laurent Demougeot (1), Gwendoline Giot (2), Laetitia Domenighetti (3), Tania Attié-Bitach (4), Claire Beneteau (5), Martine Doco-Fenzy (6), Emilie Murcier (7), Sylvie Odent (8), Florence Petit (9), Gwenaëlle Staub (10), Magali Padre (11), Laurence Faivre (1)

1. Filiale AnDDI-Rares - CLAD Est, CHU Dijon, Dijon, France
2. Filiale ANDI-Rares - CLAD Ouest, CHU Angers, Angers, France
3. Filiale AnDDI-Rares - CLAD Ile de France, Necker, Paris, France
4. Filiale AnDDI-Rares - CLAD Ile de France, CHU Paris, Paris, France
5. Filiale AnDDI-Rares - CLAD Ouest, CHU Nantes, Nantes, France
6. Filiale AnDDI-Rares - CLAD Est, CHU Reims, Reims, France
7. Association Francophone du Syndrome de Kleefstra, AFSK, Nedde, France
8. Filiale AnDDI-Rares - CLAD Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
9. Filiale AnDDI-Rares - CLAD NORD, CHU Lille, Lille, France
10. Filiale AnDDI-Rares - CLAD Ile de France, APHP, Paris, France
11. Association Sans Diagnostic et Unique, ASDU, Limoges, France

Mots clefs : Sans diagnostic, Errance et impasse diagnostiques, Anomalie du développement, génétique

Résumé :

Le Plan National Maladies Rares 3 maintient la volonté de favoriser l'accès au diagnostic des patients. L'organisation des soins continue à poser des problèmes spécifiques d'accès au diagnostic avec une errance encore beaucoup trop élevée, qui nécessite de poursuivre les efforts de structuration et de coordination. La filière AnDDI-Rares, dédiée aux anomalies du développement avec ou sans déficience intellectuelle, compte environ 50% de personnes sans diagnostic (SD). Elle a constitué une commission transversale (CT) pour l'amélioration de l'accompagnement des personnes SD.

Mis en place en 2018, la CT a mis en place de nombreuses actions :

- Soutien à l'organisation de la journée nationale de l'association sans diagnostic et unique (ASDU) en 2019.
- Elaboration d'une foire aux questions à partir des interrogations formulées par des familles. Cette FAQ sera mise en ligne sur le site de l'ASDU et sera déclinée en un livret d'information pour les familles.
- Soutien à l'organisation de rencontres régionales « Accompagnement des personnes SD » associant des acteurs médicaux, paramédicaux, médicaux-sociaux et associatifs. Elles permettent de sensibiliser aux enjeux des personnes SD, de répondre aux questions des familles, d'identifier des structures ressources et d'envisager des coopérations.
- Participation aux réflexions sur la mise en œuvre d'un entrepôt de données sur l'errance et l'impasse diagnostiques afin d'optimiser l'abondement de l'observatoire du diagnostic, de standardiser une collecte de données homogène et de faciliter l'inclusion de patients dans les programmes de recherche.
- Réalisation d'une étude exploratoire sur le parcours médico-social des familles d'enfants atteints d'une maladie rare du développement SD afin d'identifier le rôle que peut jouer l'absence de diagnostic sur l'accès et le recours à la reconnaissance sociale du handicap.
- Suivi de la structuration de l'offre du séquençage haut débit d'exome à titre diagnostique en France.
- En lien avec l'axe prise en charge et formation, création d'un projet d'ETP sur la problématique du statut de SD.
- En lien avec l'axe recherche, proposition d'études pilotes de recherche sur l'accès à l'exome pour le diagnostic des nouveaux nés malformés en réanimation néonatale, ou en situation prénatale.

Cette CT a également choisi d'accompagner la transition d'un statut de SD à celui d'une pathologie ultra-rare

- Rédaction d'un protocole de rendu des résultats d'un diagnostic ultra-rare afin de répondre au mieux aux attentes des familles. Ce document complète le guide de consultation de médecine génomique réalisé par la filière.
- Organisation de rencontres Patients/Cliniciens/Chercheurs : chaque réunion est dédiée à une maladie ultra-rare et réunit des familles et les experts du gène.

Ces travaux concourent à l'améliorer l'information et diffuser des recommandations pour l'accompagnement des personnes SD auprès des familles et des professionnels pour un meilleur accès aux droits et au diagnostic.

#20233 : PRSS56 : présentation de 4 nouvelles familles avec microphthalmie postérieure et nanophthalmie et revue de la littérature**Auteurs :**

Bertrand Chesneau (1), Patrick Calvas (1, 2), Laurence Olivier Faivre (3), Patricia Ramos (4, 5), Marta Cortón Pérez (4, 5), Nicolas Chassaing (1, 2), Julie Plaisancié (1, 2)

1. Génétique Médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France
2. INSERM U1056, Université Toulouse III, Toulouse, France
3. Centre de Génétique, Centre de Référence Maladies Rares, Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
4. Department of Genetics, Instituto de Investigacion Sanitaria-Fundacion Jimenez Diaz University Hospital-Universidad Autónoma de Madrid (IIS-FJD, UAM), Madrid, Espagne
5. Center for Biomedical Network Research on Rare Diseases (CIBERER), ISCIII, Madrid, Espagne

Mots clefs : Microphthalmia, nanophthalmia, posterior microphthalmia, PRSS56, MFRP

Résumé :

Nanophthalmia and posterior microphthalmia represent rare and distinct clinical entities belonging to the micro-anophthalmia spectrum. While posterior microphthalmia only affects the posterior segment of the eye, nanophthalmia, in which the entire globe is reduced, is classically described with microcornea and susceptibility to angle closure glaucoma. Biallelic mutations in the *PRSS56* and *MFRP* genes are specifically involved in autosomal recessive forms of these ocular developmental defects. Since its first description almost 10 years ago, around 50 families have been reported to date with only 19 variants described in the *PRSS56* gene. Here we describe 5 new patients from 4 families with a phenotype of nanophthalmia or posterior microphthalmia and biallelic pathogenic or likely pathogenic variants in *PRSS56* including 4 novel variants. We also provide a review of the literature of patients with biallelic mutations in *PRSS56* to try to see if a phenotype-genotype correlation emerges from it, as variants of different nature have been described in the *PRSS56* gene.

#20526 : Diagnostic moléculaire des amyotrophies spinales infantiles par PCR RFLP : 1ère série du service de Génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech**Auteurs :**

meriem elqabli (1), Fatimazzahra Bouzid (1, 2), NISRINE ABOUSSAIR (2), MOUNA BENAICHA (3), abdelmajid MOUSSAOUI (4), hassan akallakh (1)

1. SERVICE DE Génétique, chu mohammed VI marrakech, MARRAKECH, Maroc
2. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, MARRAKECH, Maroc
3. service de Génétique_, chu mohammed VI de Marrakech, marrakech, Maroc
4. service de Génétique_chu mohammed VI de Marrakech, chu mohammed VI de Marrakech, marrakech, Maroc

Mots clefs : Amyotrophie spinale infantile, SMN1, Exon 7, délétion homozygote, PCR-RFLP

Résumé :

Les amyotrophies spinales infantiles sont des maladies neuromusculaires autosomiques récessives. Elles entraînent une faiblesse musculaire plus ou moins importante selon l'âge, qui est due à la dégénérescence et la perte des motoneurones antérieurs de la moelle épinière et des noyaux du tronc cérébral dans les cas les plus sévères. Ce sont les maladies héréditaires récessives les plus fréquentes après la mucoviscidose (incidence 1/6000 naissances). Elles sont dues à une délétion homozygote du gène Survival Motor Neuron1 (SMN1), avec une fréquence de 1/40 à 1/60.

Dans ce travail, nous rapportons les résultats d'une étude moléculaire rétrospective par PCR-RFLP pour détecter la délétion de l'exon 7 chez 28 patients adressés au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour une suspicion d'amyotrophie spinale (SMA).

Le diagnostic a été confirmé chez 15 patients soit (53,57%) des cas avec une prédominance masculine (le sex-ratio égal à 1.55). La consanguinité est retrouvée chez 42,86% des patients mutés.

Ce travail souligne l'importance de la recherche de la délétion homozygote de l'exon 7 du gène SMN1 devant toute suspicion de SMA.

#20499 : Galaxy: a suitable bioinformatics platform for next generation sequencing data analysis in a clinical laboratory. Four Years Experience in a University Group Hospital.

Auteurs :

Bruno FRANCOU (1, 2), Christophe HABIB (3), Alexis PROUST (1), Eric ADNET (4), Anne SPRAUL-DAVIT (5), Claire DEBACK (6), Thierry NAAS (7), Jacques YOUNG (8, 2), David ADAMS (9), Emmanuel GONZALES (10), Jean-Charles DUCLOS-VALLEE (11), Claire BOUVATTIER (12), Peter KAMENICKY (13), Agnès LINGLART (14), Anne GUIOCHON-MANTEL (1, 2), Jérôme BOULIGAND (1, 2)

1. Service de Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique, Hormonologie, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, APHP, Le Kremlin Bicêtre., Hôpitaux Universitaires Paris Sud., LE KREMLIN BICETRE, France
2. 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
3. Plateforme d'Expertise Paris Sud Maladies Rares, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, APHP., Hôpitaux Universitaires Paris Sud., LE KREMLIN BICETRE, France
4. DSI, Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Le Kremlin-Bicêtre, France
5. Biochimie, Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Le Kremlin-Bicêtre, France
6. Laboratoire de Virologie, Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Villejuif, France
7. Service de Bactériologie-Hygiène, Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Le Kremlin-Bicêtre, France
8. 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
9. Service de Neurologie, Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Le Kremlin-Bicêtre, France
10. Service d'Hépatologie Pédiatrique, Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Le Kremlin-Bicêtre, France
11. Hépatologie (Centre Hépto-Biliaire), Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Villejuif, France
12. Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Le Kremlin Bicêtre, France
13. Unité UMRS1185, Faculté de Médecine Paris Sud Paris Saclay, Le Kremlin-Bicêtre, France
14. Plateforme d'expertise maladies rares Paris-Sud (APHP), Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Le Kremlin-Bicêtre, France

Mots clefs : Bioinformatics, Galaxy.

Résumé :

Context : Galaxy is an open source bioinformatics platform that facilitates the access to bioinformatics to biologists through an intuitive web interface. There is a constant and successful evolution since the project initiation in 2005. To date, the use of Galaxy is mainly reported on the research field.

Aim : To report the four years experience (2015-2018) of a hospital group from "Assistance Publique Hôpitaux de Paris" (APHP) demonstrating that the Galaxy open source bioinformatics platform is actually suitable for NGS data analysis in a clinical laboratory.

Methods : We acquired a HP server with 16 cores and 283Gb of RAM running under Debian OS (~ 15 k€). The Galaxy platform follows the best practices of the galaxy team with uwsgi web server, nginx proxy and HTCondor as scheduler. This instance is only accessible and secured through hospital's intranet. All the sequence files (Fastq) are automatically loaded into the data libraries and each laboratory has access to its own data only. Each group of diseases has a dedicated workflow following the GATK best practice of the Broad Institute and department specifications. Workflows following Broad Institute GATK best practices were designed and validated by both bioinformatics engineer and biologist or geneticist.

Results : Our Galaxy instance is running since July 2014. It is used every day by 8 biologists and 10 technicians in 4 departments, interested in Mendelian diseases but also occasionally for cancer and microbiology. For the molecular diagnosis of hereditary diseases, more than 4000 patients were analyzed in the Galaxy instance. The time for processing a batch of 23 patients - a run of MISEQ for target DNA sequencing - from raw data to annotated vcf in Galaxy is generally inferior to 2 hours. Over 4 years, we did not experiment any significant troubleshooting using Galaxy, demonstrating the robustness of our installation with HT condor handler and PostgreSQL database. The server was only restarted twice due to maintenance of hardware. The sensibility and specificity of our method (all SNVs and small InsDel variant in coding regions $\pm$ 2 bp) was evaluated by the EMQN program of external evaluation of quality for NGS Sequencing. Sensibility and specificity were of almost 99%.

Conclusion : Galaxy is a suitable platform for Next-generation data analysis in a clinical laboratory.

#20396 : Investigations génétiques post-mortem dans les cas de mort subite inattendue du nourrisson et du sujet jeune : résultats d'un panel de 181 gènes**Auteurs :**

Audrey Schalk (1), Bénédicte Gerard (1), Jean Muller (1, 2), Ayikoe Mensah-Nyagan (3), Omar Taleb (3), Kevin Rollet (3), Bertrand Ludes (4), Pascal Kintz (5), Christine Keyser (6), Jean Sébastien Raul (5), Elise Schaefer (7, 2), Audrey Farrugia (6, 3)

1. Laboratoires de diagnostic génétique, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Unité de recherche INSERM U1119 Biopathologie de la Myéline, Neuroprotection et Stratégies Thérapeutiques, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Université de Paris, BABEL, CNRS, Institut de médecine légale de Paris, Paris, France
5. Institut de médecine légale, Faculté de Médecine FMTS, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Institut de médecine légale, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Service de Génétique Médicale, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : mort subite, génétique, médecine légale, multidisciplinarité

Résumé :

La mort subite inattendue du nourrisson (0-2 ans), largement connue du grand public, correspond à la survenue brutale et inattendue d'un décès demeurant inexpliqué au terme d'une autopsie complète. La mort subite peut également touchée le sujet jeune (2-40 ans) et près de 50% de ces décès sont liées à des causes héréditaires et génétiques. Si dans la majorité des cas une anomalie structurale cardiaque ou extra-cardiaque est retrouvée, la cause du décès demeure indéterminée dans 3 à 30 % des cas. Ces décès sont alors qualifiés de morts subites inexpliquées (MSI) du sujet jeune. La principale hypothèse diagnostique retenue est l'arythmie fatale survenant sur un cœur structurellement sain, consécutive aux canalopathies génétiques (syndrome de Brugada, tachycardie ventriculaire polymorphe catécholaminergique, syndrome du QT long congénital, ...). Chez les patients aux antécédents d'épilepsie, on évoque également une éventuelle SUDEP (*sudden unexplained death in epilepsy*).

Pour explorer les causes génétiques de ces décès inexpliqués après autopsie, nous avons mis en place une approche diagnostique par séquençage haut débit sur 181 gènes responsables de cardiomyopathies, canalopathies et également d'épilepsie. Le séquençage ciblé a été réalisé à partir de prélèvements post-mortem effectués lors d'une MSI dans le cadre d'un projet de recherche portant sur 61 patients (0 à 45 ans) autopsiés à l'Institut Médico-Légal de Strasbourg (2008-2018).

Le rendement diagnostique positif de ce panel est de 11,4 % pour les variants pathogènes (classe 4 ou 5) et de 39 % pour les variants de signification incertaine (classe 3). Ces variants sont détectés notamment dans les gènes *RYR2*, *KCNH2* et *SCN5A*. La détection des variants de classe 3 nécessite des explorations complémentaires incluant entre autre une ségrégation familiale, des analyses fonctionnelles et soulève donc la question de la prise en charge globale des MSI.

Cette approche diagnostique a été développée en parallèle de la mise en place d'un circuit de prise en charge des apparentés du défunt entre les légistes, les généticiens et les cardiologues pour leur proposer, avec l'accord du Magistrat, une enquête génétique et, si nécessaire, un suivi clinique voire des thérapeutiques adaptées pour prévenir la survenue d'une nouvelle mort subite.

Cette stratégie globale contribue à l'élargissement des connaissances sur les MSI au niveau des spectres cliniques, histopathologiques et génétiques connus et souligne l'intérêt majeur de la prise en charge multidisciplinaire des cas de MSI du sujet jeune et du nourrisson.

Pièce jointe : abstract_MSI_Assises 2020_final.docx

#20488 : Fortuitous detection of three new delta-thalassemia mutations during HbA1c quantification in Tunisian diabetic patients

Auteurs :

Chaima Kasmi (1, 2), Yessine Amri (3, 4), Malek Dabboussi (5, 4), Rahma Mahjoub (6, 7), sondess Hadj-fredj (8, 4), Manel Zouaoui (9, 4), Amal Guesmi (10, 4), Sabrina Oueslati (11, 4), Chiraz Amrouche (12, 13), Henda Jamoussi (14, 13), Feyka Ben mami (15, 13), Ines Kammoun (16, 13), Taieb Messaoud (17, 7), Amina Bibi (18, 7)

1. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéinémies, diabète et hormones, Institut National de Nutrition et de technologie Alimentaire-Tunis-Tunisie , Tunis, Tunisie
2. , Faculté des sciences de Bizerte - Université de Carthage - Tunisie , Bizerte, Tunisie
3. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire- laboratoire de recherche LR00SP03 , Hôpital d'enfants Béchir Hamza -Tunis- Tunisie, Tunis, Tunisie
4. , Faculté des sciences de Tunis - Université de Tunis El Manar- Tunisie , Tunis, Tunisie
5. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéinémies, diabète et hormones, institut national de nutrition et de technologie alimentaire -Tunis-Tunisie, Tunis, Tunisie
6. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéinémies, diabète et hormones, institut national de nutrition et de technologie alimentaire- Tunis -Tunisie, Tunis, Tunisie
7. , Faculté de pharmacie de Monastir -Université de Monastir - Tunisie , Tunis, Tunisie
8. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire- laboratoire de recherche LR00SP03 , hôpital d'enfants Béchir Hamza -Tunis- Tunisie, Tunis, Tunisie
9. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéinémies, diabète et hormones, Institut national de nutrition et de technologie alimentaire, Tunis, Tunisie
10. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéinémies, diabète et hormones, institut national de nutrition et de technologie alimentaire - Tunis- Tunisie, Tunis, Tunisie
11. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéinémies, diabète et hormones, institut national de nutrition et de technologie alimentaire- Tunis- Tunisie, Tunis, Tunisie
12. service des consultations externes , institut national de nutrition et de technologie alimentaire - Tunis - Tunisie, Tunis, Tunisie
13. , faculté de médecine de Tunis- université de Tunis EL Manar- Tunis -Tunisie, Tunis, Tunisie
14. département des maladies de la nutrition A- Unité de recherche sur l'obésité- , institut national de nutrition et de technologie alimentaire - Tunis- Tunisie, Tunis, Tunisie
15. Département des maladies de la nutrition C , Institut national de nutrition et de technologie alimentaire- Tunis- Tunisie, Tunis, Tunisie
16. département d'endocrinologie B, Institut national de nutrition et de technologie alimentaire - Tunis- Tunisie, Tunis, Tunisie
17. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire- laboratoire de recherche LR00SP03 , Hôpital d'enfants Béchir Hamza -Tunis - Tunisie., Tunis, Tunisie
18. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéinémies, diabète et hormones, Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire-Tunis- Tunisie, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Thalassemia, hemoglobinopathies, delta-globin gene, hemoglobin A2, capillary electrophoresis, DNA sequencing

Résumé :

Introduction: Thalassemia and hemoglobinopathies are the most common genetic anemias worldwide, occurring more frequently in the Mediterranean area. Alpha- and beta-globin variants and thalassemias represent the most severe forms of hemoglobinopathies. However, neither structural variants nor thalassemia resulting from mutations on the *HBD* gene have clinical consequences. Nevertheless, delta gene mutations are important for fundamental studies and diagnosis. In this work, we aimed to perform a molecular study to determine mutations responsible for delta-thalassemia in diabetic Tunisian patients.

Patients and methods: the study enrolled 22675 diabetic patients monitored in the different departments of the national institute of nutrition and food technology of Tunis between February 2018 and July 2018. For these individuals, a determination of HbA_{1c} was recommended. Based on results of hemoglobin electrophoresis, we selected 152 patients presenting HbA₂ ≤1.5% who benefited from biochemical (iron status) and hematology study. Finally, only 43 patients were screened for delta-thalassemia mutations using direct DNA sequencing. The reported genetic variations were then analyzed using referenced bioinformatics tools.

Results: The genetic analysis led to the identification of one previously described mutation delta Ala27Ser (HbA₂-Yialousa) in 72.72% of cases in addition to three new delta-thalassemia mutations. The first new mutation was a frameshift mutation (c.442 T>C) (Stop147Arg ext 15aa-stop), reported in 18.18% of cases. At the protein level, the substitution shifts the reading frame and results in the substitution of stop codon by Arg leading to the production of an abnormal delta subunit with 15 novel residues before the generation of a stop codon. For the second novel missense mutation delta Ala62Pro identified in 4.54% of cases, crystallographic structure analyzes demonstrated that the mutation would probably lead to a significant conformational change affecting the secondary structure. In fact, proline disrupts an alpha-helix when not located at one of the first 3 positions of that helix and this would have severe effects on the structure of the protein. The effect of the third novel splice site mutation c.93-1G>C (detected in 4.54% of cases) on normal splicing processes was predicted using HSF and ASSP splice-site prediction software programs. Results suggest the alteration of the wild type acceptor splice site leading to the production of an altered mRNA molecule.

Conclusion: The molecular characterization of Tunisian diabetic patients shows that the HbA₂-Yialousa variant represents the most frequent delta-

thalassemia mutation as reported in Mediterranean countries. Identifying other delta-thalassemia mutations is also important to establish mutational spectrum of the delta gene in Tunisia that would certainly serve to screen for delta and beta-thalassemia associated traits in patients with borderline HbA2 levels.

Pièce jointe : résumé VF chaima Kasmi 20 Oct 2019 (1).docx

#20411 : A novel single variant in the MEFV gene causing Mediterranean fever and Behçet's disease: a case report

Auteurs :

Fatima Zahra LAARABI (1), Maria Zerkaoui (2), Yousra Ajhoun (3), Bouchra Chkirate (4), Abdelaziz SEFIANI (5)

1. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Department of Ophthalmology, Mohammed V Military Teaching Hospital, Mohammed V University, , Rabat, Maroc
4. Pediatric Department IV, Children's Hospital, University Mohammed V, Rabat, Maroc
5. Centre de Génomique Humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc, Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

Mots clefs : Behçet's disease, Case report, FMF-BD coexistence, Familial Mediterranean fever, MEFV gene

Résumé :

BACKGROUND:

Familial Mediterranean fever is an autoinflammatory disease of unknown etiology, characterized clinically by recurrent attacks of sudden-onset fever with arthralgia and/or thoracoabdominal pain and pathogenetically by autosomal recessive inheritance due to a mutation in the MEFV gene. Behçet's disease is an inflammatory disease characterized by recurrent oral and genital aphthous ulcerations, uveitis, and skin lesions. Preliminarily, our literature review suggested that patients with familial Mediterranean fever who also have Behçet's disease have only a single mutated familial Mediterranean fever gene. The MEFV gene mutation responsible for familial Mediterranean fever is probably a susceptibility factor for Behçet's disease, particularly for patients with vascular involvement, and both disorders can occur concurrently in a patient, as in the present case.

CASE PRESENTATION:

A 10-year-old girl of Moroccan origin presented to our institution for genetic consultation for genetic testing of the MEFV gene. She had fever associated with abdominal and diffuse joint pain in addition to headache. These symptoms have oriented pediatricians to familial Mediterranean fever. The evolution was marked by Behçet's syndrome symptoms. Sanger sequencing followed by complete exome sequencing analysis of the MEFV gene for the proband mutation revealed a novel variant. We conclude that the novel single variant c.2078 T > A (p.Met693Lys) could be responsible for the association of familial Mediterranean fever and Behçet's disease.

CONCLUSION:

To the best of our knowledge, this is the first report of a new variant in exon 10 of the MEFV gene in a Moroccan family. This novel variant should be listed in the MEFV sequence variant databases.

KEYWORDS:

Behçet's disease; Case report; FMF-BD coexistence; Familial Mediterranean fever; MEFV gene

Pièce jointe : résumé LAARABI assises génétique 2020.docx

#20479 : Caractérisation phénotypique et génotypique d'une cohorte internationale de patients *TGFB3* et premier cas homozygote.**Auteurs :**

Luisa Marsili (1, 2), Eline Overwater (2, 3), Nadine Hanna (4, 5), Geneviève Baujat (6), Marieke J.H. Baars (3), Catherine Boileau (4, 7), Dominique Bonneau (8), Anne Claire Brehin (9), Yline Capri (10), Ho Yee Cheung (3), Eelco Dulfer (11), Marion Gerard (12), Laurent Gouya (7), Yvonne Hilhorst-Hofstee (13), Arjan C. Houweling (2), Bertrand Isidor (14), Lauriane Le Gloan (15), Leonie A. Menke (3), Sylvie Odent (16), Fanny Morice-Picard (17), Clemence Vanlerberghe (18), Els Voorhoeve (2), J. Peter van Tintelen (2, 19), Alessandra Maugeri (2), Pauline Arnaud (4, 5)

1. Clinique de Génétique, CHU Lille, Lille, France
2. Department of Clinical Genetics, Amsterdam UMC, Vrije Universiteit Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
3. Department of Clinical Genetics, Amsterdam UMC, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
4. Département de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Bichat, Paris, France
5. Laboratory for Vascular Translational Science, INSERM U1148, Université Paris Diderot, Hôpital Bichat, Paris, France
6. Service de Génétique, INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Institut Imagine, University Sorbonne-Paris-Cité, Paris, France
7. Centre de référence pour le syndrome de Marfan et apparentés, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Bichat, Faculté Paris Diderot, LVT INSERM U 1148, Paris, France
8. Service de génétique, CHU d'Angers, Angers, France
9. Department of Genetics, Normandy Centre for Genomic and Personalized Medicine, Normandie University, UNIROUEN, Inserm U1245 and Rouen University Hospital, Rouen, France
10. Department of Genetics, AHP-ROBERT DEBRE University Hospital, Denis Diderot School of Medicine, Paris, France
11. Department of Medical Genetics, University Medical Center Groningen, Groningen, Pays-Bas
12. Service de Génétique, CHU Caen, Caen, France
13. Department of Clinical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-Bas
14. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
15. Service de cardiologie, CHU Nantes, Nantes, France
16. Service de Génétique clinique, CHU de Rennes et Université Rennes, CNRS UMR6290 IGDR (Institut de Génétique et Développement de Rennes), Rennes, France
17. Service de dermatologie, Unité de dermato-pédiatrie du CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
18. Service de Génétique, CHU Lille, Lille, France
19. Department of Clinical Genetics, Utrecht University Medical Center, Utrecht, Pays-Bas

Mots clefs : *TGFB3*, transforming growth factor beta 3, maladie héréditaire du tissu conjonctif, dilatation et dissection aortique, syndrome de Loeys-Dietz

Résumé :

Les variants hétérozygotes (probablement) pathogènes du gène *TGFB3* sont impliqués dans la survenue d'une maladie héréditaire du tissu conjonctif qui se manifeste par un atteint squelettique, ophtalmologique et cardiovasculaire. Il s'agit d'une maladie rare, moins de 50 cas sont rapportés dans la littérature. Ainsi, son phénotype n'est pas encore bien connu.

Le but de cette étude rétrospective, observationnelle et multicentrique est de décrire le génotype et le phénotype d'une cohorte internationale des patients *TGFB3*.

Onze (8 nouveaux) variants du gène *TGFB3* ont été détectés chez 17 probands et 15 apparentés. Le profil mutationnel de notre cohorte comprenait des variants faux-sens, des sites d'épissage et tronquants, distribués sur toute la longueur de la séquence du gène, avec un hotspot mutationnel dans le motif RKKR, ce qui est en accord avec les données de la littérature scientifiques et des bases des données.

Nous avons observé une pénétrance incomplète et une variabilité d'expression clinique intra et inter-familiale. Il existait une fréquence élevée des signes systémiques (63% arachnodactylie, 63% pieds plats, 57% malformation du pectus, 52% hypermobilité articulaire) et des caractères dysmorphiques (65% palais creux, 42% visage allongé, 36% lèvre bifide, 32% hypertelorisme). Sur le plan cardiovasculaire, la dilatation/dissection de l'aorte et la valvulopathie (insuffisance ou prolapse) mitrale étaient les atteints plus fréquents, touchant 35% et 32% des patients respectivement.

Dans notre cohorte nous avons identifié le premier patient porteur d'un variant pathogène du gène *TGFB3* à l'état homozygote. Le phénotype ce patient était marqué par une dilatation aortique à l'âge de 17 ans, myopie sévère, fente palatine, macrognathie, oreilles bas-implantées, le phénotype étant généralement plus sévère par rapport au phénotype de ses apparentés qui étaient porteurs du variant à l'état hétérozygote.

En résumé, moins de 50 *TGFB3* patients ont été rapportés dans la littérature scientifique. Ici, nous décrivons les caractéristiques cliniques et génétiques d'une cohorte internationale de 32 patients (17 familles). Les variants (probablement) pathogènes du gène *TGFB3* sont associés à un phénotype marqué par une fréquence élevée de signes systémiques et d'atteinte aortique, en l'absence de risque accru de décès par maladie cardiovasculaire ni de complications sévères de la grossesse et de l'accouchement. Toutefois, les individus homozygotes peuvent présenter un phénotype plus sévère.

#19949 : Caractérisation phénotypique des chondrocytes fœtaux humains.

Auteurs :

Manon GODIN (1), Romain CONTENTIN (2), Bastien BOURDON (2), Florence LEGENDRE (3), Arnaud MOLIN (1), Coralie DAUGE (4), Magali DEMOOR (2), Philippe GALERA (2), Nicolas GRUCHY (5)

1. Service de Génétique, CHU Caen Normandie, Caen, France
2. , Normandie Univ, UNICAEN, EA 7450 BIOTARGEN, Caen, France
3. , Normandie Univ, UNICAEN, EA 7450 BIOTARGEN, caen, France
4. Service d'anatomie et cytologie pathologique, CHU Caen Normandie, caen, France
5. Service de génétique médicale, CHU Caen Normandie, Caen, France

Mots clefs : chondrocytes fœtaux, phénotype, ingénierie tissulaire, arthrose

Résumé :

L'arthrose est une pathologie dégénérative irréversible du cartilage articulaire. Différentes stratégies thérapeutiques ont été développées sans que l'on puisse actuellement la guérir. De nouvelles approches ont émergé comme la transplantation de chondrocytes autologues (TCA) initiée par Brittberg et ses collaborateurs en 1994. La TCA a permis le développement de plusieurs techniques d'ingénierie tissulaire permettant d'obtenir des organoïdes cartilagineux comme modèles d'étude du cartilage ou comme substitut biologique. Ces procédés restent perfectibles, entre autres du fait d'un phénomène de dédifférenciation chondrocytaire lors de l'indispensable phase d'amplification cellulaire. Il a été démontré l'intérêt de l'utilisation des chondrocytes fœtaux humains (CFH) de tête fémorale (TF) ou de genou comme source cellulaire. Du fait du processus d'ossification endochondrale, les foyers de CFH sont multiples. L'objectif de ce travail est de caractériser le phénotype de CFH issus de TF, de côtes (C) et de disques intervertébraux (DIV) en culture monocouche, ainsi que leur capacité de prolifération. Le potentiel de redifférenciation chondrocytaire des CFH est évalué en culture 3D, en hypoxie, en présence ou en absence du facteur chondrogénique, la « Bone Morphogenetic Protein-2 » (BMP-2) et ils sont comparés aux chondrocytes articulaires humains (CAH) adultes arthrosiques. Les résultats montrent une capacité de prolifération et de dédifférenciation différentes selon l'origine anatomique des CFH. Nous avons confirmé la capacité de redifférenciation des CFH. Par ailleurs, l'utilisation des CFH de DIV en présence de la BMP-2 semble la plus avantageuse. En accord avec les données de la littérature, nous avons également montré la supériorité des CFH vis-à-vis des CAH dans l'obtention d'organoïdes cartilagineux.

#19972 : Une nouvelle mutation homozygote perte-de-fonction de KCNQ3 est responsable d'une déficience intellectuelle non syndromique avec épilepsie pharmacodépendante de début néonatal**Auteurs :**

Anna Lauritano (1), Sébastien Moutton (2, 3), Elena Longobardi (1), Frédéric Tran Mau-Them (4, 5), Giusy Laudati (1), Piera Nappi (1), Maria Virginia Soldovieri (6), Paolo Ambrosino (7), Mauro Cataldi (1), Thibaud Jouan (4, 5), Daphne Lehalle (8, 4), Hélène Maurey (9), Christophe Philippe (4, 5), Francesco Miceli (1), Antonio Vitobello (3), Maurizio Taglialatela (10)

1. Division of Pharmacology, Department of Neuroscience, University of Naples "Federico II", Naples, Italie
2. Service de génétique médicale, centre de référence des anomalies du développement, CHU de Dijon, Dijon, France
3. INSERM U1231, LNC UMR1231 GAD, Université de Bourgogne, Dijon, France
4. INSERM U1231, LNC UMR1231 GAD, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
5. Laboratoire de Génétique, Innovation en Diagnostic Génomique des Maladies Rares UF6254, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
6. Department of Medicine and Health Science "V. Tiberio", University of Molise, Campobasso, Italie
7. Division of Pharmacology, Department of Science and Technology, University of Sannio, Benevento, Italie
8. Centre de référence des anomalies du développement, Service de génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France
9. Service de Neurologie Pédiatrique, APHP, Hôpital Universitaire Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, Paris, France
10. Division of Pharmacology, Department of Neuroscience, University of Naples "Federico II", Naples, France

Mots clefs : KCNQ3, exome, déficit intellectuel, épilepsie néonatale, épilepsie pharmacodépendante, variation perte de fonction, nonsense-mediated mRNA decay, électrophysiologie

Résumé :

Les variations hétérozygotes de *KCNQ2*, et de *KCNQ3* (plus rarement impliqué), sont responsables de présentations cliniques hétérogènes avec épilepsie infantile précoce de pronostic variable. Les formes familiales sont associées aux épilepsies néonatales bénignes alors que les mutations *de novo* sont principalement décrites chez des patients avec encéphalopathie épileptique pharmacorésistante sporadique. En dehors de 2 patients décrits dans la littérature porteurs de variants bialléliques de *KCNQ3*, tous les variants pathogènes sont hétérozygotes. Nous rapportons les données cliniques, moléculaires et fonctionnelles d'une nouvelle mutation de *KCNQ3*.

Un séquençage d'exome a été analysé chez une fille de 9 ans née de parents consanguins ayant une épilepsie néonatale pharmacodépendante et une déficience intellectuelle non syndromique après obtention du consentement de la famille. Des études fonctionnelles ont été menées d'une part sur fibroblastes issus de culture primaire du patient pour évaluer les niveaux d'expression de l'ARNm par RT-qPCR, de la protéine par Western-blot et la localisation cellulaire par immunofluorescence, et d'autre part sur cellules CHO transfectées par des plasmides obtenus par mutagenèse dirigée pour évaluer les conséquences électrophysiologiques par patch-clamp.

Une mutation homozygote du gène *KCNQ3* (NM_004519.3:c.1599dup) a pu être identifiée dans l'exon 12/15, prédite pour entraîner un codon stop prématuré p.(Phe534Ilefs*15). Les études d'expression ont montré une forte diminution de la quantité du transcrit et de la protéine par rapport à un contrôle homozygote sauvage de la famille, en faveur d'un mécanisme NMD. La masse de la protéine exprimée était en rapport avec la localisation du codon stop prématuré. Les études de patch-clamp ont montré que la protéine mutante exprimée perd sa capacité à s'homodimériser ou s'hétérodimeriser avec *KCNQ2* pour former un canal K⁺ fonctionnel.

Ainsi, on peut s'attendre à ce que le phénotype associé aux variations bialléliques perte de fonction de *KCNQ3* soient responsables d'un phénotype de DI non syndromique avec épilepsie.

Pièce jointe : Assises 2020 KCNQ3 résumé Moutton.docx

#20509 : Un nouveau variant homozygote du gène HMBS dans une famille présentant une atteinte neurologique et neurosensorielle avec atrophie optique.

Auteurs :

Sophie Scheidecker (1), Louise Porter (2), Neila Talbi (3), Caroline Schmitt (3), Véronique Geoffroy (1), Jean Muller (4), Stéphane Kremer (5), Esther Noel (6), Marie-Thérèse Abi Warde (7), Laurent Gouya (3), Corinne Stoetzel (1), Hélène Dollfus (8, 9)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Centre de Référence pour les affections rares en génétique ophtalmologique, CARGO, Filière SENSGENE, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. CRMR – Centre Français des Porphyrries, CHU Louis Mourier, Colombes, France
4. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Université de Strasbourg, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
5. Service de Neuroradiologie/Imagerie 2, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
6. Service de Médecine Interne – Diabète et Maladies métaboliques, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Service de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Université de Strasbourg, Strasbourg, France, Strasbourg, France
9. Centre de Référence pour les affections rares en génétique ophtalmologique, CARGO, Filière SENSGENE, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France, STRASBOURG, France

Mots clefs : HMBS gene, atrophie optique, surdité, atteinte neurologique

Résumé :

La porphyrie aigue intermittente (PAI) de transmission autosomique dominante se caractérise par des épisodes de douleurs abdominales, de troubles neurologiques, de tachycardie et d'hypertension artérielle. Elle résulte d'une diminution de moitié de l'activité enzymatique de l'Hydroxyméthylbilane Synthase (HMBS). Les individus porteurs d'un variant à l'état hétérozygote de ce gène sont à risque de présenter des crises dues à des facteurs déclenchants dans la moitié des cas. Les variants bialléliques, généralement associés à une perte complète de la fonction d'HMBS, sont rares et responsables d'un tableau neurologique sévère conduisant le plus souvent à un décès prématuré. Parmi les 8 cas décrits, une famille a cependant une préservation de l'activité d'HMBS et une atteinte moins sévère.

Nous rapportons ici une famille dans laquelle le cas index et son neveu, tous deux issus d'une union consanguine, présentent une atteinte neurologique et neurosensorielle. Le cas index a présenté une altération de la vision dès l'âge de 4 ans ayant conduit au diagnostic d'atrophie optique. Une surdité sensorielle est diagnostiquée précocement. Le développement psychomoteur était dans les normes et une ataxie et une paraplégie spastique apparaissent à l'âge de 7 ans. Il a une splénomégalie. L'IRM cérébrale révèle des anomalies de la substance blanche. Son neveu a une surdité, une paraplégie spastique et une leucodystrophie dès l'âge de 3 ans, sans atteinte ophtalmologique. A l'exception de l'atteinte visuelle qui s'est aggravée chez le cas index, l'atteinte neurologique est peu évolutive. Les bilans métaboliques réalisés initialement étaient sans anomalie et la recherche de mutations de l'ADN mitochondrial normale.

En l'absence de diagnostic moléculaire, un séquençage d'exome a été réalisé chez le cas index, ses parents asymptomatiques et le neveu atteint. Nous avons ainsi pu identifier un nouveau variant (NM_000190.3: c.271G > A ; p.Asp91Asn) du gène *HMBS* à l'état homozygote chez les deux patients et à l'état hétérozygote chez leurs parents. Les bilans biologiques complémentaires ont mis en évidence une fonction d'HMBS dans les normes mais une augmentation du porphobilinogène, de l'acide δ aminolévulinique et de la porphyrine totale. Les dosages réalisés chez les apparentés hétérozygotes sont comparables à ceux observés chez les individus ayant une PAI alors qu'aucune crise n'a été notée à ce jour chez eux.

Nous rapportons ainsi une nouvelle famille avec un variant du gène *HMBS* à l'état homozygote confirmant la présence d'un phénotype plus modéré, une évolution lente et une atteinte neurosensorielle initiale. Ce diagnostic est crucial pour le conseil génétique ainsi que pour la prise en charge et la mise en place de mesures de prévention adaptées chez les patients et leurs apparentés hétérozygotes. Cette observation suggère un mécanisme physiopathologique à l'origine de ces atteintes neurologiques différent de celui des crises neuroviscérales décrits dans la PAI.

Pièce jointe : Abstract_HMBS_Assises_2020.docx

#20600 : Spectre phénotypique du syndrome d'Allan-Herndon-Dudley syndrome : étude rétrospective de 24 patients porteurs de mutation dans SLC16A2**Auteurs :**

Cathy SARRET (1), Ganaelle REMERAND (1), Davide TONDUTI (2), Renaud TOURRAINE (3), Diana RODRIGUEZ (4), Aurore CURIE (5), Nathalie PERRETON (5), Vincent DESPORTES (5), Odile BOESPFLUG-TANGUY (6)

1. Pédiatrie, CHU de Clermont Ferrand, Clermont Ferrand, France
2. Neuropédiatrie, Ospedale V. Buzzi-ASST Fatebenefratelli Sacco, Milan, Italie
3. Génétique, CHU Saint Etienne, Saint Etienne, France
4. Neuropédiatrie, APHP, Hôpital Trousseau, PARIS, France
5. Neuropédiatrie, Hospices civils de Lyon, BRON, France
6. Neuropédiatrie, APHP, Hôpital Robert Debré, PARIS, France

Mots clefs : déficience intellectuelle, hypomyélinisation, transporteur MCT8, hormones thyroïdiennes

Résumé :

Objectif : redéfinir et détailler le phénotype des patients porteurs du syndrome d'Allan-Herndon-Dudley (AHDS) dû à des mutations dans le gène SLC16A2 codant pour le transporteur intracérébral des hormones thyroïdiennes MCT8.

Méthode : les données cliniques, d'imagerie cérébrale, biologiques concernant le profil thyroïdien et la biologie moléculaire ont été recueillies de façon rétrospective et comparées aux données de la littérature.

Résultats : 24 patients masculins âgés de 11 mois à 29 ans ont été inclus, dont 16 patients français dans le cadre du PHRC RMLX et 8 patients italiens. Tous étaient porteurs d'une mutation dans SLC16A2, incluant 12 nouvelles mutations. Seize patients présentaient un trouble neurodéveloppemental avec déficience intellectuelle profonde et absence de marche, trois avaient une déficience intellectuelle sévère avec langage pauvre et une marche avec aide, quatre avaient une déficience intellectuelle modérée avec préservation de la marche et des capacités langagières et enfin, un patient présentait une déficience intellectuelle légère avec hypotonie modérée. Huit patients avaient acquis la marche, tous présentaient une hypotonie, 17 étaient spastiques et 18 dystoniques, 12 présentaient des mouvements choréo-athétosiques. Une hypomyélinisation était retrouvée chez 19 patients et une atrophie corticale chez 10 patients. Le profil sanguin des hormones thyroïdiennes était perturbé pour l'ensemble des patients avec un ratio T3 libre / T4 libre toujours supérieur à 0,75. Les principales complications consistaient en une épilepsie chez 7 patients, une cyphoscoliose chez 12 patients et des épisodes de pneumopathies chez 5 patients.

Conclusion : Cette étude a permis de souligner le large spectre phénotypique de l'AHDS comme observé dans d'autres pathologies hypomyélinisantes. L'évolution clinique dépend pour chaque patient de son développement neurologique initial avec des acquisitions restant stables dans le temps mais dont le parcours peut être émaillé de complications épileptiques, neuro-orthopédiques ou respiratoires, ces deux dernières étant favorisées par une hypotonie importante. Un profil des hormones thyroïdiennes avec ratio T3 libre / T4 libre supérieur à 0,75 oriente fortement le diagnostic.

#20566 : Identification par le whole exome sequencing d'une nouvelle mutation du gène MYO7A associée au syndrome d'Usher de type 1B dans une famille marocaine**Auteurs :**

Oussama Kettani (1), Khaoula El Fizazi (2), Maryem Ouarhache (2), Leila Qebibo (3), Badr eddine El Makhzen (2), Mohamed Ahakoud (4), Mody Diop (5), Hanane Sayel (5), Ihsan El Otmani (5), Meriam Abbassi (5), Said Trhanint (5), Laila Bouguenouch (4, 6), Karim Ouldim (5, 7)

1. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, Fès, Maroc
2. Service de génétique médicale , CHU Hassan II, Fès, Maroc
3. Unité fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire, Département de Génétique médicale, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Service de génétique médicale, CHU Hassan II, Fes, Maroc
5. Service de génétique médicale, CHU Hassan II, Fès, Maroc
6. Faculté de médecine et de pharmacie, Université sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc
7. Faculté de médecine et de pharmacie, Université sidi Mohamed Ben Abdellah, Fes, Maroc

Mots clefs : Usher, surdité, rétinite pigmentaire, MYO7A, Whole exome sequencing, Maroc

Résumé :

Le syndrome d'Usher est une pathologie caractérisée par l'association d'une surdité neurosensorielle avec une rétinite pigmentaire. De transmission autosomique récessive, il est cliniquement hétérogène. Trois formes différentes (type 1, type 2, type 3) sont définies selon l'âge auquel la maladie se manifeste, la gravité de la surdité et la présence ou non de troubles de l'équilibre.

Les mutations du gène *MYO7A* sont associées au syndrome d'Usher de type 1B qui représente plus de la moitié des cas de syndrome d'Usher de type 1, il est caractérisé par une surdité congénitale profonde et non évolutive, associée dans la forme typique à une aréflexie vestibulaire et une rétinite pigmentaire, généralement diagnostiquée après la surdité.

Dans cette étude nous rapportons le cas d'une patiente de 28 ans ayant une surdité congénitale bilatérale découverte à l'âge de 8 mois associée à une rétinite pigmentaire diagnostiquée à l'âge de 15 ans. L'étude génétique réalisée par le Whole Exome Sequencing (WES) a révélé la présence à l'état homozygote d'un nouveau variant pathogène au niveau de l'exon 14 du gène *MOY7A*. Il s'agit de la mutation faux sens (NM_000260.3; c.1657C > T; p.His553Tyr).

Le séquençage Sanger à l'aide d'amorces spécifiques a permis de vérifier le variant. L'étude de sa co-ségrégation familiale ainsi que le recours à des outils de prédiction et de programmes d'analyses bioinformatiques ont pu confirmer son caractère pathogène.

Cette nouvelle mutation vient élargir le spectre des mutations décrites jusqu'à maintenant dans le gène *MYO7A*.

#20377 : Apport de la génétique dans le diagnostic de la maladie de Wilson

Auteurs :

SIHAM HALLAL (1), Khadidja Haciane (2), Malika Hirouche (2), Lyès Yargui (1)

1. Laboratoire central de Biochimie, CHU Mustapha-Alger-Algérie, Alger, Algérie

2. Laboratoire Central de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie

Mots clefs : wilson, ATP7B, mutation

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*.

Notre travail a porté sur une cohorte de 20 patients (enfants, et adultes), adressés au laboratoire par les différents services de pédiatrie, neurologie, et gastro-entérologie.

L'étude moléculaire a été établi pour le cas index en premier lieu, élargi secondairement à la fratrie. Un séquençage Sanger a été réalisé sur l'ensemble des parties codantes du gène *ATP7B*.

L'identification de la mutation familiale correspond au seul moyen permettant d'établir un conseil génétique fiable, identifiant les hétérozygotes des porteurs asymptomatiques, ce qui permettra l'instauration du traitement avant que les signes cliniques n'apparaissent

#19909 : Quand une anomalie peut cacher une autre

Auteurs :

Basile Chalot (1, 2), Anne-Laure Mosca-Boidron (3, 4), Antonio Vitobello (4, 5), Davide Callegarin (3, 4), Simon Verdez (3, 4), Nathalie Marle (3, 4), Emilie Tisserant (4), Alexandre Plagos (4), Arthur Sorlin (2, 4), Anne-Marie Guerrot (6), Jacques Puechberty (7), Pascal Chambon (8), Geraldine Joly-Hélas (8), Jean-François Deleuze (9), Robert Olaso (9), Anne Boland (9), Marlene Poulleau (3), Thibaud Jouan (4), Charlotte Poe (4), Christel Thauvin-Robinet (2, 4), Laurence Faivre (2, 4), Yannis Duffourd (4, 5), Patrick Callier (3, 4)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, Plateau technique de biologie, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, Dijon , France
2. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, FHU TRANSLAD, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, Plateau technique de biologie, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Inserm UMR 1231 GAD, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
5. Unité Fonctionnelle d'Innovation diagnostique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Service de Génétique, CHU Rouen, Rouen, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
8. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rouen, Rouen, France
9. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Evry, France

Mots clefs : Génome, variation de structure, variation

Résumé :

Introduction : Aujourd'hui, le séquençage du génome entier (WGS) permet de mieux caractériser les variations de structures (SVs) (translocations apparemment équilibrées, inversions) identifiées après un caryotype standard (Redin et al. 2017, Schluth-Bolard et al. 2019).

L'objectif de ce travail est d'utiliser le WGS pour pouvoir caractériser les SVs chez 11 patients avec des SVs associées à un phénotype anormal, mais également afin de pouvoir potentiellement identifier d'autres anomalies.

Méthode : Le séquençage a été réalisé par technique short read (SR) avec une profondeur moyenne de 40X. L'analyse bio-informatique des données brutes a utilisé l'algorithme de Lumpy pour les translocations et inversions, et ControlFreeC pour les variations du nombre de copie (CNVs).

Résultats : Le SR-WGS a réussi à identifier les 11 SVs, dont 2 ont pu être directement considérés comme responsable du phénotype du patient. Chez un patient atteint d'un retard global des acquisitions, les points de cassures de la translocation identifiée interrompaient le gène *GRIND2B*. Chez un autre patient souffrant d'une communication inter-auriculaire associée à un retard du développement psychomoteur, le gène *NBEA* était interrompu par le même mécanisme.

Pour 6 cas, les translocations interrompent des gènes non connus, et pour 1 cas, il n'y avait aucun gène au niveau des points de cassures de la translocation.

Pour 2 cas, l'analyse du WGS n'a pas permis d'identifier des SVs ou de gène interrompu ou d'effet de position au niveau des points de cassures, mais a permis d'identifier des SNVs variants rares *de novo*. Le premier présentait un habitus marfanoïde néonatal associé à une t(1;5)(q25;q11) *de novo* dont l'analyse des SNVs a permis d'identifier une variation *de novo* pathogénique du gène *FBN1* responsable du phénotype du patient. Le second souffrait d'une épidermolyse bulleuse associée à une inv(3)(p14.3p24.2)mat dont l'analyse a révélé des variations hétérozytes composites du gène *CD151* compatible avec le phénotype du patient.

Conclusion : L'utilisation du WGS est ainsi particulièrement efficace dans la caractérisation des points de cassure des SVs. Nous reportons ici 2 cas de SVs associés à des variations classées comme pathogènes et considérées comme la cause de la présentation clinique. Ces situations seront plus fréquemment découvertes par l'augmentation de l'accès au WGS en France, grâce à la mise en place des plateformes de séquençage du Plan France Médecine Génomique.

#20391 : Pseudoxanthome élastique et paraparésie spastique héréditaire récessive: spectre phénotypique des variations de CYP2U1**Auteurs :**

Anne Legrand (1, 2), Claire Pujol (3), Aurélie Mesnil (4), Christelle Durand (5), Christophe Duranton (6), Stéphane Zuily (7), Ana Berta Sousa (8), Mathilde Renaud (9), Salma Adham (1), Marguerite Hureauux (4), Jean-Luc Boucher (10), Nicolas Pietrancosta (10), Christelle Tesson (3), Xavier Jeunemaitre (1, 2), Cyril Goizet (5), Juliette Albuissou (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
3. Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière (ICM), Sorbonne Université - Inserm U1127 - CNRS UMR 7225, Paris, France
4. Département de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Laboratoire Maladies Rares: Génétique et Métabolisme, Inserm U1211 - Université de Bordeaux, Bordeaux, France
6. Laboratoire de Physiomédecine Moléculaire, CNRS-UMR 7370 - Université Côte d'Azur, Nice, France
7. Service de Médecine vasculaire, Centre de Compétences Régional des Maladies Vasculaires Rares, CHRU de Nancy, Nancy, France
8. Service de Génétique, Département de Pédiatrie, Hospital de Santa Maria - Centro Hospitalar Lisboa Norte - Centro Académico de Medicina de Lisboa, Lisbonne, Portugal
9. Service de Neurologie, Hôpital Central - CHU de Nancy, Nancy, France
10. UMR 8601 CNRS, Université de Paris, Faculté de Sciences, Paris, France

Mots clefs : Paraparésie spastique héréditaire, SPG56, CYP2U1, Pseudoxanthoma elasticum, exome

Résumé :

Le pseudoxanthome élastique (PXE), maladie autosomique récessive, est responsable de calcifications et d'une fragmentation des fibres élastiques du derme, de la membrane de Bruch de l'œil ou de la *media* des artères. Le PXE est dû à des variations perte de fonction d'*ABCC6*, seul gène identifié à ce jour. Au sein de la cohorte française de patients atteints de PXE (n=306), l'analyse moléculaire n'a pas pu confirmer l'implication d'*ABCC6* chez 18% des patients, porteurs d'aucune ou une seule variation (Legrand et al, 2017). L'objectif de cette étude est d'identifier de nouveaux gènes de PXE parmi les patients « *ABCC6* négatifs ».

Un séquençage d'exome en trio a été effectué chez une patiente atteinte de PXE avec des troubles neurologiques associés et sans variation *ABCC6*. Deux variations faux-sens ont été identifiées dans le gène *CYP2U1*, impliqué dans la paraparésie spastique héréditaire 56 (SPG56). Ce diagnostic moléculaire étant compatible avec le phénotype neurologique, *CYP2U1* a été séquencé chez 46 autres cas-index (CI) « *ABCC6* négatifs ». Un test fonctionnel a été effectué pour déterminer la pathogénicité des variations faux-sens identifiées dans cette première famille (Durand et al, 2017). Notre étude a ensuite été élargie en recherchant un phénotype de PXE chez des patients atteints de SPG56. Un dosage du pyrophosphate inorganique (PPI), inhibiteur de calcifications ectopiques impliqué dans la physiopathologie du PXE, a également été effectué chez les patients *CYP2U1*.

Parmi les 47 CI PXE « *ABCC6* négatifs », 3 patients étaient porteurs de variations pathogènes bialléliques de *CYP2U1*. La confirmation histologique des lésions cutanées (n=3/3) et la diminution de l'acuité visuelle avec présence de stries angioïdes (n=1/3) et/ou d'une néovascularisation (n=2/3) étaient en faveur d'un diagnostic de PXE. De plus, des symptômes neurologiques variables étaient systématiquement présents, décrivant un phénotype de PXE « plus » atteinte neurologique. La pathogénicité des variations faux-sens identifiées a été confirmée par le test fonctionnel.

Sept autres patients avec des variations pathogènes de *CYP2U1*, sans diagnostic connu de PXE lors du diagnostic initial, ont fait l'objet d'une réévaluation clinique et ophtalmologique; dans cette cohorte totale de 10 cas, des lésions cutanées ont été retrouvées chez 5 patients et des lésions oculaires (stries angioïdes ou néovascularisation) chez seulement 2 patients. Le taux plasmatique de PPI (n=4/10, test de Student, p=0.95), n'est pas abaissé chez les patients *CYP2U1*.

En conclusion, des variations pathogènes de *CYP2U1* ont été identifiées chez 6% (n=3/47) des cas non résolus de PXE de la cohorte française. Ce gène doit être systématiquement séquencé chez les cas présumés de PXE avec troubles neurologiques associés. Le mécanisme physiopathologique à l'origine de ce chevauchement de phénotypes entre *ABCC6* et *CYP2U1*, et notamment le rôle de *CYP2U1* dans le processus de calcifications ectopiques, reste à élucider.

Pièce jointe : Abstract_Assises_CYP2U1_2020_VF.docx

#19959 : Chromosomal study of tetralogy of Fallot: A Tunisian single-center experience

Auteurs :

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Rim Louati (2), Oldez kaabi (2), Samir Aloulou (3), Kays Chaker (2), Balkiss Abdelmoula (2), Hadil Chaari (3), Nawel Abdellaoui (2), Asma Yaich (3), Fatma Abid (4), Takoua Sammouda (2), Saloua Ben Amor (2), Walid Smaoui (2), Sourour Ben Ali (3), Amir Karra (2), Khaled Trigui (2), Moez Hédi Ben Ayed (3), Mustapha Ben Aziza (2), Sourour Falleh (3), Asma Kaabi (5), Wided Ltaif (3), Haythem Fourati (6), Hédi Ben Ameer (7), Hamdi Yahia (3), Akram Sbai (3), Sonda Kammoun (2), Souad Mallek (2)

1. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research , Sfax, Tunisie
2. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Sfax, Tunisie
3. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Gabes, Tunisie
4. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Mahdia, Tunisie
5. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Tunis, Tunisie
6. Service d'Urologie, CHU Hbib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie
7. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Gafsa, Tunisie

Mots clefs : Tetralogy of Fallot, caryotype, FISH, MLPA, CGH array

Résumé :

Important advances in the diagnosis and treatment of congenital heart malformations have been made in the past 50 years. Nowadays while echocardiogram plays an important role in the diagnosis, etiologic assessment at the genetic level becomes mandatory. Here, we studied by karyotyping, FISH and MLPA procedures, 36 Tunisian patients who had a tetralogy of Fallot (TOF). Clinical material with regard to congenital heart diseases, developmental milestones and dysmorphic features was gathered. The majority of investigated patients had an isolated TOF (n=30). Using 22q11.2 FISH technique, two patients with isolated TOF were found deleted (2/30: 6,7% - 2/36: 5,5). Clinical features of 22q11 microdeletions syndrome were shared by deleted patients. Dysmorphic features included broad nose, square shaped tip of nose, small philtrum, hypertelorism, telecanthus, squint and low set ears. Only one case diagnosed on the basis of clinical investigations as having Velo-Cardio-Facial (VCF; MIM 192430) syndrome with especially submucosal cleft palate and velopharyngeal incompetence, is still alive. Death of the other case occurred by respiratory distress syndrome within the two first years of life. This patient was diagnosed as having de novo DiGeorge syndrome (MIM 188400) because of immune system deficiencies associated with congenital thymic agenesis. Only one patient with isolated TOF had a cytogenetic chromosomal abnormalitie. He had dysmorphic features with dolichocephaly, micro-retro-gnathism, narrow/high-arched palate, low-set malformed ears, long philtrum, thin superior lip, upturned nares and periorbital fullness. Further findings were right hydrocele testis, long fingers and toes, and a small sacral dimple. No psychomotor impairments were detected until 7 months. Karyotyping revealed a de novo unbalanced translocation: 46,XY,der(16) t(X???;16). Array-CGH analysis with Constitutional Chip® 4.0, with a resolution of 700 kb, identified the Xp chromosome origin of the additional chromosomal material translocated to the subtelomeric region of chromosome 16q. With array CGH analysis it was possible to reveal an Xp duplication but without detection of a distal 16q monosomy. The karyotype was 46,XY,der(X)t(X;16). However, breakpoints mapping and eventual deletion of distal part of chromosome 16q are still under analysis. We conclude that children with congenital conotruncal heart malformations and especially TOF, should undergo karyotyping and microdeletion testing mainly when heart defects are associated with other congenital anomalies. Detection of chromosomal anomalies has a significant impact on prognosis and follow-up of patients, as well as on genetic counseling of families.

#20358 : Analyse du gène RB1 chez des patients atteints de rétinoblastome dans la population Algérienne

Auteurs :

Amina Mama Boubekour (1), Djabaria Naima Meroufel (1), Lotfi Louhibi (1), Meriem Abdi (1), Fatima Zohra Moghtit (1), Rym Khadidja Abderrahmane (2), Meriem Aberkane (2), Khadidja Mahmoudi (3), Faouzia Zemani (2), Nadhira Mehtar (2)

1. Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohammed Boudiaf, oran, Algérie
2. Laboratoire de génétique moléculaire et cellulaire, Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohammed Boudiaf, Oran, Algérie
3. Service d'Ophtalmologie pédiatrique, Etablissement Hospitalier Spécialisé « Canastel » , Oran, Algérie

Mots clefs : Rétinoblastome, Gène Rb1, PCR séquençage, population algérienne

Résumé :

Une mutation des deux allèles du gène *Rb* durant le développement rétinien normal est responsable de l'apparition du rétinoblastome. La recherche de mutations au niveau du gène *Rb* reste difficile, car la majorité des altérations sont uniques et dispersées tout au long du gène. Nous rapportons dans notre étude le résultat de l'analyse du gène *Rb* au niveau constitutionnel et tumoral dans la population algérienne. Notre étude a porté sur un échantillon de 21 patients atteints de rétinoblastome. Le promoteur et les 27 exons avec leurs séquences introniques flanquantes composant le gène *Rb* ont été amplifiés et analysés par HPLC (chromatographie liquide à haute performance) suivie d'un séquençage. Les variations de bases identifiées au niveau constitutionnel et tumoral sont au nombre de 7 dont 3 mutations nonsense. Une mutation affectant le site d'épissage, une délétion et deux polymorphismes. L'analyse du gène *Rb* a été réalisée chez des enfants atteints de rétinoblastome ne présentant aucun antécédent familial de la maladie. Par cette étude, nous avons pu identifier deux cas sur les 21 étudiés ayant un rétinoblastome pouvant être transmissible. Deux mutations rapportées n'ont jamais été décrites dans la littérature.

Pièce jointe : Analyse du gène RB1 chez des patients atteints de rétinoblastome dans la population Algérienne_assises de génétique_2020.docx

#20443 : Nouvelle mutation dans le gène AHDC1 chez une patiente présentant une dysmorphie faciale et une déficience intellectuelle.**Auteurs :**

Rahma TOUHAMI (1), Hajer FODDHA1 (2), Sarra DIMASSI (3), Ali SAAD (3), Damien SANLAVILLE (4), Amel HAJ KHELIL (5)

1. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Tunisie., Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir, tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Tunisie., Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir, Monastir, Tunisie
3. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique moléculaire et Biologie de la reproduction, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Faculté de médecine, Sousse, Sousse, Tunisie
4. Service de génétique clinique, CHU de Lyon, France, Université Claude Bernard, Lyon 1, Lyon , France
5. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Tunisie., Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir, Sousse, Tunisie

Mots clefs : AHDC1, WES, nouvelle mutation, Syndrome de Xia-Gibbs, étude fonctionnelles.

Résumé :

Le gène AHDC1 (AT-hook DNA binding motif containing 1, OMIM_615829), est situé sur 1p36.11, comprend 7 exons dont un seul (exon 6) code pour une protéine de 1603 acides aminés. Sa fonction est liée à la régulation transcriptionnelle et épigénétique au cours du développement embryonnaire, la migration des neurones et l'émergence des axones suggérant que AHDC1 pourrait être impliqué dans le développement précoce du cerveau. Depuis 2014, plusieurs mutations du gène AHDC1 ont été notées dans la littérature comme étant la principale cause du syndrome Xia Gibbs (OMIM_615829), une maladie génétique rare à transmission dominante caractérisée par une déficience intellectuelle, un retard de croissance, un développement psychomoteur retardé avec un langage expressif absent ou médiocre, des anomalies structurales du cerveau, une hypotonie, des traits distinctifs du visage et des troubles du sommeil. Nous rapportons ici une patiente de 32 ans montrant une déficience intellectuelle sévère associée à des troubles moteurs et comportementaux et des signes de dysmorphie faciale distinctifs. Le séquençage complet de l'exome (WES) de cette patiente a permis de mettre en évidence une mutation hétérozygote faux sens **c3164G>A; (p.Arg1055His) de novo** dans le gène AHDC1. Cette mutation se localise dans la seconde région conservée de l'exon 6. Elle n'existe pas dans la liste des mutations déjà décrites dans le syndrome de Xia Gibbs. Les programmes *in silico* (SIFT, Polyphen et Mutation Taster) prédisent que cette mutation est délétère et pourrait modifier l'ARNm en donnant une protéine dominante négative qui bloque la liaison à l'ADN et l'interaction avec des partenaires protéiques.

Nous envisageons de réaliser une étude fonctionnelle de cette nouvelle mutation pour mieux comprendre son implication dans le phénotype de la patiente et renforcer l'orientation clinique de ce syndrome.

Mots clés : AHDC1, WES, nouvelle mutation, Syndrome de Xia-Gibbs, étude fonctionnelles.

#20232 : Déficit héréditaire autosomique récessif en IFNAR1 chez un patient avec une encéphalite herpétique

Auteurs :

PAUL BASTARD (1), Yoann Seeleuthner (1), Nicholas Hernandez (2), Mary Hasek (2), Jérémie Rosain (1), Peng Zhang (2), Lazaro Lorenzo (1), Yoon-Seung Lee (2), Eduardo Garcia Reino (2), Jacinta Bustamente (1), Bertrand Boisson (2), Aurélie Cobat (3), Qian Zhang (2), Emmanuelle Jouanguy (1), Laurent Abel (1), Raz Somech (4), Jean-Laurent Casanova (2), Shen-Ying Zhang (2)

1. Laboratoire de génétique humaine des maladies infectieuses, Institut Imagine, Paris, France
2. Laboratory of human genetics of infectious diseases, The Rockefeller University, New-York, Etats-Unis
3. Laboratoire de génétique humaine des maladies infectieuses, Institut Imagine, Paris, France
4. Sackler School of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israël

Mots clefs : Immunité innée, grande délétion, IFNAR1, encéphalite herpétique

Résumé :

La recherche de déficits de l'immunité innée chez les patients ayant souffert d'encéphalite herpétique (EH) dans l'enfance a permis d'identifier 8 gènes dans la voie de signalisation de TLR3-interféron (IFN) comme responsable de la maladie. Cependant, une majorité des patients reste sans diagnostic génétique et l'importance relative des différents types d'IFN dans l'immunité anti-virale du système nerveux centrale est incomplètement élucidée.

Nous avons identifié un patient ayant souffert d'une EH avec un déficit autosomique récessif du récepteur de l'interféron de type 1 (IFNAR1). De façon intéressante, le patient présente une large délétion homozygote dans le gène *IFNAR1*, qui code pour une des deux chaînes du récepteur de l'interféron de type 1, conduisant à la perte d'une partie de l'intron 10, de la partie codante de l'exon 11 et d'une partie du 3'UTR. Ce variant n'est retrouvée dans aucune base de données publique ni dans la cohorte de notre laboratoire comprenant plus de 7000 exomes.

Ce mutant conduit à l'expression d'une protéine tronquée avec expression normale à la surface mais qui est incapable d'interagir avec TYK2. De plus, la phosphorylation de STAT1 et de STAT2 après stimulation par l'interféron-alpha2b est complètement abolie, alors qu'elle est conservée pour l'interféron gamma.

Nous avons précédemment rapporté deux patients isolés avec un déficit autosomique récessif (AR) en IFNAR1 ayant chacun souffert de réactions sévères après vaccination par des vaccins vivants (ROR: Rougeole-Oreillons-Rubéole ou fièvre jaune). Notre patient d'EH déficient en IFNAR1 avait été vacciné par le ROR, et avait présenté une réaction modérée.

Au total, le déficit AR en IFNAR1 prédispose à l'encéphalite herpétique et aux réactions sévères aux vaccins vivants (ROR et fièvre jaune au minimum), avec une pénétrance incomplète. Les patients présentant des infections virales sévères doivent donc être explorés sur le plan génétique. Cette découverte d'un patient ayant eu une EH avec déficit en IFNAR1 suggère que l'addition d'interféron alpha ou beta *in vivo*, en plus du traitement par Acyclovir, pourrait être bénéfique dans le traitement des patients souffrant d'encéphalite herpétique.

#20001 : Hypertriglycéridémies majeures de l'adulte: Intérêt du génotypage multiloci pour l'identification des hyperchylomicronémies à haut risque morbide. Etude d'une cohorte de 106 patients.

Auteurs :

Pascale Benlian (1, 2), Laëtitia Boidin-Ceschini (2), Noémie Klipper Dit Kurz (3), Fiona Deseure (4), Florence Lesot (2), Sabine Wawrzyniak (5), Jean Michel Lecerf (6)

1. EGID (European Genomic Institute for Diabetes) - UMR CNRS 8199 , Université de Lille, LILLE, France
2. U4M (Unité de Médecine Moléculaire des Maladies Métaboliques)- Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Lille, LILLE, France
3. Endocrinologie & Maladies Métaboliques, CHU de Lille, LILLE, France
4. Médecine Interne, CHU de Lille, LILLE, France
5. U4M (Unité de Médecine Moléculaire des Maladies Métaboliques)- Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Université de Lille, LILLE, France
6. Nutrition et Activité Physique, Institut Pasteur de Lille, LILLE, France

Mots clefs : Hyperchylomicronémie Familiale, Hyperchylomicronémie Multifactorielle, Pancréatites Aigües et Chroniques, Dyslipidémies Rares Athérogènes.

Résumé :

Introduction

Les hypertriglycéridémies (HTG) majeures sont définies comme au moins un épisode de TG > 10 g/L, seuil au-delà duquel l'hyperchylomicronémie confère un haut risque permanent de pancréatite aigüe. Elles peuvent être sporadiques, ou monogéniques récessives - hyperchylomicronémies familiales (FCS)- par déficit complet de l'un des gènes majeurs de l'appareil lipolytique, ou d'hérédité pseudo-dominante ou codominante - hyperchylomicronémies multifactorielles (MCS) - par altérations composites de ces mêmes loci, combinées à des facteurs endogènes (ex : métaboliques) ou exogènes (ex : nutritionnels) favorisant. Si les FCS sont surtout infantiles, les MCS s'expriment chez l'adulte, avec un risque prédominant de pancréatites aigües (PA) récidivantes évoluant vers la pancréatite chronique (PC), de diabète secondaire et de maladies cardiovasculaires, fortement corrélés au risque d'hyperchylomicronémie.

Objectifs

Les HTG majeures par FCS relèvent des thérapies ARN-antisens de l'APOC3, démontrées réduire les TG sous le seuil de 10 g/L. Toutefois, certains patients MCS porteurs d'un sur-risque génétiquement déterminé échappent aux critères actuels d'éligibilité. L'objectif était d'évaluer la prévalence relative des FCS et MCS par analyse multiloci des composants de l'appareil lipolytique, et le risque morbide associé, sur une cohorte d'adultes atteints d'HTG majeure.

Méthodes

Séquençage ciblé (capture Haloplex Agilent/Illumina) des loci majeurs de l'appareil lipolytique : LPL, APOA5, APOC2, APOE, GPIHBP1, LMF1) et de loci/SNPs modulateurs du risque cardiovasculaire et pancréatique ; Variant call : Gensearch-NGS (Phenosystems) ; données clinico-biologiques analysées chez 106 adultes HTG (87H/19F) âgés de 40 ans suivis pendant 1 à 19 ans.

Résultats

Trois groupes génotypiques se dégageaient : (I) les porteurs de mutations pathogènes de l'appareil lipolytique (20%) ; (II) les porteurs composites de variants fonctionnels à risque d'HTG (65%) et (III) les non porteurs (15%). Dans le groupe (I) seuls 4 patients (19%) étaient atteints de FCS par hétérozygotie composite, alors que 44 patients (64%) du groupe (II) étaient porteurs composites de ≥ 2 allèles fonctionnels. Le risque pancréatique total était de 24% dans le groupe (I) de 10% dans le groupe (II) et de 20% dans le groupe (III). Toutefois, 11/12 (92%) des PA (cible de la prévention par ARN-anti APOC3) survenaient dans les groupes (I) et (II). De plus, la quasi-totalité des maladies cardiovasculaires (91%) et des syndromes métaboliques (88%) étaient observés dans les groupes (I) et (II). A l'opposé, du groupe (III) se dégageait un profil-patient différent : plus féminin, majoritairement atteint de PC, dont l'HTG était plus modérée (TG max < 20 g/L) dans un contexte familial d'hyperlipidémie combinée.

Conclusion

Dans l'HTG de l'adulte, le génotypage multiloci de l'appareil lipolytique a identifié la quasi-totalité des adultes à haut risque pancréatique et cardiovasculaire éligibles aux thérapies innovantes.

Pièce jointe : Assises Génétique-2020.docx

#20257 : Analyse génétique du syndrome de Micro-Warburg

Auteurs :

Nesrine KERKENI (1), Maher KHARRAT (1), Sana KSOURI (2, 1), Faouzi MAAZOUZ (2, 1), Hela BOUDABOUS (3), Ridha M'RAD (2, 1), Mediha TRABELSI (1, 2)

1. Laboratoire de génétique humaine, Faculté de médecine de Tunis, Université Tunis ElManar, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
3. Service de pédiatrie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

Mots clefs : RAB3GAP1, syndrome de Micro-Warburg, mutation, séquençage d'exome

Résumé :**Introduction :**

Le syndrome de Micro-Warburg (WARBM, MIM #600118) est un trouble neurodéveloppemental qui se transmet selon le mode autosomal récessif, caractérisé par une atteinte oculaire (microphthalmie, microcornée, cataracte bilatérale congénitale), une microcéphalie, une déficience intellectuelle sévère, une dysplasie corticale, une agénésie/dysgénésie du corps calleux ainsi qu'un hypogonadisme.

Des mutations des gènes *RAB3GAP1* (2q21.3), *RAB3GAP2* (1q41), *RAB18* (10p12.1) et *TBC1D20* (20p13) sont responsables de ce syndrome. Le *RAB3GAP1* et le *RAB3GAP2* codent ensemble pour le complexe hétérodimère RAB3GAP activateur de la RAB3GTPase.

L'objectif de ce travail est de réaliser une analyse clinique et génétique du syndrome de Micro-Warburg chez une famille tunisienne.

Patients et méthodes :

Etude clinique et génétique, par séquençage d'exome, chez deux frères ayant une déficience intellectuelle, une agénésie du corps calleux et une atteinte oculaire.

Résultats :

Il s'agit de deux frères issus d'un mariage consanguin de second degré, âgés de 7 et 11 ans et adressés pour cataracte bilatérale congénitale.

Le premier enfant avait une déficience intellectuelle (DI) isolée, et le deuxième avait, en plus de la DI, une microcéphalie et des traits autistiques. L'IRM cérébrale a révélé une hydrocéphalie avec une agénésie partielle du corps calleux chez le premier et une agénésie partielle du corps calleux isolée chez le deuxième. L'examen ophtalmologique a objectivé une microphthalmie avec une cataracte bilatérale congénitale chez les deux enfants.

Une analyse par séquençage d'exome a permis d'identifier, chez les deux frères, une nouvelle mutation à l'état homozygote du gène *RAB3GAP1* (délétion d'une base au niveau de l'exon 5) en faveur du diagnostic du syndrome de Micro-Warburg. Cette variation, décalant le cadre de lecture, touchant un domaine fonctionnellement important de la protéine et prédite comme pathogène par l'analyse in silico (Mutation Taster, MutPred-indel et Provean) a été retrouvée à l'état hétérozygote chez les parents.

Conclusions :

La découverte d'une nouvelle mutation du gène *RAB3GAP1* permet d'élargir le spectre mutationnel de ce gène sous réserve d'une confirmation par analyse fonctionnelle.

En l'absence d'orientation clinique, le séquençage d'exome permet d'établir le diagnostic moléculaire et d'offrir un conseil génétique adapté aux familles concernées.

Pièce jointe : Analyse génétique du syndrome de Micro-Warburg.docx

#20097 : La PCR digitale quantitative : une technique de recherche des amplifications des gènes EGFR et KRAS adaptée aux plateformes de génétique somatique**Auteurs :**

Morgan TOURNE (1), Agathe HERCENT (2), Zoubida BENRAHMOUNE (1), Germain GUIRAUD (1), Khadija REBAH (1), Catherine BOILEAU (1), Jérôme LAMORIL (1), Nathalie THEOU-ANTON (1)

1. Département de génétique, Hôpital Bichat-APHP, Paris, France
2. Département de génétique, Hôpital Bichat-APHP, p, France

Mots clefs : EGFR, KRAS, NC, amplification, PCR digitale

Résumé :

Introduction : Les techniques de NGS permettent de rechercher simultanément plusieurs anomalies génétiques, dont des amplifications géniques. En génétique somatique, les panels utilisés le plus souvent sont ciblés, en technologie amplicon, et ne sont pas toujours adaptés à la recherche du Nombre de Copies (NC). Ils nécessitent donc une technique de confirmation. Or, il n'existe pas en routine une technique cytogénétique validée pour tous les gènes d'intérêts, tel que *KRAS* et *EGFR*.

Objectif : Validation par PCR digitale (ddPCR) de la recherche des amplifications des gènes *KRAS* et *EGFR* détectée par NGS.

Matériel et Méthodes : Etude rétrospective d'une cohorte monocentrique de 41 patients (âge moyen : 63,7 ans [45-82]) analysés entre 2016 et 2019 à l'hôpital Bichat. Cette cohorte comprenait 37 patients ayant un cancer du poumon (Kp) et 4 avec cancer du côlon (Kc). L'analyse NGS retrouvait 14 patients ayant une suspicion d'amplification du gène *KRAS* (12 Kp et 2Kc) et 17 ayant une suspicion d'amplification du gène *EGFR* (15 Kp et 2Kc). Dix échantillons (Kp), sans mutation ni amplification détectées par analyse NGS, ont servi de témoins négatifs afin d'établir le seuil d'amplification. La ddPCR a été réalisée en double sur chaque échantillon à l'aide d'une sonde cible sur les gènes *EGFR* (exon7) et *KRAS* (exon 5) et d'une sonde ciblant chacun des 3 gènes de référence : *ASL*(chr7), *RPP30*(chr10) et *EFTUD2*(chr17) pour *EGFR* ; *IRAK4*(chr12), *RPP30* et *EFTUD2* pour *KRAS*. Le NC a été calculé à l'aide du logiciel QuantaSoft™ (BioRad). La moyenne arithmétique du NC du gène cible par rapport aux 3 gènes de référence a été calculée pour obtenir le NC moyen (NCm) de chaque patient.

Résultats : L'analyse des 10 témoins négatifs établit un NC moyen de 2,2 [1,3-2,9] pour les gènes *KRAS* et *EGFR*. Toutes les amplifications observées en NGS sur les 31 patients ont été confirmées en ddPCR. Les tumeurs avec suspicion d'amplification de *KRAS* et d'*EGFR* montraient respectivement des valeurs du NCm allant de 4,2 à 52,3 et de 3,9 à 42,0. A partir de ces analyses, nous avons défini un seuil de positivité de l'amplification à partir de 3 copies. Notre analyse a permis d'identifier 2 groupes sur la base du NCm. Un groupe faiblement amplifié ($3 < \text{NCm} < 6$) comprenant 3 *KRAS* et 2 *EGFR* et un groupe fortement amplifié ($\text{NCm} > 6$) comprenant 8 *KRAS* et 14 *EGFR*. De plus, nous avons observé la co-existence d'une mutation *KRAS* activatrice dans 58% des Kp ayant une amplification *KRAS* et d'une mutation activatrice *EGFR* dans 47% des Kp avec amplification *EGFR*. Cette co-existence n'a pas été retrouvée dans les cancers du côlon où ces événements pourraient être mutuellement exclusifs.

Conclusion : La ddPCR est une méthode simple de confirmation d'une amplification génique en l'absence d'outils cytogénétiques disponibles en routine. De plus, elle offre la possibilité de déterminer quantitativement le nombre de copie du gène d'intérêt et de pouvoir être facilement appliquée à de nombreux autres gènes cibles.

#19848 : Association des psy en génétique

Auteurs :

Sylvie FOURDRINOY (1), Karen HERNANDEZ (2), Eva TOUSSAINT (3)

1. génétique médicale, Hôpital Femme-Mère-Enfant groupement hospitalier Est, Lyon, France

2. CAMPS, CAMPS, Paris, France

3. génétique médicale, chu Pellegrin, Bordeaux, France

Mots clefs : psychologie, génétique, association

Résumé :

Nous souhaitons présenter notre jeune association des « psy en génétique ».

Cette association a vu le jour en 2018 mais cela fait déjà longtemps que des psychologues, psychiatres, psychothérapeutes travaillant dans les services de génétique échangent et tentent de se réunir. Tout est parti d'une demande : aider le Collège des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale et de la Société Française de Génétique Humaine à proposer des Recommandations afin de favoriser l'embauche de psychologues dans les services de génétique. A l'époque, avaient été identifiés 3 grands domaines possibles d'intervention du psychologue :

a les évaluations psychologiques du développement et du comportement d'un patient

a l'accompagnement psychologique des patients et de leur famille

a la prise en charge des patient dans le cadre d'un diagnostic génétique présymptomatique

Nos premiers échanges entre psy en génétique se sont fait par un forum (47 mails échangés en 2007 - 58 mails échangés en 2008 - 22 mails échangés en 2009 - 51 mails échangés en 2010)

C'est bien pour formaliser les choses et aussi les rendre plus visible à l'ensemble des partenaires possibles : médecins, associations... que l'association a été créé. Car nous nous sommes rendu compte que bien que notre travail soit reconnu au sein des services médicaux, des unités de recherche ou des associations nous étions souvent isolés. Cette association a donc pour objectifs principaux:

4 De favoriser les échanges entre les Psy travaillant dans les services de génétique ou Intéressés par la Génétique.

4 D'améliorer la visibilité de ces professions au sein du milieu médical de la Génétique.

Les différentes activités de l'association peuvent concerner :

4 Des réunions d'adhérents pour échanger autour des différents domaines d'application de la génétique médicale (adulte/enfant, Diagnostique Pré-Natal (DPN), Diagnostique Pré-

Symptomatique (DPS), expertise diagnostique, conseil génétique...) concernant tous types de pathologies d'origine génétique

4 La diffusion d'information aux adhérents concernant l'organisation de réunions, salons, congrès, colloques... visant à actualiser leurs connaissances en matière d'accompagnement des patients et de leurs familles concernés par la maladie d'origine génétique et/ou le handicap qu'elle entraîne

4 La diffusion d'informations, sous toutes ses formes, auprès des professionnels de santé, des familles, des associations de patients et du public sur les maladies génétiques

4 La production éventuelle d'écrits à visée informative (bulletins, plaquette, article...) et/ou scientifique

4 La collaboration avec les sociétés scientifiques impliquées dans la Génétique en France et dans le monde

4 L'amélioration de la prise en charge des personnes atteintes de maladie génétique

#19913 : Des variants pathogènes bi-alléliques du gène codant pour la lanostérol synthase (LSS), impliquée dans la biosynthèse du cholestérol, sont responsables d'un syndrome neuroectodermique rare associant alopecie et déficience intellectuelle.

Auteurs :

Thomas Besnard (1, 2), Natacha Sloboda (3), Alice Goldenberg (4), Sébastien Küry (1, 2), Benjamin Cogné (1, 2), Flora Breheret (1), Eva Trochu (1), Solène Conrad (1), Marie Vincent (1, 2), Wallid Deb (1, 2), Xavier Balguerie (5), Sébastien Barbarot (6), Geneviève Baujat (7), Tawfeg Ben-Omran (8), Anne-Claire Bursztejn (9), Virginie Carmignac (10, 11), Alexandre Datta (12), Aline Delignières (13), Laurence Faivre (10, 11), Betty Gardie (14, 2), Jean-Louis Guéant (3), Paul Kuentz (15, 11), Marion Lenglet (16, 2), Marie-Cécile Nassogne (17), Vincent Ramaekers (18), Rhonda Schnur (19), Yue Si (19), Erin Torti (19), Julien Thévenon (20), Pierre Vabres (10, 11), Lionel Van Maldergem (21, 22), Dorothea Wand (23), Arnaud Wiedemann (24), Bertrand Cariou (25, 2), Richard Redon (2), Antonin Lamazière (26), François Feillet (24), Stéphane Béziau (1, 2), Bertrand Isidor (1, 2)

1. Service de Génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. L'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France
3. INSERM, UMR_1256 Nutrition-Genetics-Environmental Risk Exposure and Reference Centre of Inborn Metabolism Diseases, University of Lorraine and University Hospital Centre of Nancy (CHRU Nancy), Nancy, France
4. Department of Genetics, Rouen University Hospital, Rouen, France
5. Department of Dermatology, University Hospital Center of Rouen, Rouen, France
6. Department of Dermatology, CHU Nantes, Nantes, France
7. Department of Medical Genetics, INSERM UMR 1163, Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, IMAGINE Institute, Necker Enfants Malades Hospital, Paris, France
8. Section of Clinical and Metabolic Genetics, Department of Pediatrics, Hamad Medical Corporation, Doha, Qatar
9. Dermatology department, Hôpital Brabois, Vandœuvre-Lès-Nancy, France
10. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Est, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
11. UMR-Inserm 1231 GAD Team, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
12. Department of Pediatric Neurology and Developmental Medicine, University of Basel Children's Hospital, Basel, France
13. Hôpital Bretagne Atlantique, Service de Pédiatrie, CH Auray-Vannes, Vannes, France
14. Ecole Pratique des Hautes, EPHE,, PSL research University, Paris, France
15. Génétique Biologique, PCBio,, Centre Hospitalier Universitaire de Besançon, Besançon, France
16. Ecole Pratique des Hautes, EPHE, PSL research University, Paris, France
17. Pediatric Neurology Unit, Cliniques Universitaires Saint-Luc, UCL, Brussels, Belgique
18. Center of Autism and Department of Genetics, University Hospital Liège, Liège, Belgique
19. , GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
20. Centre de Génétique, Hôpital Couple-Enfant, CHU de Grenoble-Alpes, La Tronche, France
21. Centre de Génétique humaine, Université de Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France
22. Integrative and Cognitive Neurosciences Research Unit EA481, Université de Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France
23. Department of Pediatric Neurology and Developmental Medicine, University of Basel Children's Hospital, Basel, Suisse
24. UMR_S954 Nutrition-Genetics-Environmental Risk Exposure and Reference Centre of Inborn Metabolism Diseases, University of Lorraine and University Hospital Centre of Nancy (CHRU Nancy), Nancy, France
25. Department of Endocrinology, CHU Nantes, Nantes, France
26. Laboratory of Mass Spectrometry, INSERM ERL 1157, CNRS UMR 7203 LBM, Sorbonne, Laboratory of Mass Spectrometry, INSERM ERL 1157, CNRS UMR 7203 LBM, Sorbonne, Paris, France

Mots clefs : LSS, alopecie, déficience intellectuelle, biosynthèse du cholestérol, encéphalopathie épileptique précoce

Résumé :

Le syndrome APMR (alopecia with mental retardation OMIM#203650) est un syndrome neuroectodermique rare de transmission autosomique récessive se caractérisant par une hypotrichose et une déficience intellectuelle (DI) ou un retard du développement psychomoteur, voire parfois une encéphalopathie épileptique précoce.

Dans le cadre d'une étude collaborative internationale multicentrique, nous avons identifié des variants pathogènes bi-alléliques dans le gène *LSS* codant pour la lanostérol synthase, enzyme de la voie de biosynthèse du cholestérol chez 11 individus atteints du syndrome APMR.

Notre étude a mis en évidence l'implication de variants pathogènes dans *LSS* chez 11 patients APMR au sein de sept familles. Pour l'une d'entre elles, nous n'avons pu mettre en évidence qu'un seul variant pathogène héritée de la mère. En revanche l'étude ARN a permis de montrer un déséquilibre allélique chez le père et l'enfant suggérant un second événement.

Parmi les 11 variants pathogènes identifiés, sept sont des faux-sens, deux induisent des codons stop prématurés et deux affectent l'épissage. L'effet délétère de ces derniers a été confirmé par analyse des transcrits sur prélèvements sanguins ou par minigènes.

Bien que la lanostérol synthase soit une des enzymes clés de la voie de biosynthèse du cholestérol, en conduisant à la cyclisation du (S)-2,3-oxidosqualene en lanosterol, nous n'avons pu révéler à ce jour d'anomalie notable dans la quantification du cholestérol et de ses précurseurs chez les patients de la cohorte testés.

En conclusion, nos données ont permis d'identifier une nouvelle pathologie en lien avec la biosynthèse du cholestérol et de révéler *LSS* comme le gène majeur du syndrome neuroectodermique APMR.

#19815 : SRSF1 : nouveau gène candidat pour forme syndromique de trouble du neurodéveloppement

Auteurs :

Aurore Garde (1, 2), Frederic Tran Mau-Them (2), Christophe Philippe (2), Beth Hudson (3), Arnold Munnich (4, 5), Claude Besmond (5), Kimberly Nugent (6), Elizabeth Roeder (6), Courtney French (7), Lucy Raymond (7), Anne-Sophie Dennoné-Pichon (2), Ange-Line Bruel (2), Arthur Sorlin (1, 2), Sébastien Moutton (1, 2), Christel Thauvin-Robinet (1, 2), Laurence Faivre (1, 2), Antonio Vitobello (2)

1. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, FHU TRANSLAD, CHU de Dijon, Dijon, France
2. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. GeneDx, GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
4. Service de génétique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. INSERM UMR1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Paris, France
6. Departments of Pediatrics and Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, San Antonio, Etats-Unis
7. Department of Medical Genetics, University of Cambridge, Cambridge, Royaume Uni

Mots clefs : neurodéveloppement, SRSF1, gène candidat

Résumé :

Introduction. L'épissage de l'ARN messager joue un rôle important dans le développement et la différenciation cellulaire. Ce phénomène a lieu dans les spliceosomes, particules complexes qui se composent de l'ensemble des petites ribonucléoprotéines nucléaires (snRNP) et de protéines non-snRNP. SRSF1 (aussi connue sous le nom de ASF/SF2) est une protéine non-snRNP fortement conservée sur le plan phylogénétique, qui appartient à la famille SR (domaine riche en serine/arginine). Comprenant 2 domaines RRM (RNA recognition motif) capables de reconnaître l'ARN messager, elle représente un important régulateur de l'épissage constitutif et alternatif. Des variations du gène *SRSF1* ont déjà été décrites en oncogénétique somatique dans plusieurs tumeurs humaines, notamment dans le cancer du sein, provoquant une autorégulation positive de son expression. Cependant, les effets de variations germinales pathogènes du gène *SRSF1* n'ont encore jamais été décrits en génétique constitutionnelle, notamment dans les anomalies neurodéveloppementales.

Patients et Méthodes : Par séquençage d'exome, nous avons identifié une variation tronquante du gène *SRSF1* (p.Ser126Trpfs*17) à l'état hétérozygote chez un patient présentant des anomalies neurodéveloppementales (retard de développement et déficience intellectuelle) associées à des particularités faciales et des anomalies squelettiques. Après soumission sur la plateforme de partages de données GeneMatcher, nous avons collecté les données de trois patients supplémentaires porteurs d'une variation de ce gène.

Résultats : Les 4 variations du gène *SRSF1* incluent 2 variations tronquantes (p.Ser126Trpfs*17 et p.Gly106*) et 2 variants faux-sens (p.Val160Met et p.Gly40Val) localisées dans les domaines RRM. Trois variations sont sporadiques (la ségrégation parentale n'a pas pu être réalisée pour la variation p.Ser126Trpfs*17). Les patients sont 2 filles et 2 garçons, avec un âge médian au dernier suivi de 4,7 ans. Leur phénotype inclut une détresse respiratoire à la naissance (2/4), une atteinte cardiaque (2/4), des malformations cérébrales (3/4), une atteinte pulmonaire (1/4), des anomalies squelettiques (2/4), un retard de développement (3/4), prédominant sur le langage, et des troubles du comportement à type de crises de colère et/ou de stéréotypies (3/4). Les deux garçons ont présenté une cryptorchidie.

Conclusion : Nous décrivons le phénotype de 4 patients présentant une atteinte clinique proche et porteurs de variations hétérozygotes du gène *SRSF1*. L'ajout de patients supplémentaires avec anomalies neurodéveloppementales et porteurs de variations de ce gène, de même que des tests fonctionnels visant à mettre en évidence des défauts potentiels d'épissage, nous permettrait de conclure quant à son implication dans ce spectre de maladies du neurodéveloppement.

#20394 : tyrosinémie :étude de cas et revue de la littérature

Auteurs :

sarah berrada (1), fatem zahera Outattaleb (1), Jabran Ghizlan (1), nadia Serbati (1), Hind Dehbi (1, 2)

1. service de génétique médical , CHU Casablanca, casablanca, Maroc

2. laboratoire de Pathologie Cellulaire et moléculaire. Faculté de médecine et pharmacie Casablanca., Faculté de Médecine et de pharmacie Casablanca, casablanca, Maroc

Mots clefs : tyrosinémie, autosomique récessive, conseil génétique.

Résumé :

Tyrosinémie : étude de cas et revu de la littérature

Berrada. Sarah¹, Outaleb.Fatemzahra¹, Jabrane.Ghizlan¹, Serbati.Nadia¹, Dehbi.Hind¹⁻².

1-Laboratoire de Génétique Médical-CHU IBN ROCHD-Casablanca Maroc

2-Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire. Faculté de médecine et de pharmacie Casablanca-Université Hassan II-Casablanca Maroc

La tyrosinémie est une maladie du métabolisme à transmission autosomique récessive, du à un défaut du catabolisme des acides aminés de la tyrosine. Il existe 3 types, type I le plus sévère, type II et type III.

Dans la tyrosinémie de type I, le gène impliquée code pour le fumarylacétoacétate hydrolase (FAH) localisé au chromosome 15 en position q23-q25. La mutation du gène codant pour la tyrosine aminotransférase (TAT) , localisé au chromosome 16 en position q22.1, provoque une thyrosenémie de type II. Et pour La tyrosinémie de type III, le gène impliqué est le HPD code pour le 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygénase localisé sur 12q14-q.

Notre travail est une étude rétrospective intéressant 2 cas de tyrosinémie suivie en consultation de génétique médicale du CHU Casablanca. Le but de notre travail est de présenter le profil clinique et génétique de la tyrosinémie.

Nous rapportant 2 cas de tyrosinémie, où un conseil génétique a été réalisé chez la famille, nous avons à décrire :

Cas N1 il s'agit d'une famille consanguine au 1er degré avec 2 enfants filles vivantes, et 2 garçons décédés, suite à la tyrosinémie. Un frère avec une mort fœtal in utero (MFIU), un beau frère décédé à 22ans pour un problème rénal. L'étude génétique chez les fratries est en cours.

Cas N 2 parents, d'un nourrisson décédés à 20 mois d'une tyrosinémie, issu d'un mariage non consanguin. Le nourrisson présent un retard psychomoteur et staturo-pondéral avec une scoliose vertébrales, et qui développe une hépatomégalie à l'âge d'un an. Le bilan a objectivé une tyrosinémie de type I, l'étude génétique n'a pas pu être réalisé vu le décès précoce.

La tyrosenémie représente souvent un défi diagnostique notamment chez les patients peu symptomatique. La connaissance de ces derniers est primordiale car un diagnostique précoce permet une meilleures prise en charge. Le conseil génétique chez la famille à un grand intérêt pour les enfants à venir.

Mots clés : tyrosinémie, autosomique récessive, conseil génétique.

Pièce jointe : sara (4).docx

#20574 : Ne faudrait-il pas proposer les tests génétiques constitutionnels BRCA chez toutes les femmes ?**Auteurs :**

Odile COHEN-HAGUENAUER (1, 2), Odile COHEN-HAGUENAUER (1, 3), Marc ESPIE (4)

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
3. , Faculté de médecine Paris-Diderot de l'Université de Paris, PARIS, France
4. Sénopole territoire cancer nord AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Mots clefs : Prédisposition héréditaire aux cancers ; cancer du sein ; tests constitutionnels ; généralisation

Résumé :

A l'heure actuelle, les tests génétiques constitutionnels explorant la prédisposition héréditaire aux cancers du sein et/ou de l'ovaire sont initiés une fois que le diagnostic s'est imposé et selon les critères d'indications retenus par l'INCa. Ceci ne permet pas de prévenir le diagnostic de cancer du sein avancé chez ces femmes, souvent jeunes : il s'agit d'un échec du diagnostic précoce.

A travers les études de Gabai-Kapara (2014) portant sur une population tout venant, dans des familles occidentales avec des fratries de taille limitée, il ressort que pour 50% des personnes porteuses de mutations délétères des gènes *BRCA*, aucune histoire familiale n'était retrouvée. Ainsi, l'idée a émergé de préconiser ces tests chez toutes les femmes à l'âge de 30 ans (King, 2014). Les questions posées sont les suivantes : de quel test s'agirait-il et quel en serait le bénéfice attendu ?

L'objectif des tests *BRCA* se décline actuellement selon deux axes :

1. Le premier concerne la santé publique : la mission prioritaire des consultations d'oncogénétique est de proposer une surveillance spécifique aux personnes porteuses de mutation, dans un contexte pré-symptomatique pour prévenir le diagnostic trop tardif de cancers agressifs.
2. Le second intervient en urgence selon un « circuit court à visée théranostique » où les modalités du traitement – notamment molécules anti-PARP – sont conditionnées par le statut mutationnel. Ces indications connaissent un développement rapide. Dans ce contexte d'urgence, la discussion relative aux circuits courts suscite des débats, notamment au sujet d'une éventuelle primauté entre tests tumoraux et constitutionnels, avec des arbres de décision complexes, difficiles à harmoniser, en particulier pour les cancers fréquents tels que sein et prostate.

La connaissance préalable du statut mutationnel permettrait de mettre en place une surveillance spécifique chez les personnes à haut risque avant le développement d'un cancer et de prescrire les thérapies ciblées sans nécessité de recourir à des circuits courts. Certains auteurs préconisent un panel multigènes (Beitsch, 2018 ; Yang, 2018) avec le risque d'afflux de données ininterprétables : VSI sur des gènes non actionables (Copur, 2019). Afin de donner du sens aux analyses préconisées, il semble raisonnable de réserver les tests en panel pour les cas avec histoire familiale et/ou caractéristiques tumorales évocatrices et de rechercher en population générale les mutations authentiquement délétères (Turnbull, 2019). A côté des gènes *BRCA*, les gènes *PALB2*, *RAD51C* et *RAD51D* retiennent l'intérêt.

Le point cardinal est d'orienter vers une consultation d'oncogénétique les personnes indemnes à haut risque génétique et proposer une enquête familiale pour étendre la surveillance à toutes les personnes porteuses de mutation, en amont du développement d'un cancer agressif. Demeurent les questions éthiques et de tolérance d'une telle approche au plan psychologique.

Pièce jointe : OCH-ME_Résumé_AGH_TestAll_20191020.doc

#19917 : Apport de l'analyse des mutations NTN1 et RAD51 dans la compréhension de la physiopathologie des mouvements en miroir congénitaux**Auteurs :**

Oriane Trouillard (1, 2), Oriane Pourchet (1, 2), Aurélie Méneret (1, 3), Christel Depienne (4), Mohamed Doulazmi (2), Alain Trembleau (2), Isabelle Dusart (2), Caroline Dubacq (2), Emmanuel Flamand-Roze (1, 3)

1. Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Université, UMR S 1127, CIC-1422, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, F-75013, Paris, France, Paris, France
2. Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Institut de Biologie Paris Seine, Neurosciences Paris Seine, F-75005 Paris, France, Paris, France
3. Département de Neurologie, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, F-75013, Paris, France, Paris, France
4. Institute of Human Genetics, University Hospital Essen, University of Duisburg-Essen, 45 147 Essen, Allemagne, Essen, Allemagne

Mots clefs : mouvements en miroir congénitaux, RAD51, NTN1, mutations, haplo-insuffisance, perte de fonction

Résumé :

Les mouvements en miroir congénitaux (MMC) correspondent à une maladie génétique rare à transmission autosomique dominante et à pénétrance incomplète. Les MMC se caractérisent par des mouvements involontaires d'un côté du corps qui reflètent les mouvements intentionnels de l'autre côté du corps. Ils apparaissent précocement puis persistent tout au long de la vie en l'absence d'autres symptômes neurologiques. Les patients atteints de MMC présentent habituellement une décussation anormale du tractus cortico-spinal.

A ce jour, les principaux gènes responsables de MMC sont *RAD51*, *DCC* et *NTN1*. *DCC* et Nétrine-1 forment un couple ligand/récepteur bien connu pour son rôle dans le guidage axonal, ainsi leur implication dans les MMC n'est pas surprenante. *RAD51* est connue pour son rôle clé dans la réparation de l'ADN par recombinaison homologue, et la découverte de son implication a révélé un rôle totalement inattendu de ce gène dans le développement du système nerveux moteur.

Nous disposons d'une cohorte de patients atteints de MMC qui nous permet d'étudier la fréquence des mutations et leur localisation dans les trois gènes connus de MMC. Environ la moitié de ces patients présente une mutation pathogène ou potentiellement pathogène dans l'un des trois gènes.

Pour évaluer la pathogénicité des variants identifiés dans les gènes *NTN1* et *RAD51*, nous étudions leur impact sur les propriétés biochimiques et cellulaires des protéines codées. Les protéines nétrine-1 mutées, exprimées dans des lignées cellulaires stables, sont presque exclusivement détectées dans le compartiment intracellulaire. La nétrine-1 étant une molécule de guidage extracellulaire diffusible, la physiopathologie implique donc probablement une perte de fonction de la protéine.

De même, nous avons montré que les patients atteints de MMC porteurs d'une mutation tronquante *RAD51* (R254*) présentent des taux d'ARNm réduits, probablement en raison de la dégradation de l'ARNm muté par le nonsense-mediated mRNA decay (NMD). Nous avons observé une diminution de l'expression de la protéine *RAD51* dans les lymphocytes de ces patients MMC. Ces résultats montrent que cette mutation entraîne une haplo-insuffisance de *RAD51* suggérant fortement que des mutations perte de fonction de *RAD51* sont à l'origine des MMC chez l'Homme.

La découverte récente de mutations non tronquantes dans le gène *RAD51* (telle que R250Q) nous permet d'analyser *in vitro* les propriétés biochimiques des protéines mutées et d'étudier leur localisation subcellulaire dans des neurones corticaux de souris. A plus long terme, l'analyse fonctionnelle des protéines mutantes nous permettra de formuler et de tester de nouvelles hypothèses pour comprendre les mécanismes physiopathologiques qui conduisent à l'apparition des MMC.

#19846 : Implication du gène FLNC dans les cardiomyopathies : prévalence et corrélation phénotype génotype

Auteurs :

Flavie ADER (1, 2), Pascal DE GROOTE (3), Caroline ROORYCK-THAMBO (4), PATRICIA REANT (5), Delphine DUPIN DEGUINE (6), Caroline RAMBAUD (7), Diala KHRAICHE (8), Jean François PRUNY (9), Yann TROADEC (10), Laurent GOUYA (11), Xavier JEUNEMAITRE (12), Lionel VAN MALDERGEM (13), Eric VILLARD (14), Philippe CHARRON (9, 14)

1. Faculté de Pharmacie, Université de Paris, Paris, France
2. Service de Biochimie Métabolique, UF cardiogénétique, APHP-HU Pitié Salpêtrière Charlesfoix, Paris, France
3. Service de Cardiologie, CHRU Lille, LILLE, France
4. Service de génétique, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
5. Service de Cardiologie, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
6. Service de génétique, CHU Toulouse, TOULOUSE, France
7. Service Médecine Légale, Hôpital Raymond Poincaré, GARCHES, France
8. Service de Cardiologie, GH Necker Enfants Malades, PARIS, France
9. Centre de référence pour les maladies cardiaques héréditaires, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
10. Service de génétique, CHU Caen, CAEN, France
11. Service de génétique, Hopital Bichat, PARIS, France
12. Service de génétique, HEGP, PARIS, France
13. Centre de génétique humaine, Université de Franche Comté, Besançon, France
14. INSERM, UMR_S 1166 , Sorbonne Université, PARIS, France

Mots clefs : Cardiomyopathie, corrélation génotype phénotype, risque arythmogène, FLNC

Résumé :

Les variants pathogènes du gène FLNC codant pour de la filamine C ont été initialement rapportés dans des phénotypes de myopathies distales et myofibrillaires (associés ou non à des cardiomyopathies). Plus récemment, des variants pathogènes ont été impliqués dans des cardiomyopathies isolées (cardiomyopathies hypertrophiques-CMH-, dilatées -CMD- cardiopathie arrhythmogène -CAVD- et restrictives -CMR-). Toutefois la prévalence de ce gène dans les différents phénotypes et les corrélations phénotype-génotype ne sont pas bien connus pour ce gène dans le cadre des cardiomyopathies isolées.

Notre objectif était d'estimer la prévalence de variants pathogènes de FLNC dans des sous-types de cardiomyopathies et d'étudier les relations entre phénotype et génotype.

Les ADN d'une cohorte de 1150 patients non apparentés présentant une cardiomyopathie isolée (700 CMH, 300 CMD, 50 CMR et 100 non-compaction du ventricule gauche-LVNC-) ont été séquencés sur un panel de 51 gènes responsables de cardiomyopathies ainsi que des gènes impliqués dans des formes syndromiques de cardiomyopathies. Seuls les variants pathogènes ou probablement pathogènes ont été retenus pour l'analyse.

Un variant pathogène ou probablement pathogène du gène *FLNC* a été identifié chez 28 patients correspondant à une prévalence allant de 1% (CMH et NCVG), 3% (CMD) à 8% (CMR). Les variants tronquants ont été identifiés uniquement chez les patients atteints de CMD, tandis que des variants faux-sens se retrouvent dans les autres phénotypes et les indel en phase uniquement dans les CMR. Les antécédents personnels ou familiaux de mort subite cardiaque (MS) étaient significativement plus élevés chez les patients présentant des variants tronquant que chez les patients porteurs de variants faux-sens ($p = 0,01$). Concernant la localisation des variants, 10 des 13 variants faux sens associés aux CMH sont localisés dans le domaine ROD2 de la protéine intéragissant avec la strie Z du sarcomère. Enfin, ce travail rapporte pour la première fois au variant pathogène *FLNC* associé au phénotype de NCVG

Ce travail met en évidence le rôle du gène *FLNC* dans les cardiomyopathies. De plus, une corrélation entre la nature de la variant et le sous-type de cardiomyopathie a été observée ainsi qu'avec le risque de MS. Ces résultats mettent en avant l'intérêt du séquençage de ce gène dans le cadre du diagnostic moléculaire des cardiomyopathies et dans la prise en charge des patients, notamment vis à vis du risque arythmogène.

#19962 : Homozygous GRN mutations: unexpected phenotypes and novel insights into pathological and molecular mechanisms from a new case series.

Auteurs :

Vincent Huin (1), Mathieu Barbier (2), Armand Bottani (3), Johannes Alexander Lobrinus (4), Fabienne Clot (5), Foudil Lamari (6), Laureen Chat (7), Benoit Rucheton (6), Frédérique Fluchere (8), Stéphane Auvin (9), Peter Myers (10), Antoinette Gelot (11), Agnès Camuzat (2), Catherine Caillaud (12), Ludmila Jornéa (1), Sylvie Forlani (1), Dario Saracino (1), Charles Duyckaerts (13), Alexis Brice (2), Alexandra Durr (14), Isabelle Le Ber (15)

1. ICM Brain and Spine Institute, Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Université, Paris, France, Paris, France
2. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France
3. Service de Médecine génétique, Hôpitaux universitaires de Genève, Genève, Suisse, Genève, Suisse
4. Service de Pathologie clinique, Hôpitaux universitaires de Genève, Genève, Suisse, Genève, Suisse
5. Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique et Cytogénétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
6. AP-HP, Service de Biochimie Métabolique, UF Biochimie des Maladies Neurométaboliques, Pitié-Salpêtrière University Hospital, Paris, France, Paris, France
7. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France, Paris, France
8. APHM, Service de Neurologie et Pathologie du mouvement, La Timone, Pôle de Neurosciences cliniques, Aix-Marseille Université, France, Marseille, France
9. APHP, Service de Neuropédiatrie, Robert-Debré University Hospital, F-75019, Paris, France, Paris, France
10. , Cabinet médical, Genève, Suisse, Genève, Suisse
11. Neuropathologie, Laboratoire d'anatomie pathologique/INMED INSERM U901, Hôpital Trousseau AP-HP, Paris France/Campus de Luminy Université AIX MARSEILLE, France, Paris, France
12. Laboratoire de Biochimie Métabolique et Protéomique, Hôpital Universitaire Necker- Enfants Malades, AP-HP, F-75015 Paris, France, Paris, France
13. Laboratoire de Neuropathologie Escourolle, AP-HP, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris, France, Paris, France
14. ICM Brain and Spine Institute, Inserm U 1127, CNRS UMR 7225/AP-HP, National Reference center for rare diseases "Neurogénétique", Sorbonne Université, Paris, France/Pitié-Salpêtrière University Hospital, Paris, France, Paris, France
15. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, ICM, APHP Department of Neurology, Paris, France

Mots clefs : Progranulin-GRN, cerebellar ataxia, neuronal ceroid lipofuscinosis, frontotemporal dementia/frontotemporal lobar degeneration, TDP-43.

Résumé :

Homozygous mutations in the progranulin gene (*GRN*) are associated with neuronal lipofuscinosis-11 (CLN11), a rare lysosomal-storage disorder characterized by cerebellar ataxia, seizures, retinitis pigmentosa, and cognitive disorders, usually beginning between 13 and 25 years of age. This is a rare condition, previously reported in only four families. In contrast, heterozygous *GRN* mutations are a major cause of frontotemporal dementia (FTD) associated with neuronal cytoplasmic TDP43 inclusions. We identified homozygous *GRN* mutations in six new patients. The phenotypic spectrum is much broader than previously reported, with two remarkably distinct presentations, depending on the age of onset. A childhood/juvenile form is characterized by classical CLN11 symptoms at an early age at onset. Unexpectedly, other homozygous patients presented a distinct delayed phenotype of FTD and parkinsonism after 50 years; none had epilepsy or cerebellar ataxia. Another major finding of this study is that all *GRN* mutations may not have the same impact on PGRN protein synthesis. A hypomorphic effect of some mutations is supported by the presence of residual levels of plasma progranulin and low levels of normal transcript detected in one case with a homozygous splice-site mutation and late onset FTD. This is a new critical finding that must be considered in therapeutic trials based on replacement strategies.

The first neuropathological study in a homozygous carrier provides new insights into the pathological mechanisms of the disease. Hallmarks of neuronal ceroid lipofuscinosis were present. The absence of TDP-43 cytoplasmic inclusions markedly differs from observations of heterozygous mutations, suggesting a pathological shift between lysosomal and TDP-43 pathologies depending on the mono or bi-allelic status. An intriguing observation was the loss of normal TDP-43 staining in the nucleus of some neurons, which could be the first stage of the TDP-43 pathological process preceding the formation of typical cytoplasmic inclusions.

This study has important implications for genetic counseling and molecular diagnosis. Semidominant inheritance of *GRN* mutations implies that specific genetic counseling should be delivered to children and parents of CLN11 patients, as they are heterozygous carriers with a high risk of developing dementia. More broadly, the fact that genetic variants can lead to different phenotypes according to their mono- or bi-allelic state is a challenge for genetic diagnosis. It illustrates the limitations of genetic testing only guided by inheritance patterns and the interest of next generation sequencing for patients with an unclear genetic etiology to

detect infrequent occurrences, such as homozygosity in rare dominant diseases.

Pièce jointe : Barbier_Abstract_19962.docx

#19853 : Le dépistage familial des pathologies vasculaires rares chez les mineurs asymptomatiques : quelles pratiques ? Retour sur expérience

Auteurs :

Sylvie FOURDRINOY (1), Sophie DUPUIS-GIROD (1)

1. Unité de Génétique Clinique et Centre de Référence pour la maladie de Rendu-Osler, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Femme Mère Enfant, BRON, France

Mots clefs : dépistage génétique familial, mineurs asymptomatiques, protocole, pathologies vasculaires rares, syndrome de Marfan, maladie de Rendu-Osler

Résumé :

L'identification d'une mutation génétique chez un patient présentant une pathologie vasculaire rare comme le syndrome de Marfan ou la maladie de Rendu-Osler rend possible le dépistage familial. Les enfants sont parmi les premiers pour lesquels les patients s'interrogent sur leur statut.

2 questions se posent :

- Celle du bénéfice du test génétique « *Un examen génétique n'est prescrit chez un mineur que lorsque le bénéfice (pour lui ou sa famille) est **évident et indispensable immédiatement** sinon il sera recommandé de le lui proposer à partir de sa majorité* » (article R. 1131-5 du code de la santé publique)
- Celle de l'absence de symptômes visibles ou connus chez les enfants compte tenu de leur âge

Les médecins répondent à la 1ère question en indiquant notamment dans les PNDs des âges pour débiter les prises en charge, les examens, la prévention... Mais l'absence fréquente de symptômes chez les enfants nous renvoie à un contexte de diagnostic présymptomatique. Quel protocole proposer alors ?

Etat des lieux et élaboration d'un protocole

Les principales difficultés rencontrées dans notre pratique sont liées :

- au vécu personnel et familial de la pathologie tant du côté des parents que de l'enfant
- aux limitations de l'information de l'enfant
- à la présence du seul parent malade aux consultations

Un protocole a été élaboré pour encadrer le dépistage des mineurs :

- consultation 1 en binôme médecin/psychologue : les 2 parents sans l'enfant : consultation préparatoire : information sur le protocole : préparation de l'enfant (comment lui parler de la pathologie, de la consultation...), temporalité du test...
- entretien(s) avec la psychologue pour les parents si inquiétude importante ou à la demande
- consultation 2 en binôme : les 2 parents avec l'enfant : reprise de l'information pour l'enfant, explication du protocole et réalisation du test avec l'accord de l'enfant
- 1 entretien au moins avec la psychologue pour l'enfant, le plus souvent avant le prélèvement ou avant le résultat
- consultation 3 en binôme : remise du résultat en 2 temps : aux parents puis à l'enfant avec ses parents

Bilan et principaux enseignements

Entre janvier 2016 et septembre 2019, 75 enfants entre 4 et 18 ans ont été reçus en entretien psychologique en plus des consultations de génétique : 4 en amont de la consultation médicale, 25 avant le test et 46 avant le résultat ; 10 enfants ont été vus 2 fois pendant le protocole et 2 ont été revus par la suite.

Le discours parental et l'histoire familiale influencent fortement le vécu de l'enfant de la consultation de génétique et de son intérêt d'où l'importance de l'anticipation et de la préparation tant du côté des parents que de l'enfant.

Les enfants sont présents à la consultation de résultats même si parfois des parents rediscutent la nécessité de leur présence.

Il est nécessaire de planifier à titre systématique les consultations psychologiques pour éviter les « oublis ».

#20235 : Identification et characterization de la premiere cause monogenique commune de tuberculose: TYK2 P1104A

Auteurs :

Stephanie Boisson-Dupuis (1), Gaspard Kerner (1), Zhi Li (2), Etienne Patien (3), Sandra Pellegrini (2), Lluís Quintan-Murci (3), Laurent Abel (1), Jean-Laurent Casanova (1)

1. Laboratoire de Genetique Humaine des Maladies Infectieuses, Institut Imagine, Paris, France
2. Cytokine signaling unit, Institut Pasteur, Paris, France
3. Human evolutionary genetics, Institut Pasteur, Paris, France

Mots clefs : gene , variant, monogenique, tuberculose

Résumé :

Les bases génétiques de la tuberculose chez l'homme sont restées longtemps indéterminées. Les déficits héréditaires en IL-12Rb1 et TYK2 compromettent les réponses à l'IL-12 et à l'IL-23, aboutissant à un défaut de l'immunité médiée par l'IFN- γ . Ce sont des causes monogéniques rares de la tuberculose, chacune présentes chez moins de 1/600000 personnes. Nous montrons que les homozygotes pour l'allèle commun TYK2 P1104A, représentant environ 1/600 Européens et entre 1/1000 et 1/10000 individus dans des régions autres que l'Asie de l'Est, sont plus fréquents dans une cohorte hétérogène de patients atteints de tuberculose venant de zones endémiques que dans une population témoin ajustés selon l'appartenance ethnique ($P = 8,37 \times 10^{-8}$; odds ratio (OR) : 89,31). De plus, la fréquence de P1104A chez les Européens a diminué, passant de 9% à 4,2% environ, au cours des 4000 dernières années, ce qui est compatible avec l'élimination de ce variant du à l'endémicité de la tuberculose. Nous avons répliqué ces résultats dans la cohorte britannique de biobank (UK Biobank). La fréquence des homozygotes P1104A était beaucoup plus élevée chez les patients tuberculeux (6/620, 1%) que chez les témoins (228/114 473, 0,2%), avec un OR ajusté de 5 ($P = 2 \times 10^{-3}$). À l'inverse, nous n'avons pas observé d'enrichissement pour l'hétérozygotie P1104A, ni pour l'homozygotie ou l'hétérozygotie TYK2 I684S ou V362F. Ces résultats suggèrent que l'homozygotie pour TYK2 P1104A pourrait expliquer environ 1% des cas de tuberculose chez les Européens. De manière surprenante, nous montrons également que TYK2 P1104A altère les réponses cellulaires à l'IL-23, mais pas à l'IFN- α , à l'IL-10 ou même à l'IL-12, qui, comme l'IL-23, induit l'IFN- γ via l'activation de TYK2 et JAK2. En outre, TYK2 P1104A est correctement ancré sur les récepteurs des cytokines et peut être phosphorylé, mais manque d'activité catalytique. Enfin, nous montrons que l'activité catalytique de TYK2 est essentielle pour les réponses de IL-23, mais pas pour IL-12, dans les cellules exprimant JAK2 de type sauvage. En conclusion, l'homozygotie pour le variant faux sens P1104A de TYK2, abolissant son activité kinase, perturbe sélectivement l'induction de l'IFN- γ par l'IL-23 et constitue la première étiologie génétique commune de la tuberculose, probablement responsable d'environ 1% des cas de tuberculose chez les Européens.

#20186 : Etat des lieux du diagnostic génétique des déficiences intellectuelles au CHU de Brest

Auteurs :

Sylvia REDON (1), Kevin UGUEN (2), Caroline BENECH (3), Séverine AUDEBERT-BELLANGER (4), Marc PLANES (5), Jérémie LEFRANC (6), Adélaïde BROSSEAU-BEAUVIR (7), Elise SACAZE (7), Juliette ROPARS (7), Sylviane PEUDENIER (8), Cédric LE MARECHAL (8), Claude FEREC (8)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU MORVAN, Brest, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire et histocompatibilité, CHRU Brest, BREST, France
3. Etablissement Français du sang, CHRU Morvan, Brest, France
4. Service de génétique clinique, CHRU MORVAN, BREST, France
5. Service de génétique, CHRU Brest, Brest, France
6. Service de Neuropédiatrie, CHRU Brest, BREST, France
7. Service de Neuropédiatrie, CHRU Brest, Brest, France
8. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU Morvan, Brest, France

Mots clefs : déficiences intellectuelles, NGS, diagnostic

Résumé :

Les troubles neurodéveloppementaux sont des maladies hétérogènes tant au niveau des phénotypes que des causes qui sont multifactorielles. Si les causes génétiques représentent au moins 30% des cas (Retterer et al., 2016), plus de 1000 gènes de déficience intellectuelle ont été publiés et tous les modèles connus de transmission sont retrouvés : autosomique dominant ou récessif, lié à l’X ou dans des régions soumises à empreinte génétique.

Notre expérience diagnostique par CGH-array montre un taux de diagnostic de 15%, chiffre en accord avec les données de la littérature (Miller et al., 2010). Ainsi la prolongation des tests génétiques par séquençage haut-débit basé sur un panel de 500 gènes impliqués ou potentiellement impliqués dans les déficiences intellectuelles montre un rendement positif de 31% des cas de façon certaine (mutation de classe 4 ou 5) et 4% des cas présentent une mutation de classe 3.

Notre expérience retrouve des mutations pathogènes ou probablement pathogènes dans des gènes récurrents : *ANKRD11*, *TCF20*, *AHDC1*, *MECP2*, *HUWE1* et *CIC*. Nous mettons en évidence la présence d’un mosaïcisme dans 13% des cas, ce qui est supérieur à ce qui est décrit dans la littérature (Acuna-Hidalgo et al, AJHG 2015). Elles touchent des gènes pour lesquels ce mécanisme est déjà connu tel que *MECP2* (mosaïcisme germlinal maternel) et *GNB1* (mutation somatique du patient) mais également *CLCN4* et *ARID1A*. Un patient est hétérozygote composite pour un gène émergent dans les déficiences intellectuelles, le gène *UNC13A*. Pour l’heure aucun patient hétérozygote composite pour une mutation (SNV) et un CNV n’a été détecté. L’analyse des trios par pool de parents est une approche efficace pour l’interprétation et la priorisation des variants. A ce stade une réflexion va être nécessaire afin d’adopter la stratégie diagnostique la plus efficace dans le futur.

#20585 : Anomalies de la différenciation sexuelle : Etude de profil clinique et génétique de 241 cas et analyse statistique

Auteurs :

Khouloud Rjiba (1), Sarra Dimassi (1), Karim Ben Ameer (2), Afef Jalloul (1), Hamza BEN ABDALLAH (1), Imen BEN HADJ HMIDA1 (1), Hedi KHAIRI (3), Mohamed BIBI (3), Mohsen BELGUITH (4), ALI SAAD (1), Soumaya Mougou Zerelli (1)

1. Laboratoire de cytogénétique, biologie moléculaire et biologie de la reproduction Humaines, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Sousse, Tunisie
2. Service de Néonatalogie, Hôpital de Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie
3. service de Gynécologie obstétrique, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Sousse, Tunisie
4. service de chirurgie pédiatrique, Hôpital de Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie

Mots clefs : Désordres de développement sexuel, Dysgénésie gonadique , ovo-testiculaire DSD, Syndrome de Klinefelter

Résumé :

Les désordres du développement sexuel (DSD) sont des troubles congénitaux, caractérisés par une discordance entre le sexe chromosomique, gonadique, ou anatomique. Bien que la fréquence de ces anomalies ait considérablement progressé au niveau de la population maghrébine, le phénotype n'est expliqué que partiellement chez certains cas. Nous rapportons dans cette étude les différents profils cliniques et chromosomiques des patients présentant un DSD. En se basant sur la classification de Chicago de 2005, nous nous proposons l'étiologie des DSD en Tunisie.

Il s'agit d'une étude rétrospective qui porte sur 241 patients ayant consulté pour exploration génétique d'une anomalie de différenciation sexuelle, sur une période allant de Janvier 2010 à Décembre 2018. Une analyse systématique par caryotype conventionnel a permis de reclasser les patients selon les formules chromosomiques et le phénotype génital et gonadique. Une étude moléculaire par différents techniques a été menée pour affiner notre recherche.

L'âge médian de nos patients est de 16 ans avec des extrêmes allant de 1 jour à 44 ans. Les patients sont repartis comme suit :47,71%(115/241) à 46 XY DSD, 36,09% (87/241) présentaient une anomalie des gonosomes et 16,18%(39/241) à 46, XX DSD. 37(15.35%) patients présentent une dysgénésie gonadique dont 22(59.4%)sont de type 46,XY ovotesticulaire DSD et 15(40.5%) de type 46,XX testiculaire DSD. Curieusement, le syndrome de Klinefelter (22,82%) et les patients à 46, XY ovo-testiculaire DSD sont les plus fréquents dans notre étude avec une fréquence de 22,82% et 9.12% respectivement. Toute techniques confondus, nous avons mis en évidence l'implication de certains gènes dans la différenciation sexuelle tels que *SRY*, *DAX1*, *SOX9*, *LHCGR* et *AR*, ainsi que d'autres gènes candidats tels que *NCOR2*, *ETKKN2* et *TLE3*.

Notre stratégie d'exploration nous a permis de dévoiler un groupe de gènes causal chez certains patients. Chez les patients 46,XY ovo-testiculaire DSD, nous avons pu identifier des mutations ponctuelles au niveau des gènes *LHCGR*, *AR* et *TLE3* pouvant expliquer le phénotype. Chez les patients 46,XX testiculaire DSD, une duplication du gène *SOX9* ainsi qu'une présence ou absence du gène *SRY* a été identifié expliquant le phénotype. Ces données mettent en évidence la complexité de la différenciation sexuelle masculine ainsi que le diagnostic tardif de ces troubles dans les pays à faible niveau socio-économique où le diagnostic anténatal est presque inexistant.

Devant l'hétérogénéité clinique et génétique, les DSD sont relativement sous-estimés, ce qui rend leur diagnostic tardif et plus difficile. A notre connaissance, il s'agit de la première étude statistique qui a permis de décrire le spectre clinique et génétique des DSD dans la population tunisienne. Ceci nous amènerait à mettre en place un diagnostic précoce dans le futur qui permettrait d'améliorer la prise en charge des patients.

Pièce jointe : Abstract- Assise.docx

#20147 : Le syndrome d'Ellis-Van Creveld : A propos d'une observation familiale

Auteurs :

Rania Sakka (1, 2), Zahra Saidani (3), Samia Belhassen (2), Hayet Ben Hamida (4), Kamel Monastiri (4)

1. Unité de recherche de Génétique et maladies de l'enfant UR12ES10, Faculté de Médecine de Monastir, Monastir, Tunisie
2. Service de Chirurgie pédiatrique, Hôpital Fattouma Bourguiba de Monastir, Tunisie, Monastir, Tunisie
3. Service de Gynécologie obstétrique, Hôpital Fattouma Bourguiba de Monastir, Tunisie, Monastir, Tunisie
4. Réanimation et de Médecine Néonatale, Hôpital Fattouma Bourguiba de Monastir, Tunisie, Monastir, Tunisie

Mots clefs : Syndrome d'Ellis-Van Creveld- Micromélie- Dysplasie thoracique-Cardiopathie

Résumé :

Le syndrome d'Ellis-Van Creveld (EVC) est une dysplasie chondro-ectodermique autosomique récessive rare caractérisée par un retard de croissance à début anténatal, un thorax étroit, une polydactylie, des anomalies ectodermiques et des malformations cardiaques. Les difficultés respiratoires rencontrées dans les premiers mois de vie, dues à l'étroitesse thoracique et au type de la malformation cardiaque sont responsables de la létalité de cette pathologie.

Nous rapportons l'observation de trois nouveau-nés d'une même fratrie et issus de parents cousins germains. Le premier nouveau-né est de sexe masculin, ayant eu un diagnostic anténatal échographique d'une micromélie. A la naissance, il a présenté une détresse respiratoire sévère et à l'examen, un nanisme dysharmonieux, une dysmorphie faciale associant un front large, un nez avec une ensellure nasale marquée, des oreilles bas implantées avec un tubercule prétragien gauche, une fente labiale supérieure partielle, des freins gingivaux, deux incisives inférieures, une hexadactylie postaxiale des mains, un thorax étroit avec onze côtes courtes et une hypoplasie pulmonaire, une hépatomégalie, un micropénis avec une verge coudée. Il est décédé au troisième jour de vie par détresse respiratoire. Le deuxième nouveau-né est de sexe masculin. Il a eu un diagnostic anténatal échographique d'une micromélie, un thorax étroit, une cardiomégalie, une communication interauriculaire et une dilatation du ventricule cardiaque droit. L'interruption de la grossesse est refusée par la couple des parents. A la naissance, le patient a présenté un nanisme dysharmonieux, une dysmorphie faciale associant un front haut et large, un nez large avec une ensellure nasale marquée, une encoche médiane de la face interne de la lèvre supérieure, des freins gingivaux, deux incisives inférieures. Le thorax était court et étroit et a constitué une cause d'une détresse immédiate et sévère. Les membres étaient courts avec une hexadactylie des mains et une dysplasie des ongles. Le diagnostic du syndrome d'EVC est retenu. Le nouveau-né est décédé au 3^{ème} jour de vie d'une insuffisance respiratoire. Le troisième nouveau-né est de sexe féminin et a présenté en échographie anténatale une micromélie. A la naissance, elle était eupnéique et a présenté une dysmorphie faciale et des membres similaire à celle du deuxième nouveau-né mais avec un thorax moins étroit. L'échographie cardiaque a montré une oreillette unique sans signes d'insuffisance cardiaque. L'évolution est marquée par l'absence de complications respiratoires et hémodynamiques jusqu'à l'âge de trois mois. Une opération de la cardiopathie est prévue.

En conclusion, le syndrome d'Ellis-Van Creveld est une chondrodysplasie dont le pronostic dépend du volume thoracique et du type de la malformation cardiaque associée. Le diagnostic anténatal repose sur un examen échographique détaillé pour pouvoir prédire la létalité de cette pathologie.

Pièce jointe : abstract _EVC_poster électronique.docx

#20184 : Syndrome Hydrolethalus : première description de deux nouveaux variants pathogènes non finlandais dans *HYLS1* chez deux fœtus.

Auteurs :

Leïla Ghesh (1), Marie Musquer (2), Louise Devisme (3), Nadia Elkhartoufi (4), Pascal Vaast (5), Odile Boute (6), Anne-Sophie Riteau (7, 8), Claudine Le Vaillant (7), Norbert Winer (7), Madeleine Joubert (2), Stéphane Bézieau (1, 9), Sophie Thomas (10), Tania Attie-Bitach (4, 10), Claire Beneteau (1)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHRU de Lille, Lille, France
4. Service d'Histo-embryologie et de cytogénétique, Unité d'Embryofœtopathologie, CHU Paris, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
5. Service d'Echographie fœtale et de médecine fœtale, CHRU de Lille, Lille, France
6. Service de génétique médicale, CHRU de Lille, Lille, France
7. Service de Gynécologie-obstétrique, CHU de Nantes, Nantes, France
8. Service de Gynécologie-obstétrique, Clinique Jules Vernes, Nantes, France
9. Institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU de Nantes, Nantes, France
10. Institut Imagine, INSERM U1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : *HYLS1*, syndrome hydrolethalus, ciliopathie, fœtus, hydrocéphalie, transmission autosomique récessive

Résumé :

Le syndrome hydrolethalus (HLS) est un syndrome polymalformatif fœtal léthal rare, lié à un défaut de la ciliogenèse. Ce syndrome est plus fréquent en Finlande, où un variant faux-sens fondateur dans le gène *HYLS1* a été identifié en 2005. A ce jour, aucun autre variant dans *HYLS1* impliqué dans le HLS, n'a été rapporté.

Nous rapportons deux fœtus français présentant un phénotype d'HLS (anomalies cérébrales, malformations des membres avec une polydactylie croisée et anomalie des organes génitaux) porteurs de deux variants hétérozygotes composites dans le gène *HYLS1*. Le premier allèle de chaque fœtus porte le variant finlandais (NM_145014.2: c.632A > G, p.(Asp211Gly)). Le second allèle porte un nouveau variant faux-sens (c.662G > C, p.(Arg221Pro)) chez le premier fœtus, et un nouveau variant non-sens (c.613C > T, p.(Arg205*)) chez le deuxième fœtus.

Il s'agit de la première description de cas d'HLS par mutation de *HYLS1* en dehors des cas Finlandais, qui confirme l'implication de ce gène dans le syndrome Hydrolethalus. Par ailleurs, les deux fœtus rapportés ici ont un phénotype compatible avec l'HLS, mais présentent des malformations additionnelles, permettant d'étendre le spectre phénotypique précédemment décrit et de placer l'HLS dans le large spectre phénotypique des ciliopathies.

#19891 : Mobidetails, l'application web libre et gratuite d'interprétation des variations génétiques

Auteurs :

David Baux (1), Charles Van Goethem (2), Thomas Guignard (3), Kevin Yauy (4, 5), Olivier Ardouin (6), Michel Koenig (1), Anne-françoise Roux (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de Biologie des Tumeurs Solides, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France
3. Unité de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France
4. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, Génétique clinique, CHU de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France
5. Centre de référence anomalies du développement SORO, INSERM U1183, Montpellier, France
6. Plateau de Médecine Moléculaire et Génomique, CHU de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Bioinformatique, interprétation de variants, application web

Résumé :

L'interprétation clinico-biologique des variants d'ADN identifiés dans le cadre du diagnostic moléculaire constitue l'**une des étapes chronophages** de toute analyse. De multiples outils d'aide ou de prédiction existent, notamment pour évaluer l'impact des variants faux-sens, mais aussi l'impact des variants sur l'épissage, ou encore pour déterminer la fréquences de variants dans diverses populations. **Les sources de données sont nombreuses et variées**, mais y accéder de manière efficace requiert l'utilisation de suites logicielles commerciales ou qui imposent diverses contraintes (nécessité d'être connecté par un identifiant, etc). **MobiDetails est une application web libre d'accès permettant sur une seule page d'agréger un nombre important de données** par variant.

L'utilisateur a la possibilité de créer dans le système des variants (via VariantValidator) dans le gène de son choix (en utilisant la nomenclature HGVS transcrit (c.)). **Le variant peut être de tout type** (exonique, intronique, substitution, délétion, duplication...). Une fois créé, le variant est connu du système et pourra par la suite être rappelé via le moteur de recherche intégré. Pour chaque gène, une page permet d'afficher les variants déjà connus par catégories.

L'outil présente pour chaque variant une synthèse incluant notamment:

- les différentes **nomenclatures HGVS** (génomiques, protéique...),
- l'interprétation des positions dans le gène (exon/intron), la protéine, le contexte nucléotidique, la proximité de sites d'épissage...
- les **fréquences globales dans gnomAD** exome/genome, l'identifiant dbSNP
- l'interprétation **Clinvar**
- des **liens directs** vers les instances **LOVD** recensant le variant
- le score CADD
- les scores dbSNV et spliceAI pour les **prédictions d'épissage** pour les substitutions
- **divers scores de prédictions** (SIFT, Polyphen2, metaSVM, FATHMM...) pour les faux-sens, données issues de dbNSFP
- les **identifiants pubmed** d'articles citant le variant d'intérêt (via LitVar)
- une **classification ACMG semi-automatisée** (via Intervar).

Cette synthèse est **exportable au format pdf**. Les utilisateurs du SIL DEGEN pourront exporter un fichier compatible afin d'éviter les saisies manuelles.

De nombreuses améliorations sont prévues et incluent la possibilité de créer des variants par lots, la création d'une API (Application Programming Interface) permettant un accès, la pré-création automatique de toutes les substitutions possibles ainsi que l'intégration d'un module MaxEnt (prédiction d'effet sur l'épissage) qui sera fonctionnel pour les indels.

Une **version de démonstration non optimisée** comprenant environ 1200 gènes est **disponible pour les évaluateurs de ce résumé** à l'adresse suivante (**attention cette version de démonstration peut ne pas être accessible depuis certains réseaux, notamment hospitaliers**):

<http://194.167.35.130:5001/>

Exemple d'un gène :

<http://194.167.35.130:5001/gene/USH2A>

Exemple d'un variant :

<http://194.167.35.130:5001/variant/8>

Le code source est disponible sur GitHub :

<https://github.com/beboche/MobiDetails>

#20265 : Étude d'un panel de gènes impliqués dans les épilepsies monogéniques (PAGEM) : résultats préliminaires de la cohorte des 461 premiers patients analysés au centre de génétique de Lyon**Auteurs :**

Pauline Monin (1, 2), Audrey Labalme (1), Nicolas Chatron (1, 3), Carole Goujon (1), Hélène Guilbert (1), Marie Luino (1), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (1), Claire Bardel (1, 4), Thomas Simonet (1), Dorothée Ville (5), Eleni Panagiotakaki (6), Julitta De Regnauld De Bellescize (6), Alexis Arzimanoglou (6, 4), Vincent Des Portes De La Fosse (5, 4), Marianne Till (1), Damien Sanlaville (1, 3), Gaetan Lesca (1, 3)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Laboratoire Jacquemont, Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada
3. Institut Neuromyogène, CNRS UMR 5310 - INSERM U1217, Université Claude Bernard, Lyon 1, Lyon, France
4. Faculté de médecine de Lyon, Université Claude Bernard, Lyon 1, Lyon, France
5. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
6. Service d'épileptologie clinique, des troubles du sommeil et de neurologie fonctionnelle de l'enfant, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Mots clefs : Épilepsies monogéniques, panel, séquençage haut débit

Résumé :

Les épilepsies constituent un groupe de pathologies neurologiques fréquentes et hétérogènes, au sein duquel ont été décrites de nombreuses formes monogéniques rares. La mise en évidence d'un variant causal permet : i) de confirmer un diagnostic étiologique suspecté sur les données électro-cliniques, ii) de formuler un conseil génétique fiable, et, iii) dans quelques cas, d'adapter la prise en charge thérapeutique.

L'objectif de ce travail est d'analyser les résultats du séquençage à haut débit d'un panel de 86 puis 117 gènes préalablement impliqués dans des formes d'épilepsies monogéniques. La liste des gènes séquencés est régulièrement actualisée au sein du réseau EPIGENE.

Les résultats préliminaires de cette étude portent sur les 461 premiers patients dont l'ADN a été analysé à Lyon. Tous ces patients ont été évalués au préalable par un neuropédiatre et/ou un généticien, et ont également bénéficié d'une analyse chromosomique sur puce à ADN en première intention.

Soixante-douze variants pathogènes, 47 variants probablement pathogènes, et 12 variants de signification inconnue ont été détectés dans 49 gènes, dont certains sont impliqués de façon récurrente : *KCNQ2*(n=12); *SCN1A*(n=10); *CDKL5*, *KCNT1*, *SCN2A*(n=8); *ATP1A3*, *GRIN2A*, *PRRT2*(n=6); *CHD2*, *MECP2*, *PCDH19*(n=4); *ARHGEF19*, *DEPDC5*, *GNAO1*, *SLC6A1*, *STXBPI*(n=3). Six variants du nombre de copies (CNV) exoniques ont été détectés (5 délétions, 1 duplication), dont 1 en mosaïque. Quatre autres anomalies en mosaïque faible (5 à 20%) ont également été détectées.

Le rendement diagnostique toutes indications confondues s'élève à 28%. Les taux diagnostiques pour les principaux grands syndromes s'élèvent respectivement à : 37% pour les encéphalopathies épileptiques précoces (n=81); 23% pour les encéphalopathies épileptiques infantiles (n=71); 15% pour les syndrome de West (n=54); 33% pour les épilepsies sensibles à la fièvre (n=40); 21% pour les épilepsies focales (non idiopathiques) (n=34); 18% pour les épilepsies associées à une déficience intellectuelle (n=22); et 40% pour les épilepsies avec pointes-ondes continues du sommeil (n=20). Le taux diagnostique est plus faible dans les formes idiopathiques généralisées.

Enfin, le rendement diagnostique est plus élevé chez les patients présentant une épilepsie à début précoce : 36% pour les formes ayant débuté avant l'âge de 1 an (n=244); 24% pour celles ayant débuté entre 1 et 2 ans (n=74); et 13% pour les formes ayant débuté après l'âge de 2 ans (n=111).

Ce panel de gènes est donc intéressant pour les patients présentant une épilepsie à début précoce et pour ceux présentant un syndrome épileptique spécifique dans lequel des gènes sont impliqués de façon récurrente. Néanmoins, il s'agit d'une analyse ciblée qui ne permet pas de mettre en évidence des nouveaux gènes impliqués dans les formes plus rares. Cette limite est actuellement repoussée par l'implémentation progressive du séquençage à haut débit d'exome et de génome en routine.

Pièce jointe : abstract_assises_neurogenetique_PaulineMONIN.docx

#20045 : Intérêt du séquençage haut-débit dans les déficiences intellectuelles non malformatives : suivi d'une patiente atteinte du syndrome PURA**Auteurs :**

William Dufour (1), Thomas Smol (2), Caroline Thuillier (2), Mélanie Rama (2), Sylvie Manouvrier (1), Jamal Ghoumid (1), Catherine Vincent-Delorme (1)

1. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU de Lille, Lille, France
2. Institut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU de Lille, Lille, France

Mots clefs : déficience intellectuelle, syndrome PURA, séquençage haut-débit

Résumé :

La protéine PURA, *Purine-Rich Element Binding Protein A*, possède un rôle essentiel dans le développement cérébral. Cette protéine ubiquitaire est notamment impliquée dans les processus de réplication de l'ADN, la transcription et le transport des ARNm au niveau des dendrites durant le développement neuronal. Chez l'Homme, les altérations à l'origine d'une haplo-insuffisance du gène *PURA* (délétion 5q31.3 ou variations tronquantes du gène) sont responsables de troubles du neuro-développement caractérisés par une déficience intellectuelle modérée à sévère avec une absence de langage dans la plupart des cas (MIM #616158). Une hypotonie, des difficultés alimentaires, une hypersomnolence, des hoquets excessifs durant la période embryonnaire, des apnées centrales ou obstructives, des crises d'épilepsie ou des mouvements anormaux sont également rapportés.

Nous rapportons l'histoire clinique d'une patiente atteinte de syndrome PURA sans difficultés particulières en période néonatale. Elle a présenté initialement un retard des acquisitions léger au niveau moteur et sévère au niveau du langage qui a évolué vers une déficience intellectuelle modérée avec absence de langage. Le bilan malformatif a mis en évidence une hypermétropie sévère à l'examen ophtalmologique. L'IRM cérébrale s'est révélée normale.

Le diagnostic a été effectué par séquençage haut-débit d'un panel de 482 gènes impliqués dans les troubles du neuro-développement par la technique de capture HaloPlex (Agilent). Une variation hétérozygote faux-sens NM_296_297delinsTT;p.(Arg99Leu) située dans le domaine protéique *N-Terminal PUR Domain repeats I-II* a été identifiée, prédite comme altérant possiblement la conformation protéique.

Au total, 54 patients atteints de syndrome PURA ont été décrits dans la littérature scientifique à ce jour. Ils présentent un tableau clinique relativement similaire avec une variabilité interindividuelle importante et des symptômes souvent inconstants. L'histoire clinique de la patiente est révélatrice de cette expressivité variable et montre l'intérêt du séquençage haut-débit dans les déficiences intellectuelles sans malformations associées.

Pièce jointe : syndrome PURA.docx

#19828 : Intérêt de l'utilisation du séquençage d'exome pour le diagnostic des pathologies neurologiques progressives**Auteurs :**

Quentin Thomas (1, 2), Antonio Vitobello (2, 3), Frédéric Tran-Mau-Them (2, 3), Agnes Fromont (4), Maurice Giroud (1), Benoit Daubail (1), Jacquin-Piques Agnès (1), Marie Hervieu-Begue (1), Thibault Moreau (4), Guy-Victor Osseby (1), Sophie Nambot (5, 2), Ange-Line Bruel (2, 3), Arthur Sorlin (3, 6), Patrick Callier (3, 2), Anne-Sophie Denomme-Pichon (3, 2), Laurence Faivre (5, 2), Yannick Béjot (1, 7), Christophe Philippe (2), Christel Thauvin-Robinet (2, 3), Sébastien Moutton (5, 2)

1. Service de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon Bourgogne, Dijon, France
2. Inserm UMR1231 team GAD, Université de Bourgogne Franche-Comté,, Dijon, France
3. Unité fonctionnelle d'innovation diagnostique des maladies rares, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Service de Pathologies Inflammatoires du système nerveux central, Neurologie Générale, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon Bourgogne, Dijon, France
5. Service de Génétique Médicale, FHU-TRANSLAD, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Service de Génétique Médicale, FHU-TRANSLAD, Université de Bourgogne Franche-Comté,, Dijon, France
7. Registre des AVC Dijonnais, EA7460, Physiopathologie et Epidémiologie des maladies Cérébro-Cardiovasculaires (PEC2), Université de Bourgogne Franche-Comté,, Dijon, France

Mots clefs : neurogénétique, séquençage d'exome, diagnostic

Résumé :

Introduction: La démarche diagnostique d'une pathologie neurogénétique confronte le clinicien à 2 grandes difficultés : (1) au sein d'un cadre nosologique donné, les pathologies partagent souvent une base de symptômes et de syndromes peu spécifiques, (2) à l'instar de bien d'autres disciplines de la génétique humaine, il existe une grande hétérogénéité clinique et génétique des maladies neurogénétiques, source de confusion et de complexité. L'essor des technologies de séquençage haut débit au début des années 2010 entraîne une révolution des pratiques portée entre autres par le séquençage d'exome (ES) dont l'approche pangénomique se différencie de l'approche « traditionnelle » du gène par gène en étudiant d'emblée l'ensemble de l'exome humain, permettant ainsi de se défaire des limites liées à cette hétérogénéité dans le champ des maladies neurogénétiques. L'analyse vise ainsi à établir des corrélations entre le génotype et le phénotype. Bien que l'efficacité diagnostique de l'ES ne soit plus à prouver, son application en pratique quotidienne reste à ce jour très débattue en raison de considérations de coût, de facilité d'accès et d'interprétation de l'importante quantité de données produites.

Méthodes: Pour tenter de répondre aux questions soulevées par ce débat, nous avons réalisé un ES dans une cohorte prospective de 63 patients atteints de pathologies neurogénétiques progressives avec un développement psychomoteur normal sans égard vis-à-vis de leur sexe, âge à l'apparition des premiers symptômes ou de leur cadre nosologique. Les patients pouvaient avoir bénéficié d'un bilan génétique ciblé avant l'inclusion (33/63 patients).

Résultats: L'ES réalisé en solo (56/63) ou en trio (7/63) a permis de poser un diagnostic chez 44% des patients : 15 pathologies neuromusculaires, 13 ataxies cérébelleuses, 13 ataxies spinocérébelleuses, 11 paraparésies spastiques, 3 mouvements anormaux et 8 présentations cliniques complexes non catégorisables selon un cadre neurologique usuel. L'ES a notamment résolu des situations complexes telles que l'identification d'une dégénérescence avec surcharge cérébrale en fer chez une patiente longtemps supposée atteinte d'une cytopathie mitochondriale ou l'identification de pathologies différentes au sein d'une même famille. Trois diagnostics ont échappé à l'ES car non détectables par les filtres bioinformatiques et ont été confirmés par d'autres technologies ciblées (amyotrophie spinale de type 3, ataxie spinocérébelleuse 36, syndrome de Kearns-Sayre), soit un taux de faux négatif de 4.7%.

Discussion: L'ES apparaît comme un outil diagnostique puissant et pertinent pour la pratique quotidienne de la neurogénétique, offrant à la fois un haut rendement diagnostique et un outil adapté à la complexité des pathologies. Sa prescription doit cependant être précédée d'une expertise clinique en neurogénétique au regard de la fréquence non négligeable de maladies neurologiques liées à des variations génétiques non détectées par l'ES.

#20017 : Mutations du gene MITF responsable du syndrome de Waardenburg retrouvées chez des familles algeriennes

Auteurs :

SAMIA ABDI (1), Mohamed Makrelouf (2), Crystel Bonnet (3), 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 : surdité, genes, mutations, exome.

Résumé :

le syndrome de Waardenburg est une maladie génétique qui associe une surdité de perception et des anomalies de pigmentation de la peau et / des cheveux et / ou de l'iris.

C'est la cause la plus fréquente de surdité syndromique à transmission autosomique dominante.Quatre principaux types de ce syndrome (WS1, WS2, WS3 et WS4) causés par des mutations de genes differents sont decrits.

Une cohorte de familles algeriennes ayant aun moins un enfant atteint de surdité congénitale a fait l'objet de cette etude qui a consisté par l'intermediaire du sequencage de l'exome à rechercher les mutations à l'origine de la surdité isolée ou syndromique chez les familles atteintes.Le recrutement des familles s'est fait au niveau du service ORL du CHU de FRantz Fanon de Blida et l'etude moleculaire s'est faite à l'institut de la vision à Paris.

Plusieurs mutations génétiques dont deux au niveau du gene MITF responsable de syndrome de Waardenburg de type 2 ont été retrouvées à l'etat hétérozygote chez 2 familles algeriennes: il s'agit de la mutation faux sens p.Arg341Cys et de la mutation du site d'epissage (splice site mutation) c.1013+1G > A.

#20226 : Hétérogénéité clinique et génétique chez des patients tunisiens atteints de cockayne syndrome :à propos de 14 cas

Auteurs :

Asma Chikhaoui (1), Ichraf Krawa (2), Sami Bouchoucha (3), Sonia Abdelhak (4), Miria Richetti (5), Ilhem Turki (2), Laugel Vincent (6), Nadège Calmels (7), Houda Yacoub-Youssef (8)

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 Génomique Biomédicale et Oncogénétique et Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
5. Laboratoire Cellule souche et développement, Institut pasteur France, Paris , France
6. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpital de strasbourg, Strasbourg, France
7. Laboratoire de diagnostic génétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
8. 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 caractérisée seulement par une photosensibilité sans 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 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 14 patients issus de 12 familles tunisiennes. L'investigation génétique et les tests URRS et UDS ont été faits en collaboration avec le laboratoire de diagnostic génétique du CHU de Strasbourg.

Cette étude décrit 14 patients tunisiens. Il s'agit de la plus grande cohorte décrivant une hétérogénéité clinique qui s'est confirmée par l'analyse génétique au Nord de l'Afrique. En effet, chez 6 patients ayant hétérogénéité clinique, la même mutation dans le gène *ERCC8* de l'exon7 c.598_600 delins AA (p. Tyr200LysfsX12) a été trouvée d'où l'absence de toute corrélation phénotype génotype. 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. Ceci suggère que cette variation 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 cas sont en cours d'investigation.

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. Ce travail montre aussi que l'absence de corrélation phénotype génotype chez l'ensemble des patients porteurs de la même variation génétique confirme que la sévérité de la clinique de patients CS est influencée par différents facteurs en plus du déficit dans le système TCR-NER.

Pièce jointe : Résumé-Assiseg2019_HY.docx

#20486 : Déficit en prolidase, une maladie rare avec déficience intellectuelle et lésions cutanées. Nouveaux patients et méta-analyse de la littérature

Auteurs :

Marta Spodenkiewicz (1), Giorgos Fitsialos (2), Vincent Cottin (3), Anne-Sophie Lebre (1, 4)

1. Service de génétique, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, REIMS, F-51092, France, Reims, France

2. DNALogy, DNALogy, Athènes, Grèce

3. Pneumologie, Centre des Maladies Pulmonaires rares, Louis Pradel Hospital, Hospices Civils de Lyon, UMR 754, Claude Bernard University Lyon 1, Lyon, France, Lyon, France

4. Génétique, Université Reims Champagne Ardenne (URCA), REIMS, F-51092, France, Reims, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, Maladie métabolique, Méta-analyse

Résumé :

Le déficit en prolidase est une maladie rare de transmission autosomique récessive avec un âge de début très variable (naissance à âge adulte). Elle est caractérisée par l'association inconstante de symptômes tels que : déficience intellectuelle, lésions cutanées, splénomégalie et cytopénie. Le diagnostic du déficit en prolidase peut être clinique mais repose surtout sur le bilan métabolique. La prolidase est une enzyme ubiquitaire qui joue un rôle majeur dans le métabolisme des protéines riches en proline dont les collagènes. Chez les patients avec déficit en prolidase, la mise en évidence d'une excrétion massive de dipeptides contenant de la proline peut être mise en évidence sur la chromatographie des acides aminés urinaires. Le diagnostic de certitude est alors posé après étude moléculaire du gène *PEPD*. Devant l'absence de test disponible en Europe, nous avons mis en place le séquençage Sanger du gène *PEPD* en 2015 et sommes encore aujourd'hui le seul laboratoire français à proposer ce test. Nous rapportons ici deux nouveaux patients avec variants pathogènes dans le gène *PEPD*. Compte tenu de l'expressivité variable de la maladie, nous avons réalisé une méta-analyse de la littérature afin de décrire le spectre phénotypique de cette pathologie, ainsi que les actuelles hypothèses physiopathologiques liées à cette maladie. Un algorithme diagnostique est proposé afin de mettre fin à l'errance diagnostique pour ces patients.

#20417 : Mise en evidence de variants perte de fonction chez un tiers des individus porteurs de fente labiopalatine discontinue**Auteurs :**

Bénédicte DEMEER (1, 2), Nicole Revencu (3, 4), Raphael Helaers (4), Cica Gbaguidi (5), Stéphanie Dakpe (6), Geneviève François (7), Bernard Devauchelle (8, 9), Bénédicte Bayet (10), Miikka Viikkula (4, 11)

1. Unité de génétique, CLAD Nord de France/ EA 7516 CHIMERE, CHU 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. Centre de génétique humaine, Cliniques universitaires Saint Luc, Bruxelles, Belgique, Belgique
4. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, institut de Duve, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique
5. Département de Chirurgie maxillo-faciale, CC MAFACE, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
6. Service de chirurgie maxillo-faciale / EA 7516 CHIMERE, CHU Amiens Picardie/ Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France
7. Département de pédiatrie, Cliniques universitaires Saint Luc, Bruxelles, Belgique
8. Département de Chirurgie maxillo-faciale, CHU amiens, Amiens, France
9. EA 7516 CHIMERE, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France
10. Centre labiopalatin, Cliniques universitaires Saint Luc, Bruxelles, Belgique
11. centre de génétique humaine, Cliniques universitaires Saint Luc, Bruxelles, Belgique

Mots clefs : Fente labiopalatine discontinue ARHGAP29, FGFR1, DLG1, WES

Résumé :

Les fentes labiales et/ou palatines (FLPs) représentent les plus fréquentes des malformations cranio-faciales congénitales avec une incidence estimée à 1/700 naissances, incidence présentant des variations selon les ethnies et le type de fentes. Une origine multifactorielle est le plus souvent retenue dans la genèse des FL/Ps. Elles sont classiquement réparties en fente labiale avec ou sans fente palatine (FL/P) et en fente palatine seule (FP). Certains phénotypes de FLPs se distinguent comme celui de FLP discontinue, défini par l'association d'une fente du palais primaire à une fente de palais secondaire avec préservation d'une partie du palais intermaxillaire. Bien que ce phénotype semble représenter jusqu'à 5% des FLPs, il y est rarement fait spécifiquement référence, et sa pathophysiologie reste inconnue.

A ce jour, seules quelques rares études par séquençage haut débit d'exome (WES) ont été réalisées à la recherche de variants rares causaux chez des individus porteurs de FLP non syndromique, majoritairement familiale. L'une d'entre elles a permis d'identifier des mutations dans des gènes impliqués dans les FLPs syndromiques dans 10% des cas familiaux.

Nous avons étudié par WES 8 cas de FLP non-syndromique discontinue en utilisant une approche « gènes candidats ». Nous avons mis en évidence un variant perte de fonction chez trois individus, dont 2 porteurs de forme sporadique, ce qui représente près de 40% de cette cohorte de petite taille. Les gènes impliqués sont *FGFR1*, *ARHGAP29* et *DLG1*.

#19665 : L'infertilité masculine et le métier de menuisier dans la région de Sfax : une étude sur deux ans parmi la population des hommes infertiles consultant pour conseil génétique

Auteurs :

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Samir Aloulou (2), Rim Louati (3), Fatma Abid (4), Balkiss Abdelmoula (3), Nawel Abdellaoui (3), Oldez kaabi (3), Moez Hédi Ben Ayed (2), Mustapha Ben Aziza (3), Samir M'rabet (2), Sonda Kammoun (3)

1. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research , Sfax, Tunisie
2. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Gabes, Tunisie
3. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Sfax, Tunisie
4. Research Unit: UR17ES36 Genomics of signalopathies in the Service of Medicine, Medical University of Sfax (FMSf), Sfax University, Ministry of Higher education and Scientific Research, Mahdia, Tunisie

Mots clefs : infertilité masculine, environnement, polluants, poussières de bois, oligospermie, azoospermie

Résumé :

Introduction : Les artisans exposés aux poussières de bois travaillant dans les métiers de la menuiserie sont exposés à plusieurs risques sanitaires majeurs puisque les poussières de bois sont la deuxième cause de cancers professionnels reconnus après l'amiante. L'exposition aux poussières de bois peut entraîner des atteintes cutanées, des affections des voies respiratoires (rhinites allergiques et/ou irritatives, sinusites, asthme etc...), des cancers de l'ethmoïde et des sinus par inhalation. Elles sont classées comme "cancérogène reconnu pour l'homme" (catégorie 1). Les effets nocifs des colles (urée-formol) s'ajoutent à ceux des poussières de bois. La corrélation entre l'altération des paramètres spermatiques notamment la numération des spermatozoïdes (azoospermie et oligospermie) et le métier de menuisier est moins bien documentée par rapport à la relation des troubles de la reproduction féminine chez les exposées aux bois dans leur milieux professionnels. **Objectif :** Dans ce travail, nous avons recherché parmi la population d'hommes infertiles consultant pour un conseil génétique les patients manipulant le bois en tant que menuisiers à la recherche de corrélations. **Matériel et Méthodes :** Il s'agit d'une étude retrospective portant sur une série de 185 patients qui ont été inclus parmi les patients consultant pour conseil génétique durant deux années. Le critère d'inclusion était l'altération de la numération des spermatozoïdes à type d'azoospermie ou d'oligospermie. Les données cliniques et biologiques notamment spermiologiques et cytogénétiques ont été colligées et traitées par SPSS à la recherche de corrélations. **Résultats :** La population d'hommes infertiles de notre étude comportait 76 hommes azoospermiques et 109 hommes oligospermiques (de sévère à modéré). Treize patients soit 7% étaient des menuisiers. Parmi eux, 6 étaient azoospermiques (6/76 : 7,89%) et 7 oligospermiques (7/109 : 6,42%). Concernant l'exposition professionnelle de nos patients 39% (n=72) n'y étaient pas exposés alors que 61% (n=113) étaient exposés à divers agents reprotoxiques dont les menuisiers (13/113 : 11,5 %) qui étaient exposés aussi bien aux poussières de bois qu'aux colles, aux peintures et aux solvants. Sur le plan cytogénétique, deux hommes azoospermiques menuisiers étaient porteurs d'une anomalie cytogénétique dont une formule klinefelter 47,XXY et une translocation robertsonienne t(14;21). Aucune anomalie n'a été détectée dans le groupe des menuisiers oligospermiques. **Conclusion :** Si l'effet reprotoxique des solvants et de l'éther de glycol ainsi que celui de la formaldéhyde auxquels les menuisiers sont exposés à cause de la manipulation de la peinture, la colle etc... est bien documenté, l'effet des poussières de bois sur la spermatogenèse à type de reprotoxicité et de génotoxicité n'est pas étudiée bien que les particules de poussière du bois peuvent agir comme vecteurs d'agents génotoxiques sur la spermatogenèse.

#20587 : Le spectre tumoral d'une mutation tunisienne du gène BRCA1: à propos de deux familles

Auteurs :

Hana Fredj (1), rym meddeb (1), sana gabteni (1), hela sassi (1), H raies (2), mediha trabelsi (1), ridha mrad (1)

1. service des Maladies Congénitales et Hérititaires , Hôpital Charles Nicole à Tunis,Tunisie, tunis, Tunisie
2. Département d'Oncologie Médicale, Institut Salah Azaiz, Tunis, tunis, Tunisie

Mots clefs : cancers du sein, prédisposition génétique, BRCA1, mutation tunisienn

Résumé :

Introduction : On estime que 5 à 10% des cancers du sein (CS) s'inscrivent dans le cadre d'une prédisposition génétique. Cette forme héréditaire est hétérogène sur le plan génétique. Deux gènes majeurs sont rapportés : *BRCA1* et *BRCA2*. Ces gènes sont aussi associés à un risque élevé de cancer de l'ovaire, du pancréas, de la prostate et du colon. But du travail : Déterminer le spectre tumoral de la mutation tunisienne du gène *BRCA1* et souligner l'utilité de l'étude génétique dans la prise en charge des personnes à risque à travers deux familles (F1 et F2).

Observations : Les deux familles sont originaires d'une même région (Cap Bon de la Tunisie)

Le cas index (CI) de la famille (F1) est une patiente, adressée à notre consultation d'oncogénétique, à l'âge de 54 ans pour des antécédents (ATCD) personnels et familiaux de cancers. Elle a développé à l'âge de 44 ans un cancer du sein bifocal, grade SBR3 et de type luminal. Elle a été traitée par Chimiothérapie néoadjuvante, une mastectomie avec un curage ganglionnaire et une hormonothérapie. L'évolution a été marquée par l'apparition, neuf ans plus tard, d'un cancer de l'endomètre traité par hystérectomie totale avec annexectomie bilatérale. Actuellement, elle est au stade de carcinose péritonéale traité par Chimiothérapie.

L'enquête génétique a révélé des ATCD familiaux chargés de cancers du côté maternel : un cancer de la peau chez la mère, un cancer de l'endomètre chez la sœur de sa grand-mère et chez la descendance de cette dernière, il y avait une hémopathie maligne, un cancer du poumon et un cancer du colon. Après 8 mois de suivi, la fille de notre cas index, âgée de 27 ans, a développé un cancer du sein droit de type triple négatif.

La consultante de F2 est une femme âgée de 28 ans qui consulte pour des antécédents familiaux de cancers du côté de la branche maternelle: un CS bilatéral de type triple négatif chez la mère à 37 ans et chez la sœur à 18 ans, un cancer de l'ovaire chez la grand-mère, un cancer du cervelet et un cancer de la peau chez deux oncles.

L'étude moléculaire faite chez le CI de F1 et sa fille, ainsi que chez la consultante de F2, sa sœur et sa mère, a montré la présence de la même mutation délétère : c.211 dup A (p.Arg71Lysfs*10) au niveau de l'exon 5 du gène *BRCA1* à l'état hétérozygote.

Conclusion : Le spectre mutationnel du gène *BRCA1* en Tunisie semble homogène avec une mutation fondatrice propre à une région de notre population. Cependant, cette mutation serait associée à un large spectre tumoral. Le dépistage des familles à risque élevé permet de proposer une prise en charge précoce, adaptée et ciblée.

Pièce jointe : famille de BRCA1 final.docx

#19921 : Identification de l'insertion d'éléments mobiles dans des régions géniques à partir de données de séquençage à haut débit d'exome et de génome chez des patients atteints d'anomalies du développement et/ou de déficience intellectuelle

Auteurs :

Philippine Garret (1, 2), Emilie Tisserant (1, 3), Aïcha Boughalem (2), Jean-Marc Costa (2), Detlef Trost (2), Antonio Vitobello (1, 3), Laurence Faivre (1, 4), Christel Thauvin-Robinet (1, 5), Yannis Duffourd (1, 3)

1. UMR1231 GAD Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France

2. Génétique Humaine, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France

3. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

4. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs » – centre de génétique, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

5. Centre de Référence maladies rares « déficiences intellectuelles de cause rare » – centre de génétique, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : Éléments mobiles, données de séquençage à haut-débit, bioinformatique

Résumé :

Les éléments transposables constituent 45% du génome humain. Ces séquences répétées jouent un rôle essentiel dans l'évolution du génome humain et dans sa plasticité. De nos jours, seuls les éléments LINE1 (L1), *Alu* et SVA sont encore mobiles chez l'être humain (~28% du génome humain). On estime qu'environ 0,3% des variations du génome humain sont des insertions d'un de ces 3 types d'éléments mobiles (EMs). Ils peuvent ainsi créer une instabilité génomique à l'origine de pathologies génétiques. En 1988, Kazazian et collaborateurs décrivaient le premier patient atteint d'une maladie génétique, l'hémophilie A, secondaire à l'insertion d'un EM (L1) au sein du gène codant le facteur VIII. Ce mécanisme a ensuite été décrit dans quelques maladies rares, telles que les syndromes BOR (MIM 113650) ou d'Apert (MIM 101200) mais son implication reste peu décrite à l'échelle des 4000 gènes actuellement connus comme impliqués dans les maladies rares. Actuellement, l'essor massif du séquençage à haut-débit d'exome (ES) et de génome (GS) permet maintenant d'identifier de nouveaux cas d'insertion d'EMs au sein de régions géniques à plus grande échelle.

Lors de l'analyse des données d'ES/GS de patients atteints d'anomalies du développement et/ou neurologiques, trois outils d'identification d'EMs (Mobster, Tangram et MELT) sont testés en parallèle sur les génomes de la base de données 1000 Génomes afin de contrôler leur sensibilité et leur spécificité et de déterminer la meilleure combinaison de programmes d'identification des EMs. Cette méthode sera appliquée sur les données d'ES de 3.211 cas index ou apparentés (468 trio et 2.275 solo) et de GS de 511 cas index ou apparentés (139 trio et 112 solo). Les résultats seront filtrés selon les fréquences dans une population contrôle (< 1% dans 1000 Génomes) et dans l'ensemble de la cohorte (< 10 fois), les régions du génome impactées (exons, sites d'épissage...), et le rôle des gènes impactés.

Les premiers résultats obtenus par MELT à partir des données d'ES de 947 individus mettent en évidence 211 200 EMs (77,40 % *Alu*, 22,15 % L1 et 0,45 % SVA). 1017 EMs (50,84 % *Alu* et 49,83 % L1) sont peu fréquents et insérés dans des régions non-introniques de gènes OMIM morbides. L'analyse de 222 trios montre que 96/148 *Alu* et 104/147 L1 sont présents au sein des exons. Ces candidats doivent être analysés en lien avec le phénotype des patients et la ségrégation afin de déterminer si ils ont un rôle dans la pathologie observée.

L'analyse des résultats permettra d'identifier de nouveaux cas d'insertion d'EMs dans des régions géniques d'intérêt et d'en déterminer l'implication dans les maladies génétiques rares des patients étudiés. Ce projet a pour objectif de démontrer l'intérêt d'inclure l'identification des EMs dans les pipelines d'analyse d'ES/GS afin de réduire l'errance diagnostique chez les patients atteints d'anomalies du développement et/ou de déficience intellectuelle.

Pièce jointe : Assises_2020_EMI_Philippine_Garret_vf.doc

#19940 : Performance du séquençage nouvelle génération dans le diagnostic moléculaire de l'ostéogénèse imparfaite**Auteurs :**

sophie monnot (1), geneviève baujat (1, 2), caroline michot (1, 2), julie litzler (1), coralie haudry (1), jean-paul bonnefont (1, 2), julie steffann (3), valerie cormier-daire (1, 2)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, paris, France

2. U1663, Institut Imagine, paris, France

3. genetique, Hopital Necker, paris, France

Mots clefs : osteogenese imparfaite - NGS - fragilite osseuse

Résumé :

L'ostéogénèse 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, 19 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 et MBTPS2 sont responsables d'OI recessive liée à l'X. L'importance d'un diagnostic moléculaire correct pour le conseil génétique et le nombre des gènes potentiellement impliqués, justifient le recours à un panel de reséquençage ciblé des 19 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, 517 patients ont été analysés ce qui a permis l'identification de 368 mutations (71%) : 191 dans le gène COL1A1, 98 dans le gène COL1A2, 15 dans le gène IFITM5 pour les OI dominantes, 3 dans le gène LRP5, 52 mutations dans des gènes responsables d'OI recessives, 3 dans des gènes d'OI récessive liée à l'X et 6 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 compatibilité 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.

#20083 : Un nouveau variant « perte de fonction » du gène TRAPPC2L responsable de TRAPPopathie

Auteurs :

Cécile MIGNON-RAVIX (1), Mario ABAJI (2), Florence RICCARDI (3, 1), Jeremie MORTREUX (3, 1), Brigitte CHABROL (4), Laurent VILLARD (1, 3), Nicole PHILIP (3, 1)

1. , Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France, Marseille, France
2. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, AP-HM, Marseille, France, Marseille, France
3. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, AP-HM, Marseille, France, Marseille, France
4. Département de Neuropédiatrie, Hôpital de la Timone, AP-HM, Marseille, France, Marseille, France

Mots clefs : TRAPPC2L, TRAPPopathies, déficience intellectuelle, TRAPPC9

Résumé :

Les complexes TRAPP (TRANsport Protein Particle) sont des complexes protéiques, très conservés entre les espèces, impliqués dans le transport vésiculaire et l'adressage de protéines. Des variants pathogènes localisés dans des gènes de ces complexes ont récemment été décrits dans plusieurs maladies, ou TRAPPopathies, associant notamment un retard de développement et une déficience intellectuelle.

Dans ce travail, nous présentons un nouveau variant homozygote du gène *TRAPPC2L*, facteur du complexe TRAPP (NM_016209:c.367C > T:p.(Gln123*):Hg19 chr16:88926373C > T), chez un frère et une sœur issus de parents consanguins. Les parents sont chacun porteur du variant à l'état hétérozygote.

Les deux patients présentent un trouble neuro-développemental sévère, proche de celui décrit pour les mutations perte de fonction de *TRAPPC9* (MIM *613192). La grossesse et l'accouchement se sont déroulés normalement. Les enfants ont été adressés en consultation pour hypotonie et troubles des interactions avant l'âge d'un an. Une déficience intellectuelle sévère avec absence de marche et de langage et des stéréotypies manuelles ont ensuite été observées à l'âge de 8 et 11 ans. L'IRM a également mis en évidence un corps calleux fin et une atrophie corticale. Les 2 patients ne présentent pas d'épilepsie et le bilan métabolique, l'analyse en ACPA et le séquençage d'un panel de gènes de déficience intellectuelle n'ont pas révélé d'anomalie.

Notre étude est la première concernant un variant non-sens homozygote du gène *TRAPPC2L*. Seuls des variants faux-sens (homozygote et hétérozygote composite) ont jusqu'ici été identifiés dans ce gène (MIM*610970) chez 3 patients. Ces patients présentent un retard de développement global, une microcéphalie, une dystonie, une tétraplégie, une rhabdomyolyse, une encéphalopathie et une épilepsie (Sacher et al. 2018, Milev et al. 2018).

Les facteurs TRAPPC2L et TRAPPC9 appartiennent au même sous-complexe TRAPP_{II}, contrôlant l'étape de fusion des vésicules avec la membrane cible lors du transport vésiculaire. Notre observation suggère que la perte de fonction de ces 2 gènes pourrait causer des phénotypes similaires mais d'autres études de variations de *TRAPPC2L* seront nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

#20398 : Corrélation génotype-phénotype des variations dominantes du gène *GJB2* dans une cohorte française de surdité isolée et syndromique.**Auteurs :**

Elisa Rubinato (1), Laurence Jonard (1, 2), Ziegler Alban (3), Oriane Mercati (1), Souad Gherbi (1), Smaïl Hadj-Rabia (4), Catherine Blanchet (5), Anne Françoise Roux (6), Sabine Sigaudy (7), Cédric Le Marechal (8, 9), Sandrine Marlin (1, 10)

1. Centre de Référence des Surdités Génétiques, Service de Génétique Clinique, Institut Imagine, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France
2. Service de génétique moléculaire, Groupe hospitalier Necker Enfants malades, AP-HP, Paris, France
3. Département de Biochimie et Génétique, CHU, Angers, France
4. Service de Dermatologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
5. Service d'ORL et Chirurgie Cervico Faciale, CHU, Montpellier, France
6. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU, Montpellier, France
7. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France
8. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHRU, Brest, France
9. Inserm, UMR-1078, Brest, France
10. INSERM, UMR-1163, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : Surdité, *GJB2*, DFNA3, surdité syndromique

Résumé :

Le gène *GJB2* est localisé sur le chromosome 13 (13q12) et il code la connexine 26 (CX26). Les connexines sont des protéines transmembranaires qui s'assemblent en hexamères puis en connexons pour former une jonction intercellulaire (gap junction). Différentes connexines sont exprimées dans la cochlée et dans l'épiderme. Dans la cochlée, la CX26 est présente dans les cellules de support des cellules sensorielles et dans leurs cellules adjacentes, où elles permettent le passage d'ions et de molécules. Dans l'épiderme, la CX26 est présente surtout sur les paumes et les plantes et régule la prolifération et la différenciation des kératinocytes. Les mutations du gène *GJB2*, sont les causes les plus fréquentes de surdités non syndromiques autosomiques récessives (DFNB1) mais elles rendent également compte d'une surdité isolée de perception autosomique dominante (DFNA3) : bilatérale pré- ou post-linguale précoce, moyenne à profonde et souvent évolutive, et de formes syndromiques de surdité avec atteintes cutanées. Quatre formes de surdités syndromiques ont été décrites : le syndrome de kératodermie palmoplantaire-surdité (PPKD), le syndrome de Vohwinkel (VS), le syndrome de Burt-Pumfrey (BPS) et le syndrome kératite (et hystrix-like) ichtyose surdité (KID/HID). Nous présentons une cohorte de 20 familles (11 formes familiales et 9 cas sporadiques) recrutées au sein du réseau national du CRMR « Surdités Génétiques » présentant des variants pathogènes hétérozygotes dominants de *GJB2*. Sur le plan clinique, il s'agissait de 8 cas de surdité isolée, 11 cas de surdités syndromiques et 1 famille dans laquelle co-existent les deux formes cliniques syndromique et isolée. Sur le plan génétique, 13 variations pathogènes ont été détectées : 8 déjà connues et 5 non rapportées dans la littérature. Parmi les 5 variations non rapportées, quatre étaient impliquées dans une surdité isolée DFNA3 et une dans un syndrome KID. Pour les variations déjà connues, nous avons pu confirmer le phénotype décrit précédemment chez 6 cas et dans les 2 restants nous avons observé un phénotype différent. L'étude de cette large cohorte française nous a permis d'enrichir la connaissance des phénotypes associés aux mutations dominantes du gène *GJB2*.

Pièce jointe : Assises - Abstract *GJB2*.docx

#20421 : Les atteintes de la voie de réparation de l'ADN (NER): quand y penser? Description de 161 cas précoces avec atteinte neurologique**Auteurs :**

Sarah Baer (1, 2), Cathy Obringer (3), Jamel Chelly (4, 5), Yline Capri (6), Domitille Gras (7), Geneviève Baujat (8), Têmis Maria Felix (9), Bérénice Doray (10), Ratna Puri (11), Jaime Sanchez Del Pozzo (12), Lina Ramos (13), Lydie Burglen (14), Vincent Laugel (15, 3), Nadège Calmels (4)

1. Génétique et physiopathologie de maladies neurodéveloppementales et épileptogènes, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France, ILLKIRCH, France
2. Service de Pédiatrie 1, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Génétique médicale, INSERM U1112, Institut Génétique Médicale d'Alsace, Faculté de médecine de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Institut Génétique Médical d'Alsace, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Génétique et physiopathologie de maladies neurodéveloppementales et épileptogènes, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France, Illkirch, France
6. Service de Génétique Médicale, Hôpital Robert Debré - AP-HP, Paris, France
7. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré - AP-HP, Paris, France
8. Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Institut Imagine, Paris, France
9. Medical Genetics Service, Hospital de Clinicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brésil
10. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Félix Guyon, Bellepierre, France
11. Institute of Medical Genetics and Genomics, Sir Ganga Ram Hospital, New Delhi, Inde
12. Pediatric Endocrinology and Dysmorphology Unit, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Espagne
13. Pediatric Hospital of Coimbra, Coimbra, Coimbra, Portugal
14. Département de génétique et embryologie médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
15. Service de Pédiatrie 1, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Résumé :

Les déficits de la voie de réparation de l'ADN par excision de nucléotides (Nucleotide Excision Repair ou NER) sont à l'origine de plusieurs maladies de transmission autosomique récessive, de sévérité et de pronostic variables: le syndrome COFS (Cerebro-Oculo-Facio-Squelettique), le syndrome de Cockayne, Xeroderma Pigmentosum, la trichothiodystrophie et certains syndromes chevauchants. Actuellement peu de données existent sur les cas précoces de ces pathologies, notamment pour les périodes anténatales et néonatales. La reconnaissance précoce des premiers symptômes est importante pour améliorer la prise en charge, le suivi ainsi que le conseil génétique pour ces patients et leur famille; nous avons donc cherché à décrire cette population sur le plan clinique, moléculaire et pronostique.

Nous avons collecté les données cliniques et moléculaires des patients décrits dans la littérature ainsi que des patients non publiés diagnostiqués au sein de notre laboratoire. Nous avons recueilli les données des patients ayant présenté un premier signe clinique avant ou à l'âge de 12 mois avec une confirmation moléculaire.

161 patients ont été inclus avec parmi eux 11 cas fœtaux présentant d'autres symptômes qu'un RCIU isolé. Les critères cliniques collectés coïncidaient avec ceux précédemment rapportés et l'arthrogrypose, la microcéphalie, la cataracte et le RCIU étaient les signes cliniques les plus fréquemment retrouvés en anténatal ou dans les premiers mois de vie. La moyenne d'âge au décès était de 69.9 mois et 42% des patients décrits étaient décédés avant l'âge de 3 ans. Le gène *ERCC5/XPG* était le plus fréquemment impliqué dans les cas fœtaux, en contraste avec la prédominance des gènes *ERCC6/CSB* et *ERCC8/CSA* chez les cas postnataux. Ainsi 13% des patients présentaient un variant dans d'autres gènes qu'*ERCC6/CSB* et *ERCC8/CSA* comme *ERCC1/XPF*, *ERCC2/XPD*, *ERCC3/XPB* ou *ERCC5/XPG*. Dans cette cohorte, le sous-type clinique, l'âge de début, la présence d'un RCIU, d'une cataracte ou d'une atteinte rétinienne étaient associés à une réduction significative de l'espérance de vie ($p < 0,05$).

Notre analyse permet de se focaliser sur les symptômes précoces qui pourraient attirer l'attention des cliniciens vers le diagnostic d'atteintes de la voie NER en période anténatal ou néonatal même en l'absence de la totalité des critères précédemment définis.

Pièce jointe : Résumé NER_nc_sb.docx

#20504 : Maladie des exostoses multiples : analyse génotypique et phénotypique d'une cohorte de 134 familles.

Auteurs :

Virginie MAGRY (1), Caroline JANEL (1), Fanny LAFFARGUE (2), Sarah LANGLAIS (1), Valérie PORQUET-BORDES (3), Renaud TOURAINE (4), Sabine SIGAUDY (5), Dominique BONNEAU (6), Jean CHIESA (7), Anne DIEUX-COESLIER (8), Bertrand ISIDOR (9), Didier LACOMBE (10), Dominique MARTIN COIGNARD (11), Jean-Pierre SALLES (12), Julien VAN-GILS (10), Estelle COLIN (6), Bruno DELOBEL (13), Bérénice DORAY (14), Arnaud MOLIN (15), Olivier PATAT (16), Dana TIMBOLSCHI (17), Yves ALEMBIK (18), Geneviève BAUJAT (19), Valérie CORMIER-DAIRE (19), Patrick EDERY (20), Mélanie FRADIN (21), Marion GERARD (15), Pierre Simon JOUK (22), Martine LE MERRER (23), Laurent PASQUIER (21), Chloé QUELIN (21), Cécile ROUZIER (24), Elise SCHAEFER (18), Marie-Pierre ALEX-CORDIER (25), Thibault ARMAND (20), Patricia BLANCHET (26), Virginie BUBIEN (27), Nicolas CHASSAING (16), Viorica CIORNA (28), Marie COURBEBASSE (29), Guillaume COUTURE (16), Martine DOCO-FENZY (30), Bénédicte DEMEER (31), Thomas EDOUARD (32), Salima EL CHEHADEH DJEBBAR (18), Emmanuelle GINGLINGER (33), Philippe JONVEAUX (34), Alice KUSTER (9), Laetitia LAMBERT (35), Valérie LAYET (36), Bruno LEHEUP (35), James LESPINASSE (37), Jean-Marc LIMACHER (38), Mathilde NIZON (9), Julie PLAISANCIE (16), Fabienne PRIEUR (39), Massimiliano ROSSI (25), Julien WIPFF (40), Christine FRANCANNET (2), Isabelle CREVEAUX (1)

1. UF de Génétique Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand, CLERMONT-FERRAND, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, CLERMONT-FERRAND, France
3. service DE pediatrie-endocrinologie-genetique et gynecologie medicale, CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU de SAINT-ETIENNE, SAINT-ETIENNE, France
5. Département de Génétique Médicale, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, MARSEILLE, France
6. Service de Génétique, CHU d'ANGERS, ANGERS, France
7. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU de NIMES, NIMES, France
8. Clinique de Génétique, CHU de LILLE, LILLE, France
9. Service de Génétique Clinique, CHU de Nantes, NANTES, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
11. Laboratoire de génétique médicale et cytogénétique, CH Le Mans, LE MANS, France
12. Service de pédiatrie-endocrinologie-genetique et gynecologie medicale, CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
13. Centre de Génétique Chromosomique, GH de l'Institut Catholique de Lille - Hopital Saint Vincent de Paul, LILLE, France
14. Service de Génétique, CHU de la Réunion, SAINT DENIS, France
15. Service de Génétique, CHU de Caen, CAEN, France
16. Service de Génétique Médicale, CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
17. Unité de médecine néonatale, CHU de Strasbourg - Hôpital Hautepierre, STRASBOURG, France
18. Service de Génétique Médicale, CHU de Strasbourg - Hôpital Hautepierre, STRASBOURG, France
19. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
20. Service de Génétique Clinique, CHU de Lyon HCL - GH Est-Hôpital Femme Mère Enfant, LYON, France
21. Service de Génétique Clinique, CHU de RENNES, RENNES, France
22. Service de Génétique Clinique, CHU de Grenoble, GRENOBLE, France
23. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
24. Service de Génétique Médicale, CHU de NICE, NICE, France
25. Service de Génétique Médicale, CHU de Lyon HCL - GH Est-Hôpital Femme Mère Enfant, LYON, France
26. Département Génétique Médicale, Maladies rares et médecine personnalisée, CHU de Montpellier, MONTPELLIER, France
27. Unité d'Oncogénétique - Laboratoire de génétique moléculaire, CLCC Institut Bergonié, BORDEAUX, France
28. Service de Génétique, CHR de Metz-Thionville, METZ, France
29. Service de Physiologie - Explorations fonctionnelles, HEGP, PARIS, France
30. Service de Génétique, CHU de Reims, REIMS, France
31. Service de génétique clinique et oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, AMIENS, France
32. Service d'Endocrinologie, CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
33. Service de Génétique, GHR Mulhouse Sud Alsace, Mulhouse, France
34. Laboratoire de génétique médicale, CHU de Nancy, NANCY, France
35. Service de Génétique Clinique, CHU de Nancy, NANCY, France
36. Service de Génétique Médicale, CH Le Havre, LE HAVRE, France
37. Génétique médicale et oncogénétique, CHMS Site Chambéry, CHAMBERY, France
38. Service d'oncologie, Hôpital Pasteur - Hôpitaux civils de Colmar, COLMAR, France
39. Service de Génétique, CHU de SAINT-ETIENNE, SAINT-ETIENNE, France
40. Service de Rhumatologie A, CHU Paris Centre - Hôpital Cochin, PARIS, France

Mots clefs : Exostoses multiples, EXT1, EXT2, Ostéochondrome, Chondrosarcome, diagnostic génétique, réarrangement

Résumé :

Introduction : La maladie des exostoses multiples (MEM) est une pathologie autosomique dominante rare à forte pénétrance, caractérisée par le développement de nombreuses excroissances osseuses entourées de cartilage (ostéochondromes) au niveau des os longs. La complication la plus grave est la transformation secondaire d'un ostéochondrome en chondrosarcome. Des mutations des gènes *EXT1* et *EXT2* codant des glycosyltransférases transmembranaires de type II, nécessaires à la synthèse de l'héparane sulfate, sont responsables de la maladie.

Patients et méthodes : L'analyse moléculaire par séquençage Sanger et MLPA de ces 2 gènes a été réalisée au sein du laboratoire de génétique moléculaire du CHU de Clermont-Ferrand dans 134 familles en provenance de tout le territoire français correspondant à 167 individus atteints de forme familiale ou sporadique.

Résultats : Au cours de cette étude, 112 variants différents pathogènes ou probablement pathogènes ont été identifiés, dont 45 n'ayant jamais été rapportés précédemment : 75 (67%) dans *EXT1* et 37 (33%) dans *EXT2*, la majorité étant des variants tronquants (87,5 %). Parmi ces variants, 8 grands réarrangements (7%), dont 7 délétions intragéniques (dont 5 dans *EXT1*) ainsi qu'une large duplication intragénique, ont été mis en évidence. Il s'agit du deuxième cas de duplication identifiée dans les gènes *EXT1* et *EXT2*. Pour les familles restantes, 8 variations de signification indéterminée (VUS) ont été retrouvées (étude de ségrégation en cours) ; et aucun variant n'a été identifié dans les régions analysées chez 15 patients présentant une maladie des exostoses multiples confirmée cliniquement.

Les données cliniques ont pu être obtenues pour 65 patients atteints (36 femmes et 29 hommes âgés de 4 à 69 ans). Les complications les plus fréquentes sont les douleurs, les déformations et les limitations articulaires. La survenue de chondrosarcomes reste un événement rare (7%).

Conclusion : Ce travail permet de compléter le spectre mutationnel et phénotypique associé à la maladie des exostoses multiples. Nous avons obtenu un rendement diagnostique global de 89 % dans une cohorte de 167 patients atteints de MEM et montrons la nécessité de rechercher de grands réarrangements dans *EXT1* et *EXT2* en l'absence de mutation détectée par séquençage.

Pièce jointe : résumé poster exostoses multiples.docx

#20423 : Cohorte française de 41 patients porteurs d'une délétion 2q37

Auteurs :

cindy colson (1), Kara Ranguin (2), nicolas richard (3), SÉVERINE AUDEBERT-BELLANGER (4), MARIE-NOELLE BONNET DUPEYRON (5), celine bonnet (6), patrick callier (7), mélanie Fradin (8), Bertrand ISIDOR (9), Valentine MARQUET (10), Mathilde NIZON (11), JACQUES PUECHBERTY (12), Elise SCHAEFER (13), Anne-Claude TABET (14), Annick Toutain (15), KÉVIN UGUEN (4), Marie VINCENT (16), Julien VAN-GILS (17), marion gérard (1), Nicolas Gruchy (18)

1. génétique clinique, CHU Caen, caen, France
2. Génétique, CHU Caen, caen, France
3. génétique moléculaire, CHU caen, caen, France
4. génétique, CHU Brest, Brest, France
5. génétique, CH Valence, Valence, France
6. génétique, CHRU Nancy, Nacy, France
7. génétique, CHU Dijon, dijon, France
8. génétique, CHU rennes, rennes, France
9. génétique, CHU Nantes, Nantes, France
10. génétique, CHU Limoges, Limoges, France
11. génétique, CHU nantes, Nantes, France
12. génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
13. génétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
14. génétique, Hopital Robert Debres, Paris, France
15. génétique, CHU Tours, Tours, France
16. génétique, CHU Nantes, nantes, France
17. génétique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
18. cytogénétique, CHU caen, caen, France

Mots clefs : délétion 2q37, phénotype, cytogénétique

Résumé :

Le locus 2q37 est l'une des régions subtélomériques les plus fréquemment délétées, pouvant être à l'origine du syndrome microdélétionnel 2q37, aussi appelé syndrome d'Ostéodystrophie Héréditaire d'Albright-like (AHO-like) ou syndrome retard mental-brachydactylie (BDMR) (MIM 60043), d'expression clinique variable. Suite à un appel à collaboration nationale, 41 patients porteurs d'une délétion 2q37 isolée ont été recensés. Tous les diagnostics ont été posés par l'analyse chromosomique sur puces à ADN, et confirmés par FISH avec une sonde locus-spécifique 2q37. Les délétions sont de taille variable, de 14kb intragénique *DIS3L2* à 9.6 Mb. La majorité des cas est non héritée, de probable survenue *de novo*. Cette cohorte, pédiatrique et adulte, permet de confirmer la variabilité phénotypique et d'affiner le phénotype post-natal (1 seul cas prénatal). Les deux signes principaux mais inconstants sont les difficultés légères à modérées des apprentissages associées à des troubles comportementaux notamment des difficultés attentionnelles, et la brachydactylie. La morphologie faciale typique précédemment rapportée est fréquente également dans notre cohorte. L'obésité (6/26), le surpoids (3/26), la petite taille (2/29) sont absents dans plus de 70% des cas. L'épilepsie est décrite dans 15% des cas. Les malformations sont le plus souvent cardiaques et rénales, de bon pronostic. D'autres particularités cliniques ont été soulignées (notamment malformations cérébrales non spécifiques, troubles du transit, trouble du sommeil, troubles squelettiques et hyperlaxité). Il s'agit de la plus grosse cohorte de patients non publiés (28/41) décrite à ce jour.

#19749 : Diversité des gènes impliqués dans la surdité chez les familles algériennes identifiés par séquençage haut débit

Auteurs :

Malika DAHMANI (1), Malika DAHMANI (2), Crystel Bonnet (3), Fatima Ammar Khodja (1), Djamel Djennaoui (4), Sofiane Ouhab (5), Christine Petit (3, 6)

1. Laboratoire de Génétique, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediène, Alger, Algérie
2. Laboratoire de Génétique, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediène, Commune EL HARRACH, Algérie
3. Institut de la vision, INSERM/UPMC, Paris, France
4. Service d'otorhinolaryngologie (ORL), Hôpital Mustapha Pacha , Alger, Algérie
5. Service d'otorhinolaryngologie (ORL), Hôpital de kouba, Alger, Algérie
6. Institut Pasteur, Unité de génétique et physiologie de l'audition, Paris, France

Mots clefs : Algérie, surdité, hétérogénéité génétique, séquençage haut débit

Résumé :

Déficit sensoriel le plus fréquent, la surdité affecte un enfant sur 1000 à la naissance. La moitié des cas est d'origine génétique. Les surdités génétiques sont majoritairement non syndromiques et se transmettent selon un mode autosomique récessif dans 80 % des cas. L'identification des mutations via les méthodes traditionnelles est difficile vu la grande hétérogénéité génétique de la surdité non syndromique autosomique récessive (SNSAR). Le séquençage haut débit d'exomes totaux (Whole exome sequencing) a permis d'améliorer efficacement l'identification de l'étiologie moléculaire de la surdité ainsi que la découverte de nouveaux gènes.

Le but de ce travail est d'identifier les mutations impliquées dans la SNSAR chez les familles algériennes.

Une cohorte de 19 familles algériennes non apparentées atteintes de SNSAR et négatives pour les mutations de *GJB2* (le gène le plus fréquemment impliqué dans la SNSAR dans les pays méditerranéens) a été analysée par séquençage haut débit.

Des mutations ont été identifiées chez tous les patients analysés, soit à l'état homozygote (dix-sept familles), soit à l'état hétérozygote composite (une famille). Nous avons trouvé des mutations homozygotes dans les gènes *TMC1* (3 familles), *OTOF* et *SLC26A4* (2 familles chacun), *LRTOMT*, *LHFPL5*, *MYO15A*, *OTOA*, *PTPRQ* (1 famille par gène) et deux mutations hétérozygotes dans le gène *ADGRV1* (1 famille). Nous avons pu également identifier un nouveau gène (*EPS8L2*) responsable de surdité progressive chez l'homme. Il est à noter que la moitié des mutations trouvées n'avaient jamais été rapportées au paravant.

Ces résultats mettent en évidence l'hétérogénéité génétique de la SNSAR chez les familles algériennes.

Pièce jointe : Résumé assises.docx

#20532 : Le diagnostic cytogénétique prénatal des anomalies chromosomiques : expérience tunisienne entre 2012 et 2017

Auteurs :

Ons Laribi (1), Sarra Dimassi (2), Soumaya Mougou Zerelli (2), Ali Saad (3)

1. Service de psychiatrie Monastir, Centre Hospitalo Universitaire Fattouma Bourguiba Monastir, Monastir, Tunisie
2. Service de cytogénétique et de Biologie de la Reproduction , Centre Hospitalo Universitaire Farhat Hached Sousse, Sousse, Tunisie
3. Service de cytogénétique et de Biologie de la Reproduction , Centre Hospitalo Universitaire Farhat Hached Sousse, Monastir, Tunisie

Mots clefs : Diagnostic prénatal, Anomalies chromosomiques, Caryotype, cytogénétique, Tunisie

Résumé :

Le diagnostic prénatal cytogénétique vise à diagnostiquer les anomalies chromosomiques pouvant être invalidantes pour le fœtus permettant ainsi aux couples s'ils le souhaitent une interruption médicale de la grossesse. Les anomalies chromosomiques peuvent être mises en évidence par plusieurs méthodes cytogénétiques dont le caryotype prénatal. Cette technique permet une étude morphologique globale du matériel héréditaire. Si les anomalies chromosomiques surviennent le plus souvent de novo, les indications du diagnostic prénatal, un acte invasif, nécessite la présence d'un risque évalué par les moyens de dépistage.

L'objectif de notre travail est la description des anomalies chromosomiques diagnostiquées ainsi que les variables associées à des telles pathologies en période prénatale entre 2012 et 2017 dans la région du centre tunisien et la proposition d'un plan d'action adapté à la pratique quotidienne du diagnostic prénatal en Tunisie.

Il s'agit d'une étude transversale portant sur l'ensemble des anomalies chromosomiques diagnostiquées en période prénatale au sein du laboratoire de Cytogénétique et de Biologie de Reproduction du CHU Farhat Hached Sousse sur une période de six ans. Nous avons inclus les anomalies chromosomiques mises en évidence à la suite de prélèvements de liquide amniotique reçus pour diagnostic prénatal.

L'amniocentèse était la technique de choix pour la demande de diagnostic prénatal cytogénétique avec un taux de 98%. Le taux d'anomalies chromosomiques mises en évidence était de 6% sur les 6 ans. Les anomalies de nombre des chromosomes ont représenté la majeure partie des anomalies diagnostiquées avec un taux de 87,7% contre 12,2% pour les anomalies de structure. La Trisomie 21 a représenté l'anomalie la plus répandue: 47,9% de la totalité des anomalies. Les dysgonosomies ont représenté 9,6% des aberrations chromosomiques avec un nombre croissant de cas entre 2012 et 2017. L'âge maternel moyen était de 36 ans $\pm$ 5,9 avec un terme gestationnel moyen lors du prélèvement estimé à 19SA $\pm$ 4,2. Les indications de diagnostic prénatal étaient variables selon le type d'anomalie. En effet, nous avons remarqué la persistance de l'âge maternel isolé comme indication dans 20,1% des cas. Les signes d'appel échographiques étaient la première indication d'amniocentèse pour les cas d'anomalies chromosomiques (49,7%) suivi par le dosage des marqueurs sériques élevés (29,2%).

Au terme de ce travail nous proposons une stratégie nationale pluridisciplinaire de prise en charge des femmes à risque. En effet, nous avons noté dans notre étude que le secteur public de santé, draine 88,8% de la prise en charge des femmes chez qui un diagnostic prénatal est indiqué. Cette condition implique l'urgence de la création de centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal des anomalies génétiques en Tunisie.

Pièce jointe : abstract_ons_201019.docx

#20524 : Syndrome Oro-facio-digital type 4: A propos d'une nouvelle observation marocaine

Auteurs :

KENZA DAFIR (1), NISRINE ABOUSSAIR (2), Fatimazzahra Bouzid (1, 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 : Oro-facio-digital type 4 , Mohr-Majewski

Résumé :

Le syndrome oro-facio-digital type 4 ou Syndrome de Mohr-Majewski (OMIM: 258860) est une maladie génétique autosomique récessive rare, avec une prévalence $<1 / 1\,000\,000$. C'est une ciliopathie définie par deux critères de diagnostic: le signe de la molaire dentaire et un ou plusieurs des symptômes suivants: (1) hamartome de la langue et / ou frénule supplémentaire et / ou entaille de la lèvre supérieure; (2) polydactylie mésoaxiale d'une ou plusieurs mains ou pieds; (3) hamartome hypothalamique.

Son étiologie génétique reste largement inconnue, bien que des mutations des gènes TMEM216 et C5orf42 responsables des syndromes de Joubert (JBS2) et de Meckel-Gruber, ont été identifiées.

Nous présentons le cas d'un nouveau-né de sexe masculin, à j 3 de vie, consanguin, 3^{ème} d'une fratrie de 3 (les 2 premiers enfants sont décédés dans un tableau polymalformatif durant le premier mois de vie). A l'examen clinique le nouveau-né présente une dysmorphie faciale incluant une implantation basse des oreilles, une fente labio-palatine, une langue lobulée, des dents néonatales, avec des freins lingual et gingivaux associés à une hexadactylie bilatérale post-axiale. Les explorations paracliniques ont mis en évidence une agénésie du corps calleux et du vermis, une malformation cardiaque congénitale (CIA), une polykystose rénale et un aspect de fibrose hépatique. Les données cliniques et paracliniques nous ont permis d'évoquer en premier lieu chez notre patient le diagnostic d'un syndrome oro-facio-digital type IV.

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.

#19958 : Les défauts multiples de l’empreinte sont des évènements rares dans les Pseudohypoparathyroïdies de type 1b (PHP1b) sporadiques

Auteurs :

Sacha WEBER (1), Arnaud MOLIN (1), Nathalie SACCO (1), Cindy COLSON (1), Hervé MITTRE (1), Matthieu DECAMP (1), Nadia COUDRAY (1), Marie-Laure KOTTLER (1), Nicolas GRUCHY (1), Nicolas RICHARD (1)

1. Normandie Univ, UNICAEN, CHU de Caen Normandie, Department of Genetics, Reference Center for Rare Diseases of Calcium and Phosphorus Metabolism, EA7450 BioTARGen, 14000 Caen, France, CHU de Caen Normandie, Caen, France

Mots clefs : Pseudohypoparathyroïdie de type 1b, GNAS, MLID, MLPA, syndrome de Beckwith-Wiedemann, WGS

Résumé :

Introduction : La pseudohypoparathyroïdie de type 1b (PHP1b) est causée par un défaut épigénétique d’origine maternelle dans le cluster du locus *GNAS*. La PHP1b peut présenter un mode de transmission autosomique dominant (AD-PH1b) ou se présenter de façon sporadique (spor-PHP1b). Notre équipe a précédemment mis en évidence que 18% des spor-PHP1b peuvent être expliqués par une disomie uniparentale paternelle du chromosome 20 (upd(20)pat). Des récentes études ont noté la présence de défauts multiples de l’empreinte (MLID) au niveau de certains DMRs (région différenciellement méthylée) chez des patients avec des pathologies dues à des anomalies de l’empreinte. Dans la littérature, certains patients présentant une spor-PHP1b sont décrits avec une association d’autres défauts de l’empreinte, notamment le syndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW).

Matériels et Méthodes : Une cohorte de 48 patients présentant une spor-PHP1b a été analysée à la recherche de défauts multiples de l’empreinte par une technique (MLI-MLPA) utilisant une amplification multiplex de sondes dépendant d’une ligation (MLPA) associée à une analyse spécifique de la méthylation (Multiple Locus Imprinting). Elle permet de détecter des variations du nombre de copie et d’étudier la méthylation sur certains DMRs. Le kit utilisé permet d’analyser des DMRs sur différents chromosomes : chr6 (*PLAGL1*), chr7, (*GRB10*, *MEST*), chr11 (*H19*, *KCNQ1OT1*), chr14 (*MEG3*), chr15 (*SNRPN*), chr19 (*PEG3*) et chr20 (*NESP55*, *NESPAS*, *XL*, et *A/B*). Une CGH-SNP array et une analyse par séquençage du génome entier (WGS) a été réalisée pour un patient.

Résultats : Comme attendue, tous les patients montrent un profil de méthylation paternel typique d’une spor-PHP1b. On retrouve une perte complète de méthylation de *A/B*-DMR, une méthylation négligeable de *AS*- et *XL*-DMRs et un gain complet de méthylation de *NESP55*-DMR. Pour 1 patient qui présentait cliniquement un SBW, la MLI-MLPA a montré des pertes quasi complètes de méthylation de *KCNQ1OT1*- et *PLAGL1*-DMRs et un gain partiel de méthylation de *H19*-DMR qui nous permet de mettre en évidence une MLID et confirme le diagnostic de PHP1b associée avec un SBW. La glycémie néo-natale n’a pas été rapportée chez ce patient, ce qui aurait pu permettre de révéler un diabète néonatal transitoire mellitus, causé par une perte de méthylation de *PLAG1*-DMR. De plus, 8 patients présentaient une perte partielle de méthylation d’un unique DMR, en plus des anomalies typiques de spor-PHP1b. Ces résultats ont encore besoin d’être confirmés par une autre analyse. Nous avons également réalisé une analyse par WGS et une CGH-SNP array pour le patient présentant une MLID. Ces résultats sont en cours d’analyse.

Conclusion : En ne tenant compte que de l’unique patient avec MLID, la fréquence globale de MLID est de 2,1% dans notre cohorte spor-PHP1b. Cette étude fournit des éléments en faveur d’une recherche de MLID par MLI-MLPA pour les patients présentant une spor-PHP1b associée à d’autres éléments cliniques.

Pièce jointe : Abstract FR MLI-MLPA.docx

#20392 : syndrome polymalformatif au CHU-Casablanca : séries de cas.**Auteurs :**

sarah berrada (1), hossam hilal elidrisi (2), Jabran Ghizlan (1), nadia Serbati (1), fatem zahera Outattaleb (1), Hind Dehbi (1, 2)

1. service de génétique médical , CHU Casablanca, casablanca, Maroc

2. laboratoire de Pathologie Cellulaire et moléculaire. Faculté de médecine et pharmacie Casablanca., Faculté de Médecine et de pharmacie Casablanca, casablanca, Maroc

Mots clefs : syndrome polymalformatif, diagnostic, conseil génétique.

Résumé :

Les syndromes polymalformatifs sont définis par l'association d'au moins 2 malformations, morphologique et viscérale. C'est un groupes extrêmement hétérogènes, de sévérité variable, allons de malformation mineur, aux malformations majeurs. Dans plus de 50% des cas le diagnostic étiologique reste non déterminé, certaines malformations sont accidentelles, et ne se reproduise pas, d'autre, au contraire, ont un caractère génétique dont il faut préciser la nature pour évaluer le risque de récidence.

Notre travail est une étude rétrospective de patients suivis en consultation de génétique médicale du CHU Casablanca, durant 6 ans, de 2014 à 2019. Le but de notre étude est de présenter le profil clinique et étiologique des syndromes poly malformatifs (trisomie 21 exclu).

Nous avons recensés 103 cas de syndrome polymalformatif, de présentation et de degré de sévérité clinique variable. Dans 27,7% des cas, un diagnostic a été confirmée, dans 32,2% des cas un diagnostic est suspecté sur le plan clinique des investigations paracliniques sont en cours, et dans 54,44% des cas le diagnostic étiologique reste non déterminé.

Les syndromes poly malformatifs présentent une diversité clinique et étiologique. Au Maroc, on n'est confrontés à de nombreux problèmes pour la détermination du diagnostic dû au manque de moyen technique et financière. Un conseil génétique reste primordial pour ses familles en plus d'un diagnostic autopsique chez les patients décèdes ont un grand intérêt de guider le diagnostic pour les fratries à venir.

Mots clés : syndrome polymalformatif, diagnostic, conseil génétique.

Pièce jointe : sarah berrada SP.docx

#20118 : Evolution des troubles du rythme de sécrétion de la mélatonine chez des adultes porteurs d'un syndrome de Smith Magenis**Auteurs :**

Alice Poisson (1), Alain Nicolas (2), Véronique Raverot (3), Fleur Raulet (1), Arnaud Anastasi (4), Claude Gronfier (5), Caroline Demily (1)

1. GéoPsy, CH le Vinatier, Lyon, France
2. GéoPsy, CH le Vinatier, LYON, France
3. Service d'hormonologie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Unité Revol, CH le Vinatier, Lyon, France
5. Waking Team, Inserm UMRS 1028, CNRS UMR 5292, Inserm, Lyon, France

Mots clefs : Syndrome de Smith Magenis, mélatonine, rythme circadien

Résumé :

Le syndrome de Smith-Magenis (SMS) est lié à une microdélétion 17p11.2 (90%) ou à une mutation ponctuelle du gène *RAI1* (10%). Il entraîne des troubles comportementaux et du sommeil majeurs. Sa fréquence est estimée à 1/25000. Les études pointent une chronologie anormale du cycle nycthémeral dans le SMS avec des horaires d'endormissement et de réveil précoces et un besoin de siestes multiples dans la journée. Les troubles du sommeil seraient liés à une perturbation générale du rythme veille-sommeil avec une inversion de la sécrétion de la mélatonine. La sécrétion diurne de la mélatonine est contemporaine d'une somnolence ; son absence en début de nuit raccourcit et fragmente le sommeil. Chez les enfants, on conseille la prise de bêtabloquants le matin pour bloquer la sécrétion anormale de mélatonine et la prise de mélatonine le soir. **Il n'y a pas de recommandation thérapeutique pour les adultes. Le traitement est souvent poursuivi par défaut.** Pourtant dans notre expérience les troubles du sommeil semblent s'améliorer spontanément chez les adultes SMS. On peut imaginer que cela est lié à une meilleure synchronisation 'sociale', ou que la glande pinéale ne sécrète plus de mélatonine.

Notre objectif est de vérifier la persistance du rythme anormal de sécrétion de la mélatonine chez les adultes SMS et de préciser les recommandations thérapeutiques dans cette population.

10 sujets SMS (4 hommes, 6 femmes) de 18 à 48 ans ont été recrutés au CRMV GéoPsy. 1 seul était porteur d'une mutation *RAI1*. Pour chacun, un dosage horaire de mélatonine plasmatique a été réalisé durant 24h. 7 sujets ont eu une polysomnographie. Les évaluations ont été réalisées sans mélatonine, bêtabloquant, benzodiazépine ou psychostimulant.

Les polysomnographies retrouvaient un sommeil globalement correct : durée moyenne: 7h51, heure de lever moyenne : 7h29. L'efficacité de sommeil était relativement bonne (78%, norme : 85%). Le dosage horaire de mélatonine révèle que 8/10 patients présentaient un décalage de phase dans le rythme de sécrétion de la mélatonine avec un pic de mélatonine en début d'après-midi. Le patient porteur de la mutation *RAI1* ne gardait qu'une sécrétion résiduelle de mélatonine sans pic et une patiente avait un rythme conservé.

Ces résultats révèlent confirment l'aspect d'inversion du cycle nycthémeral de la mélatonine dans le SMS. Celui-ci a été mis en évidence initialement chez des enfants et notre étude révèle sa persistance chez les adultes. Enfin, elle montre que malgré la persistance d'une inversion biologique du rythme de sécrétion de la mélatonine, le rythme veille sommeil peut s'améliorer. L'amélioration constatée pourrait être liée à une meilleure synchronisation sociale chez les adultes. Cette observation suggère d'une part qu'une prise en charge et un environnement structurés sont bénéfiques sur les troubles du sommeil du SMS et d'autre part qu'il faut réévaluer régulièrement le traitement des troubles du sommeil des adultes SMS.

#20082 : Apport des méthodes reposant sur l'information d'identité par descendance dans les algorithmes d'imputation ?

Auteurs :

Anne-Louise Leutenegger (1), Anthony Herzig (2), Marina Ciullo (3)

1. UMR1141, Inserm & Université de Paris, paris, France
2. UMR1078, Inserm, UBO & EFS, Brest, France
3. Institute of Genetics and Biophysics A. Buzzati-Traverso, CNR, Naples, Italie

Mots clefs : données de séquençage, imputation, population isolée, identité-par-descendance

Résumé :

Dans le contexte des méthodes d'imputation en population (par exemple Impute2), les avantages intuitifs de l'inclusion d'haplotypes spécifiques à la population étudiée dans le panel de référence ont maintenant été largement démontrés. Dans certains cas, comme dans l'étude de populations isolées, il peut être possible d'inclure des membres du panel de référence étroitement liés aux individus cibles; donnant ainsi une précision d'imputation exceptionnellement élevée.

Ces résultats suggèrent l'importance de correspondances entre les haplotypes cibles et de référence, en d'autres termes, les régions susceptibles d'être partagées identique par descendance (IBD), dont la détection est généralement la base des méthodes d'imputation basées sur les généalogies. Toutefois, dans la plupart des cas, les informations sur le partage de l'IBD ne seront pas suffisantes pour imputer les génotypes manquants sur l'ensemble du génome, car des régions partagées identifiables ne couvriront pas l'ensemble des chromosomes.

Cela a conduit à l'idée de combiner les méthodes en population et celles basées sur l'IBD. Bien qu'une intégration complète des deux systèmes n'ait pas encore été démontrée, deux logiciels récents offrant des approches en deux étapes ont été proposés: Ped-Pop et Kinpute. Ces méthodes visent à améliorer de manière significative l'exactitude des génotypes imputés par des méthodes en population en ajoutant l'information sur le partage du génome IBD. Ici, nous passons en revue ces deux logiciels et effectuons des tests sur des simulations basées sur la structure d'isolats génétiques du Cilento dans le sud de l'Italie. Cela nous permet de déterminer et de fournir des exemples de scénarios spécifiques dans lesquels de telles méthodes peuvent être le plus ou le moins efficaces.

#20502 : Identification d'un variant hétérozygote du gène MYH10 associé à un syndrome de Baraitser-Winter cerebro-cranio-facial avec un phénotype à prédominance oculaire**Auteurs :**

Sophie Scheidecker (1), Ariane Kröll-Hermi (2), Séverine Bär (3), Jean Muller (4), Véronique Geoffroy (1), Elise Schaefer (2), Stéphane Kremer (5), Christelle Etard (6), Corinne Stoetzel (1), Uwe Straehle (6), Sylvie Friant (3), Hélène Dollfus (7, 8)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Department of Molecular and Cellular Genetics, UMR7156, Centre National de Recherche Scientifique, Université de Strasbourg, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
4. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Université de Strasbourg, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
5. Service de Neuroradiologie/Imagerie 2, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
6. Institut für Toxikologie und Genetik, Campus Nord, Karlsruher Institut für Technologie, Eggenstein Leopoldshafen, Allemagne
7. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Université de Strasbourg, Strasbourg, France, Strasbourg, France
8. Centre de Référence pour les affections rares en génétique ophtalmologique, CARGO, Filière SENSGENE, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France, STRASBOURG, France

Mots clefs : MYH10 gène, actinopathies, colobome, ptosis

Résumé :

Contexte : Les syndromes associant des anomalies du développement oculaire et de la région périoculaire sont rares et sont décrits dans quelques entités associant principalement un colobome et un ptosis, telles que le syndrome de Noonan ou le syndrome de Baraitser-Winter cerebro-fronto-facial (BWCF).

Méthodes : Nous rapportons l'observation d'une famille dans laquelle une mère et ses deux filles présentent des malformations du globe oculaire incluant un colobome, un ptosis et des caractéristiques cranio-faciales évoquant un syndrome de BWCF. Les patientes n'ont par ailleurs pas d'atteinte neurologique et les IRM cérébrales réalisées ne révèlent pas de malformation classiquement décrite dans ce syndrome. En l'absence de détection de variant dans les gènes d'actine connus dans le syndrome de BWCF, *ACTB* et *ACTG1*, un séquençage d'exome a été réalisé et nous a permis d'identifier, chez les 3 patientes, un nouveau variant du gène *MYH10*, codant pour l'isoforme B de la myosine II non musculaire. Afin de valider le rôle de *MYH10* des études fonctionnelles sur des fibroblastes cutanés du cas index et un modèle de poisson zèbre injecté avec un morpholino *myh10* ont été utilisés.

Résultats : Le variant faux-sens du gène *MYH10* (NM_005964.3: c.4412G > C ; p.Arg1471Pro), présent à l'état hétérozygote, est localisé au niveau de la queue de la chaîne lourde de la myosine, domaine requis pour l'assemblage du filament de myosine. La présence de ce variant pourrait ainsi déstabiliser la protéine mutée et affecter le cytosquelette d'actine-myosine. Dans les fibroblastes cutanés de patient, nous avons en effet observé une diminution et un défaut de localisation de la protéine MYH10 ainsi qu'un réseau d'actine anormal. Chez le poisson zèbre, la diminution de l'expression de *myh10* entraîne des anomalies oculaires et affecte le développement musculaire.

Conclusions : Nous rapportons les individus d'une famille porteurs d'un variant hétérozygote dans le gène *MYH10*, codant pour la chaîne lourde de la myosine II B non musculaire, et présentant un phénotype évoquant un syndrome de BWCF. Les études fonctionnelles ont permis de montrer un défaut du réseau actine-myosine en présence de la protéine MYH10 mutée et un rôle important de MYH10 dans le développement oculaire, tout comme les deux gènes connus du syndrome de BWCF, responsables d'un phénotype d'actinopathie.

Pièce jointe : Abstract_MYH10_Assises_2020.docx

#20407 : Déficience intellectuelle associée à un trouble du spectre autistique par haploinsuffisance de CSDE1 et dérégulation de la voie Wnt/ β -caténine**Auteurs :**

Elma EL KHOURI (1), Jamal GHOUIMID (2), Damien HAYE (3), Loïc DREVILLON (4), Fabienne GIULIANO (3), Audrey BRIAND-SULEAU (5), Pierre DE LA GRANGE (6), Valérie NAU (1), Thierry GAILLON (7), Thierry BIENVENU (5), Hélène JACQUEMIN SABLON (8), Serge AMSELEM (1), Irina GIURGEA (9)

1. Département de Génétique médicale, Sorbonne Université, INSERM, UMR_S 933, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU Lille, Lille, France
3. Service de génétique médicale, Centre hospitalo-universitaire de Nice, Nice, France
4. Département de génétique, Groupe Hospitalier Henri Mondor, Créteil, France
5. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital COCHIN, Paris, France
6. GenoSplice technology, iPEPS - ICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Département de génétique, Groupe Hospitalier Henri Mondor, Paris, France
8. Bordeaux Research In Translational Oncology, BaRITon, INSERM UMR1053, Bordeaux, France
9. Département de Génétique médicale, Sorbonne Université, INSERM, UMR_S 933, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, trouble du spectre autistique, CSDE1, Wnt/ β -caténine

Résumé :

La grande majorité des patients présentant une déficience intellectuelle (DI) ont également des troubles du spectre autistique. La coexistence de ces deux troubles s'explique par leur origine moléculaire commune. En effectuant un séquençage d'exome chez un individu présentant une DI sévère, des troubles du spectre autistique et des caractéristiques morphologiques spécifiques (sourcils bien dessinés, cils longs, fissures palpébrales courtes, épicanthus, nez court avec une racine nasale large, macrostomie avec des lèvres épaisses et petites dents espacées) nous avons identifié une mutation non-sens c.362C > A (p.Ser121*) *de novo* dans le gène *CSDE1* (cold shock domain-containing E1 - alias UNR). *CSDE1* est une protéine de liaison à l'ARN (RBP) avec une haute affinité pour les ARNm contenant des motifs de liaison riches en A/G. Elle régule l'expression des gènes cibles en favorisant ou en entravant à différentes étapes la traduction des transcrits (en agissant sur l'initiation, l'allongement ou la fin de la transcription). Très récemment, des mutations du gène *CSDE1* ont été identifiées chez des patients atteints d'autisme dans une étude qui montre le rôle de la protéine *CSDE1* dans le développement neuronal dans un modèle murin et chez la drosophile (Guo et al., 2019). Dans notre étude, nous avons exploré le rôle de *CSDE1* dans des fibroblastes du patient porteur de cette mutation. En étudiant le transcrit et la protéine *CSDE1* correspondante, nous montrons que la mutation c.362C > A (p.Ser121*) conduit à une haplo-insuffisance. Par une approche transcriptionnelle par RNA-seq et fonctionnelle, nous démontrons que l'haploinsuffisance de *CSDE1* entraîne une augmentation significative de l'expression des modulateurs de la voie Wnt/ β -caténine - une voie fondamentale pour les processus neurodéveloppementaux et post-neurodéveloppementaux. De plus, nous mettons en évidence l'implication de *CSDE1* dans la régulation de l'adhésion cellulaire, processus important pour le guidage axonal et la formation des synapses. En effet, la diminution de l'expression de *CSDE1* induit une dérégulation de l'expression des éléments impliqués dans l'adhésion cellulaire (e.g. *CDH2*, *PAI1*, *EFNB2*) et par conséquent, une augmentation significative de l'adhésion des fibroblastes du patient à la matrice extracellulaire. Notre étude, qui rapporte la première description phénotypique détaillée d'un patient porteur d'une mutation de *CSDE1* permettant d'orienter le diagnostic clinique, ouvre de nouvelles perspectives sur le rôle cellulaire de *CSDE1* et établit pour la première fois les effets de la perte de cette protéine dans la pathogenèse des déficits cognitifs chez l'homme.

#20279 : CRB2, une protéine de jonction serrée impliquée dans l'hydrocéphalie associée à une atrésie de l'aqueduc de Sylvius.

Auteurs :

Aude Tessier (1), Sophie Thomas (2), Nathalie Roux (1), Elodie Lunel (1), Leila Hakkakian (1), Pascale Saugier Veber (3), Annie Laquerriere (4), Amal Ichkou (1), Nadia Elkhartoufi (1), Christine Bole Freysot (5), Patrick Nitschke (6), Tania Attie Bitach (1, 2), Ferechte Razavi (1)

1. Embryo-foetopathologie, Hopital Necker, Paris, France
2. UMR 1163, Institut Imagine, Paris, France
3. Génétique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
4. Service d'anatomo-pathologie, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Plateforme Génomique, Institut Imagine, Paris, France
6. Plateforme Bioinformatique, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : atrésie de l'aqueduc de Sylvius, hydrocéphalie, CRB2, jonction cellulaire, polarité cellulaire

Résumé :

Les causes d'hydrocéphalie fœtale sont multiples. Parmi les causes obstructives impliquant l'aqueduc de Sylvius, l'examen neuropathologique permet de distinguer les sténoses (réduction de calibre) des atrésies (oblitérations avec formations en rosettes). Les atrésies de l'aqueduc de Sylvius (AAS) sont classiquement considérées comme secondaires à un évènement hémorragique ou inflammatoire. Le gène *MPDZ* a été identifié comme le premier gène responsable de l'AAS, de transmission autosomique récessive. Récemment, des mutations du gène *CRB2* ont été rapportées chez des patients avec hydrocéphalie et une anomalie de l'aqueduc de Sylvius décrite comme une sténose à l'imagerie, +/- syndrome néphrotique cortico-résistant.

Nous rapportons ici l'observation d'un fœtus de 25 semaines présentant une hydrocéphalie majeure, sans autre malformation associée. A l'examen neuropathologique, nous avons observé une dilatation biventriculaire associée à une AAS avec nombreuses rosettes épendymaires également présentes au niveau du V4 et du canal médullaire. Notre analyse par séquençage d'exome a exclu *MPDZ* et a identifié deux variations hétérozygotes composites dans le gène *CRB2*, une variation perte de fonction et une variation faux sens déjà rapportée comme pathogène.

Le gène *CRB2* code pour une protéine transmembranaire participant à la formation des jonctions serrées au niveau cérébral. Elle appartient au complexe CRUMBS et interagit avec d'autres protéines de jonction serrée comme ZO-1 et MPDZ, mais également avec le complexe PAR, impliqué dans le maintien de la polarité cellulaire et des jonctions adhérentes. Chez les modèles murins avec inactivation ciblée de *CRB2* dans le télencéphale ou la rétine, la localisation des protéines de jonctions serrées (ZO-1) et adhérentes (N-Cadhérine) semble dépendante de *CRB2*. Afin de mieux comprendre le mécanisme de l'AAS chez l'homme, nous avons réalisé des analyses immunohistochimiques marquant les différentes protéines de jonctions. Nos résultats préliminaires orientent vers une conservation des protéines de jonctions serrées et adhérentes suggérant un mécanisme différent telle une anomalie de la polarité cellulaire ou de la transition épithelio-mésenchymateuse.

Cette observation fœtale ouvre le champ des hydrocéphalies fœtales aux formes primitives des AAS liées aux mutations des gènes de jonctions épendymaires comme le *CRB2* et *MPDZ*. En cas d'interruption médicale de grossesse, l'examen neuropathologique est indispensable pour en préciser la cause et orienter l'étude génétique, mais aussi appréhender les mécanismes physiopathogéniques sous-jacents.

Pièce jointe : 2020 Abstract assises CRB2 Aude Tessier - final.docx

#20500 : Délétion 10q26, une pathologie neurocognitive rare : A propos d'un nouveau cas

Auteurs :

Sana Skouri (1), Syrine Hizem (1), Yasmina El Aribi (1), Houweyda Jilani (1), Imen Rejeb (1), Amel Zerzeri (1), Meriam Mkadmini (1), Bouthaina Bouraoui (2), Asma Hamdi (3), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La Marsa, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Mongi Slim, La Marsa, Tunis, Tunisie
3. Pédiatre de libre pratique, Bardo, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Délétion 10q26, CGH array, retard du développement, microcéphalie

Résumé :

Introduction

Le syndrome de délétion 10q26 (OMIM #609625) est une anomalie chromosomique rare rapportée dans environ 110 cas. Il se caractérise par une hétérogénéité clinique comprenant principalement une dysmorphie faciale, un retard de croissance, une microcéphalie, une déficience intellectuelle et des malformations cardiaques et urogénitales.

La délétion est le plus souvent terminale et *de novo*. Bien que cette région contienne un grand nombre de gènes candidats pour les anomalies décrites dans ce syndrome, la corrélation génotype-phénotype n'est bien établie.

Objectif

Dans ce travail, nous rapportons l'observation d'un nouveau cas de délétion 10q26 découverte au caryotype et caractérisée par CGH array (hybridation génomique comparative) chez une patiente présentant un retard du développement, tout en établissant une corrélation génotype-phénotype.

Observation

Il s'agit d'une patiente adressée à l'âge de 14 mois pour retard psychomoteur. L'enquête génétique était négative. L'interrogatoire retrouve la notion d'hypotonie néonatale avec acquisition de la position assise à 9 mois et absence de l'acquisition de la position debout.

L'examen physique a objectivé une microcéphalie à -3.4 DS avec une taille à +1.7 DS et un poids à la moyenne. La patiente présentait également une dysmorphie faciale: un front bombé avec une rétraction bitemporale, un hypertélorisme, un strabisme gauche, une lèvre supérieure fine, un nez aplati avec une arête large et des oreilles décollées et mal-ourlées. Sur le plan neurologique, elle avait une hypotonie axiale et un syndrome pyramidal prédominant aux membres inférieurs.

L'IRM cérébrale a mis en évidence des anomalies de la ligne médiane avec un aspect grêle du tronc cérébral une hypoplasie des lobules vermiens inférieurs et un corps calleux fin. L'échographie cardiaque était normale.

Le caryotype sanguin a montré la présence d'une délétion terminale du bras long d'un chromosome 10 en 10q26.1 (46,XX,der(10)del(10)(q26.1)). L'étude des caryotypes des parents a montré que l'anomalie était *de novo*. L'étude par CGH array a confirmé l'anomalie qui était une délétion hétérozygote terminale de la région 10q26.12q26.3 d'une taille de 13Mb. Cette délétion a emporté 61 gènes OMIM dont 11 gènes morbides tels que *FGFR2*, *WDR11* et *EBF3*.

Le gène *FGFR2* (OMIM #17693) est impliqué dans la dysmorphie faciale et les anomalies des extrémités. Le gène *EBF3* (OMIM #617330) est associé au syndrome hypotonie ataxie et retard du développement à une dysmorphie faciale et au strabisme. L'haplo-insuffisance de ces gènes pourrait expliquer le tableau clinique de notre patiente.

Conclusion

La réalisation d'une CGH chez cette patiente même devant une anomalie chromosomique visualisée par un caryotype standard a permis de caractériser avec précision les différents gènes impliqués dans la délétion et ainsi de fournir un conseil génétique adapté et une prise en charge orientée.

#20041 : Prévalence des anévrismes intracrâniens détectés dans la Polykystose Rénale Autosomique Dominante (PKRAD) chez 2449 patients issus de la cohorte Genkyst.

Auteurs :

Siriane LEFEVRE (1), Marie Pierre AUDREZET (2), Jean Michel HALIMI (3), Cécile VIGNEAU (4), Eric RENAUDINEAU (5), Franck BRIDOUX (6), Jean François AUGUSTO (7), Christophe CHARASSE (8), Pascale SIOHAN (9), Claude FEREC (2), Yannick LE MEUR (10), Emilie CORNEC-LE GALL (10)

1. Néphrologie et Transplantation rénale, CHRU BREST, Brest, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU BREST, BREST, France
3. service de Néphrologie, CHU Tours, TOURS, France
4. service de Néphrologie, CHRU RENNES, RENNES, France
5. service de Néphrologie, Hôpital Général, Saint Malo, France
6. service de Néphrologie, CHRU POITIERS, POITIERS, France
7. service de Néphrologie, CHU Angers, ANGERS, France
8. service de Néphrologie, CH ST BRIEUC, SAINT BRIEUC, France
9. service de Néphrologie, CH de Cornouaille, QUIMPER, France
10. Néphrologie, CHRU BREST, BREST, France

Mots clefs : ADPKD, Anévrismes,

Résumé :

Introduction

Les anévrismes intracrâniens (AIC) représentent la complication la plus sévère de la PKRAD et sont 5 fois plus fréquents que dans la population générale. A l'heure actuelle, malgré une agrégation de cas au sein de familles, aucun facteur génétique de prédisposition n'a été identifié. Notre objectif est de réévaluer la prévalence des AIC détectés dans une cohorte en population, d'analyser l'influence de la mutation causale et des facteurs associés à leur survenue.

Matériels et Méthodes

Tous les patients adultes atteints de PKRAD issus de 26 centres de la cohorte GENKYST ont été inclus du 1^{er} janvier 2010 au 4 juin 2019. Les données cliniques au moment de l'AIC et les caractéristiques de ces derniers ont été recueillies dans les différents centres. L'analyse des gènes *PKD1* et *PKD2* était réalisée par séquençage Sanger ou par séquençage ciblé de nouvelle génération.

Résultats

2449 patients issus de 1810 familles ont été inclus (1185 hommes, âge médian de 55.1 ans). L'analyse génétique était complète pour 2336 patients. Un antécédent d'AIC était présent chez 114 patients (4.65%, 0.95 IC : 3,56-5,74) (107 familles). L'âge médian au premier diagnostic était de 48 ans (21-78), comparable dans les 3 groupes génétiques. L'âge médian de rupture était de 43.5 ans (21-69, similaire dans les 3 groupes). Aucun cas d'AIC n'était décrit pour les patients avec une mutation de *GANABou DNAJB11*. Les AIC étaient majoritairement sacculaires, antérieurs, de petite taille et multiples dans 20% des cas. La probabilité cumulée de diagnostic d'un AIC était respectivement de 3.9%, 6.2% et 8.1% à 50, 60 et 70 ans. La probabilité cumulée de diagnostic d'un AIC rompu était, elle, inférieure à 4%. La probabilité cumulée de diagnostic d'un AIC était plus importante dans le groupe *PKD1* par rapport au groupe *PKD2* (5% contre 2% à 50 ans, 8.1% contre 3.7% à 60 ans, $p=0.001$) sans influence du type ou de la localisation de la mutation le long du gène *PKD1*. La probabilité cumulée de diagnostic d'un AIC rompu était également supérieure dans le groupe *PKD1* ($p=0.008$). Les facteurs indépendants associés à la survenue d'un AIC étaient : l'hypertension artérielle précoce, le génotype *PKD1* et l'histoire familiale positive. Le facteur de risque principal était l'histoire familiale quelque soit le degré de parenté. Ce risque était maximal au premier degré (OR 7.1, IC95% : 4.5-11.2).

Conclusion

La prévalence des AIC dans notre cohorte est de 4.65%, plus faible que dans les précédentes études mais évaluée au sein d'une cohorte en population avec application des recommandations actuelles de dépistage. Le gène *PKD1* semble jouer un rôle dans la survenue d'un AIC rompu ou non, mais nous ne retrouvons pas d'influence du type ou de la localisation de la mutation. Le facteur de risque majeur est l'existence d'un antécédent familial. Ce risque est maximal au premier degré suggérant le rôle de gènes modificateurs qui restent à identifier.

#20252 : Génotypage du cytochrome 2A6 dans l'ictère néonatal intense et/ou prolongé

Auteurs :

Clara BARTHELEMY (1), Frédéric PARISOT (2), Philippe Labrune (3), François PETIT (2)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Bécclère, CLAMART, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
3. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme hépatique, service de pédiatrie, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France

Mots clefs : CYP2A6, ictère néonatal, bilirubine, qPCR

Résumé :

Introduction :

Plus de 60% des nouveaux nés ont une hyperbilirubinémie transitoire durant leurs premiers jours de vie. Dans 10% des cas, l'hyperbilirubinémie est anormalement intense et/ou prolongée et peut entraîner de graves séquelles neurologiques.

Chez les nouveaux nés, le changement brutal de la source d'oxygénation (passage du placenta à l'atmosphère) cause un stress oxydatif et une hémolyse provoquant une hyperbilirubinémie. Cet ictère physiologique est aussi causé par l'activité réduite d'UGT1A1 à la naissance, mais la physiopathologie des ictères prolongés reste pour le moment mal connue.

Dans le cycle d'oxydo-réduction de la bilirubine, plusieurs études ont montré que le cytochrome 2A6 (CYP2A6) jouait le rôle d'oxydant de la bilirubine non conjuguée en biliverdine.

Le but de ce travail était de rechercher plusieurs variants connus dans CYP2A6 chez des patients présentant un ictère néonatal prolongé et/ou particulièrement intense afin d'établir un lien éventuel entre la présence d'un ou plusieurs de ces variants et les ictères prolongés.

Matériels et méthodes :

61 nouveaux-nés présentant un ictère intense (> à 250 $\mu\text{mol/L}$) et/ou prolongé (> 14 jours) sans anomalie dans le gène *UGT1A1* ont été inclus.

Le promoteur du gène *CYP2A6* a été analysé par séquençage Sanger. Les autres variants connus ont été analysés par PCR nichée puis PCR quantitative.

Résultats :

Le séquençage du promoteur n'a pas mis en évidence de variants pouvant induire une diminution de l'expression du gène *CYP2A6*. Seuls quelques polymorphismes déjà référencés ont été retrouvés chez certains patients.

2 patients sur 61 étaient hétérozygotes pour le variant CYP2A6*12. Les variants CYP2A6*20, *23, *24 *31 et *34 n'ont été retrouvés chez aucun patient.

Discussion :

L'absence de variants pathogènes dans le promoteur permet d'écarter l'hypothèse d'une anomalie de transcription du gène *CYP2A6* à l'origine de l'ictère intense et/ou prolongé chez ces nouveaux-nés.

Aucun des variants recherchés semble pouvoir expliquer l'ictère néonatal retrouvé chez les patients étudiés. Il faut cependant prendre en compte le fait que la fréquence de certains variants diffère en fonction des ethnies, ce qui pourrait expliquer l'absence des variants CYP2A6*24, *31 et *34 chez les patients étudiés.

Cette étude devra être poursuivie par la recherche d'autres variants connus dans CYP2A6 pour pouvoir conclure sur un lien de causalité ou non. En effet, la variabilité inter-individuelle des variants de CYP2A6 peut impacter le métabolisme de ses substrats de manière différente comme le montre les nombreuses études sur la nicotine ou la coumadine.

#20220 : ADK, une cause inattendue d'anémie macrocytaire constitutionnelle de l'adulte

Auteurs :

Lamisse MANSOUR-HENDILI (1), Anne-Claire BOSCHAT (2), Sylvia SANQUER (2), Christine GAMEIRO (3), Abdelrazak AISSAT (1), Stéphane MOUTEREAU (4), Cécile AUBRUN (5), Isabelle ROSA-HEZODE (6), Benoît FUNALOT (1), Frédéric GALACTEROS (7)

1. Département de génétique, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France
2. Laboratoire de biochimie métabolomique et protéomique, Hôpital Necker enfants malades, PARIS, France
3. Laboratoire de génétique, Hôpital Henri Mondor - APHP, CRETEIL, France
4. Laboratoire de Biochimie, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France
5. Unité des maladies génétiques du globule rouge, Hôpital Henri Mondor - APHP, CRETEIL, France
6. Service d'hépatogastroentérologie, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, CRETEIL, France
7. Centre de référence des syndromes drépanocytaires majeurs, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France

Mots clefs : anémie, macrocytaire, diagnostic, génétique, SHD

Résumé :

Introduction : *ADK* code pour l'adénosine kinase, enzyme clé du métabolisme des bases puriques et de la méthionine, qui transforme l'adénosine en AMP. Elle est présente dans de nombreux tissus dont le tissu hématopoïétique. Des mutations bialléliques du gène *ADK* sont décrites dans le syndrome d'hyperméthioninémie par déficit en adénosine kinase, lequel associe de manière constante un retard du développement neurologique important et une dysmorphie. D'autres signes comme l'ictère néonatal, l'atteinte hépatique, la petite taille ou l'anémie mégaloblastique sont au second plan.

Matériel et méthodes : L'ADN a été extrait du sang EDTA par technique Flexigene (Qiagen) et de bulbes capillaires sur automate Maxwell RSC (Promega). Le séquençage haut débit (SHD) a utilisé une capture exomique (Medexome, Roche) suivie d'un séquençage sur Nextseq500 (Illumina). L'analyse bioinformatique a été réalisée via un pipeline BWA/GATK « best practices » et l'interprétation a été faite à l'aide du logiciel IVA (Ingenuity variant analyzer, Qiagen) sur la base d'une liste de gènes codant pour le protéome du globule rouge.

Résultats : Mme C., 62 ans, présente depuis plus de 30 ans une anémie macrocytaire multi-explorée, non étiquetée, avec surcharge en fer et sans histoire familiale d'anémie. L'analyse par SHD nous a permis d'identifier une variation dans le gène *ADK* à l'état homozygote : c.1012C>T (p.Arg338Cys ; gnomAD : MAF 0,0024%, pas d'homozygotes ; CADD score 26,3). Elle a été confirmée par séquençage Sanger sur le sang et les bulbes capillaires. Cette variation est située dans la partie C-terminale de l'enzyme, à proximité immédiate d'un des sites de fixation de l'ATP. La réanalyse du dossier clinique et l'interrogatoire *a posteriori* de la patiente ont permis de relever des antécédents de difficultés d'apprentissage (arrêt précoce de scolarité) et de noter la présence d'une stéatose hépatique non alcoolique, d'un diabète de type 2, d'une HTA, d'un syndrome sec, de lithiases urinaires et d'une surdité neurosensorielle, sans dysmorphie faciale ni microcéphalie. Les dosages de nucléotides intra-érythrocytaires chez la patiente ont montré une augmentation d'adénosine associée à une diminution d'AMP et d'ADP, en faveur d'une perte de fonction de l'enzyme.

Conclusions : Les mutations d'*ADK* pourraient constituer une nouvelle cause d'anémie macrocytaire constitutionnelle de l'adulte, de transmission autosomique récessive, secondaire à la diminution d'AMP et d'ATP érythrocytaires. Il est possible que la stéatose hépatique, le retard des acquisitions et la surdité neurosensorielle soient également liées au déficit en *ADK* chez la patiente. Ce cas constitue la première description de mutations perte de fonction du gène *ADK* sans atteinte neurologique importante ni dysmorphie faciale.

#20169 : Identification par NGS d'une isodisomie paternelle du chromosome 2 à l'origine d'une surdité bilatérale profonde chez un jeune patient**Auteurs :**

Corinne BAUDOIN (1), Christel VACHE (2), david BAUX (2), Mélody MOCLYN (2), Valérie FAUGERE (2), Valérie PELLETIER (3), Hélène DOLLFUS (3), Michel KOENIG (2), Anne-Françoise ROUX (2)

1. laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France
3. Service de Génétique Médicale, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : Isodisomie, DUP, NGS, surdité, diagnostic

Résumé :

Nous décrivons ici le cas d'un jeune patient présentant une surdité neurosensorielle bilatérale profonde pour qui nous avons réalisé un diagnostic moléculaire par NGS sur un panel de 74 gènes impliqués dans les surdités non syndromiques.

L'analyse des résultats a mis en évidence l'altération d'épissage c.519-1G>A à l'état homozygote ou hémizygote dans le gène *OTOF*, gène impliqué dans les surdités de transmission récessive.

La ségrégation familiale de cette variation pathogène a ensuite été effectuée sur l'ADN des parents et a révélé que seul le père était porteur hétérozygote de l'allèle muté, suggérant la présence chez son fils d'une grande délétion en *trans*. La présence d'un tel grand réarrangement a cependant pu être exclue par l'analyse chez le patient des profondeurs de lecture NGS relatives obtenues à partir des données de l'ensemble du run.

Ces résultats pouvant être compatibles avec une isodisomie paternelle, nous avons étudié 6 marqueurs microsatellites au locus *DFNB9 (OTOF)* et ainsi pu confirmer chez le patient une absence d'allèle maternel et la présence de deux copies de l'allèle paternel.

Afin de connaître l'étendue de cette disomie du chromosome 2, nous avons ensuite analysé les résultats NGS des neuf gènes de notre panel positionnés sur ce chromosome, ce qui a permis de mettre en évidence une homozygotie de tous les SNVs identifiés dans chacun des gènes et de confirmer l'absence d'allèle maternel par perte d'hétérozygotie.

L'ensemble des résultats obtenus lors de l'analyse de cette famille a permis d'identifier chez le patient la présence d'une isodisomie paternelle du chromosome 2 couvrant au moins la région comprise entre 2p23.3 (gène *OTOF*) et 2q37.1 (gène *SAG*), soit 85% du chromosome.

A ce jour, de très rares cas d'isodisomie uniparentale (DUP) du chromosome 2 ont été rapportés. L'étude présentée ici est, à notre connaissance, le premier exemple de DUP du chromosome 2 entraînant l'apparition d'une déficience auditive profonde.

Pièce jointe : Abstract CoCo-AF-officiel-111019.docx

#20166 : Diagnostic moléculaire des surdités génétiques : bilan de 4 années

Auteurs :

Méloody MOCLYN (1), Christel VACHE (2), David BAUX (3), Corinne BAUDOUIN (3), Catherine BLANCHET (4), Marjolaine WILLEMS (4), Valérie FAUGERE (1), Renaud TOURAINE (5), Bertrand ISIDOR (6), Delphine DUPIN-DEGUINE (7), Laetitia LAMBERT (8), Michel KOENIG (3, 9), Anne Françoise ROUX (3, 9)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU, MONTPELLIER, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU Montpellier, Montpellier, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU, MONTPELLIER, France
4. ophtalmologie, CHU, Montpellier, France
5. génétique médicale, CHU, Saint-Etienne, France
6. génétique médicale, CHU, Nantes, France
7. génétique médicale, CHU, Toulouse, France
8. Neonatalogie, CHU, Nancy, France
9. génétique de maladies rares (LGMR) EA7402, Université, MONTPELLIER, France

Mots clefs : surdités, diagnostic moléculaire, NGS, Syndrome de Usher

Résumé :

Avec une étiologie génétique prédominante, la surdité de l'enfant est le déficit neurosensoriel le plus fréquent, et est dans la grande majorité des cas non-syndromique (NSHL). Dans ce cadre, notre laboratoire a mis en place un diagnostic moléculaire exhaustif des NSHL comportant une analyse initiale au locus *DFNB1* (gène *GJB2* et délétions *GJB6*), suivi pour les cas non résolus d'une analyse NGS sur un panel de 74 gènes NSHL et 10 gènes Usher. L'utilisation de deux pipelines couplés à la base de données interne permettent de prioriser les variants d'intérêt qui sont ensuite validés par séquençage Sanger chez le cas index et recherchés chez les apparentés si possible. Dans certains cas, cette stratégie d'étude doit être complétée par la mise en place d'analyses spécifiques afin d'évaluer l'effet d'un variant sur le mécanisme d'épissage (minigènes) ou valider la présence d'un grand réarrangement (CGH ou QMPSF). Enfin, pour les patients présentant une surdité légère à moyenne sans génotype morbide identifié, une analyse visuelle des données NGS dans IGV (Integrative Genome Viewer) est également réalisée afin de détecter d'éventuelles variations nucléotidiques du gène *STRC* masquées par la présence de son pseudogène.

Nous présentons ici le bilan de ce diagnostic moléculaire établi sur une période de quatre ans pendant lesquels 756 patients atteints de surdité non-syndromique ont été analysés. L'approche développée dans notre laboratoire nous a ainsi permis de déterminer l'origine de la surdité pour 47,5% des patients analysés, parmi lesquels 17,9% sont dus à des altérations au locus *DFNB1*. Dans les autres génotypes identifiés, on note l'implication majoritaire du gène *STRC* (8%), puis on retrouve les gènes *TECTA* (4,4%), *MYO7A* (4,4%), *MYO15A* (3,6%), *USH2A* (3,6%) et *OTOF* (3,1%). Par ailleurs, pour 15,2% des patients de notre cohorte chez qui une transmission autosomique récessive était suspectée, une seule mutation a été identifiée. Ces cas peuvent être le reflet de la fréquence d'hétérozygotie de la population comme dans le cas du gène *GJB2* ou mettre en exergue la suspicion d'un évènement mutationnel encore inconnu comme dans le cas du gène *SLC26A4*.

Ce bilan, réalisé à partir des données moléculaires d'une grande cohorte, confirme l'intérêt d'effectuer l'étude rapide et peu coûteuse du locus *DFNB1* avant d'engager une analyse NGS. Le séquençage des gènes de notre panel NSHL s'avère être efficace et les analyses complémentaires ont démontré toute leur importance notamment pour l'étude du gène *STRC*. L'ajout des gènes Usher nous permet de pouvoir établir très tôt un diagnostic de syndrome de Usher, ou d'alerter sur le possible développement d'une rétinopathie pigmentaire permettant une meilleure prise en charge des patients et procurer un conseil génétique approprié. Cette analyse ne se fait toutefois qu'après l'accord des cliniciens et des patients, et le rendu de résultat peut se faire en deux temps.

#20577 : Mutations des gènes IDH1 et IDH2 chez des patients tunisiens atteints de LAM; fréquence, impact clinique et pronostic**Auteurs :**

Amal MECHAAL (1), Héla SASSI (2), Samia MENIF (1), Ines SAFRA (1)

1. Laboratoire d'Hématologie Moléculaire et Cellulaire, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Mutations d'IDH, Pronostic, Stratification, Traitement

Résumé :

Contexte: La leucémie aiguë myéloïde (LAM) est une hémopathie maligne hétérogène. Plusieurs marqueurs moléculaires ont été décrits pour aider à classer les patients atteints de LAM en groupes à risque. Les gènes métaboliques de l'isocitrate déshydrogénase 1 et 2 (IDH1 / 2) codent pour des enzymes catalysant la décarboxylation oxydante de l'isocitrate en α -cétooglutarate. Les mutations d'IDH peuvent être impliquées dans le pronostic et dans le protocole thérapeutique de LAM.

Méthodes: Dans la présente étude, 211 patients AML nouvellement diagnostiqués ont été analysés, diagnostiqués pour les mutations IDH1 / 2 et leurs associations avec les marqueurs cliniques, moléculaires, le pronostic et la réponse au traitement. Les gènes ont été criblés par PCR et séquençage direct.

Résultats: La prévalence des mutations IDH1 / 2 était de 20% et 15%, respectivement. Dans IDH1, nous avons décrit R132 et rs11554137, 2 autres mutations. Dans IDH2, nous avons décrit le R140Q et 4 nouvelles mutations.

Les mutations des gènes IDH1/2 étaient plus fréquentes chez les hommes adultes plus jeunes.

Ces mutations étaient associées à un caryotype normal, aux sous-types de FAB M0 et M5. De plus, les mutations IDH1/2 étaient associées à un risque élevé d'échec du traitement de consolidation. Les mutations IDH1 étaient associées à une progression plus courte et à une courte survie en comparaison avec IDH1 non muté. IDH1 / 2 en association avec FLT3-ITD semblait affecter la survie.

IDH1mut en association avec IDH2mut a été associé à un risque élevé de décès.

Conclusion: Dans l'ensemble, 35% des patients atteints de LAM *de novo* ont subi une altération des gènes IDH. Une association significative entre le pronostic et la réponse au traitement a été observée. Les IDH peuvent avoir un impact défavorable sur la leucémogénèse chez les jeunes adultes.

#20216 : Extension du spectre mutationnel et phénotypique de l'encéphalopathie développementale et épileptique par mutation du gène KCNB1**Auteurs :**

Claire Bar (1, 2), Giulia Barcia (3, 2), Mélanie Jennesson (4), Gwenael Le Guyader (5, 6), Amy Schneider (7), Cyril Mignot (8, 9), Gaétan Lesca (10, 11), Martino Montomoli (12), Boris Keren (8), Arnold Munnich (3, 13), Diane Doummar (14), Alexandra Afenjar (15), Isabelle Marey (8), Marion Gerard (16), Patrick Berquin (17), David Genevieve (18), Anne De Saint Martin (19), Salima El Chehadeh (20), Jamel Chelly (20), Anne-Sophie Lebre (21), Lynette Sadleir (22), Renzo Guerrini (12), Ingrid Scheffer (7), Edor Kabashi (23), Rima Nababout (24, 23)

1. Reference centre for rare epilepsies, Department of Pediatric Neurology, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Laboratory of Translational Research For Neurological Disorders, INSERM UMR 1163, Imagine Institute, Paris, France
3. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Department of Pediatrics, American Memorial Hospital, Reims, France
5. Service de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
6. EA3808 - NEUVACOD Unité neurovasculaire et troubles cognitifs, Université de Poitiers, Pôle Biologie Santé, Poitiers, France
7. Epilepsy Research Centre, Department of Medicine, Austin Health, The University of Melbourne, Heidelberg, Victoria, Australie
8. Département de Genetique et de Cytogenetique; Centre de Reference Deficience Intellectuelle de Causes Rares; GRC UPMC «Deficience Intellectuelle et Autisme», APHP, Hôpital Pitie-Salpetriere, Paris, France
9. INSERM, U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Universites, UPMC Univ Paris 06 UMR S 1127, Institut du Cerveau et de la Moelle epiniere, paris, France
10. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
11. Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, UMR CNRS 5292, Université Claude Bernard Lyon 1, Bron, France
12. Pediatric Neurology, Neurogenetics and Neurobiology Unit and Laboratories, Neuroscience Department, A Meyer Children's Hospital, University of Florence, Florence, Italie
13. INSERM U1163, Imagine Institute, paris, France
14. Department of Pediatric Neurology, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, Paris, France
15. Département de génétique et embryologie médicale, Sorbonne Université, GRC n°19, pathologies Congénitales du Cervelet-LeucoDystrophies, Centre de Référence déficiences intellectuelles de causes rares, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, Paris, France
16. Clinical genetics, CHU Côte de Nacre, Caen, France
17. Service de Neurologie Pédiatrie, CHU Amiens-Picardie, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France
18. Service de génétique clinique et du Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, Centre de référence maladies rares anomalies du développement, CHU Montpellier, Montpellier, France
19. Department of Pediatric Neurology, Strasbourg University Hospital, Strasbourg, France
20. Service de génétique médicale, Strasbourg University Hospital, Strasbourg, France
21. Pôle de Biologie, Service de Génétique, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, Reims, France
22. Department of Paediatrics and Child Health, University of Otago, Wellington, Nouvelle-Zélande
23. Laboratory of Translational Research For Neurological Disorders, INSERM UMR 1163, Imagine Institute, paris, France
24. Reference centre for rare epilepsies, Department of Pediatric Neurology, Hôpital Necker-Enfants Malades, paris, France

Mots clefs : encéphalopathie développementale et épileptique ; KCNB1 ; canalopathie

Résumé :

Introduction : Les encéphalopathies développementales et épileptiques (EDE) désignent un groupe hétérogène d'épilepsies avec troubles neurodéveloppementaux au pronostic défavorable. En 2014, des mutations dans le gène *KCNB1* ont été rapportées chez des patients avec une EDE précoce. *KCNB1* code pour la sous unité alpha d'un canal potassique voltage dépendant (Kv2.1), largement exprimé dans le cerveau et essentiel dans la régulation de l'excitabilité neuronale. L'objectif de ce travail était de décrire le spectre mutationnel et phénotypique de l'EDE avec mutation du gène *KCNB1* à travers l'étude d'une cohorte internationale de nouveaux patients et d'une revue de la littérature.

Méthodes : Une revue exhaustive de la littérature entre 2014 et 2019 a permis d'identifier 37 patients porteurs de 29 mutations dans *KCNB1*. Grâce au centre de référence des épilepsies rares et de ses collaborations et avec l'aide de l'association des familles KCNB1 France, nous avons réuni une cohorte de 27 nouveaux patients porteurs de 18 mutations non rapportées dans la littérature. Nous présentons les données génétiques, cliniques, EEG et IRM de ces 64 patients.

Résultats : 46/47 variants étaient situés dans l'exon 2. Ces variants incluaient 37 faux-sens (79%), 7 non-sens (15%) et 3 décalages du cadre de lecture (6%). Dix variants étaient récurrents, retrouvés chez 2 patients ou plus. La majorité des variants sont survenus de novo et étaient localisés au niveau du capteur de tension (S4) ou dans le pore de la protéine (S5-S6), identifiés comme de potentiels « hot-spots » mutationnels. Le premier variant transmis a été rapporté chez une patiente de notre cohorte (p.R583X). Tous les patients présentaient un trouble du neurodéveloppement, à une sévérité variable. La marche autonome était acquise chez 72% à un âge médian de 24 mois. Les patients âgés de plus de 3 ans présentaient tous un trouble sévère du langage oral, 57% n'ayant pas développé de langage. Des troubles du comportement à type d'agitation, d'hyperactivité ou de troubles du spectre autistique étaient rapportés chez 76% des patients. Quatre-vingt-cinq pour cent des patients ont développé une épilepsie avec des types de crises ou de syndromes variables. Les variants tronquants dans le domaine C-terminal étaient associés à un phénotype épileptique moins sévère.

Conclusion : Cette étude a permis d'étendre le spectre mutationnel et clinique des patients porteurs d'une mutation du gène *KCNB1* et de renforcer la place de ce gène dans les EDE. La poursuite des études fonctionnelles et le développement de modèles animaux sont en cours pour améliorer la compréhension des mécanismes sous-jacents.

#20491 : Nouveaux cas de variabilité clinique intra-familiale associée au gène NARS2

Auteurs :

Samira Ait-El-Mkadem Saadi (1, 2), Cécile Rouzier (3, 2), Annabelle Chaussenot (1, 2), Konstantina Fragaki (3, 2), Sylvie Bannwarth (1, 2), Elsa Kaphan (4), Gaëlle Augé (1, 5), 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
4. Service de neurologie, AP-HM, hôpital La Timone, Marseille, France
5. , Université Côte d'Azur, CNRS, INSERM, IRCAN, Nice, France

Mots clefs : Variabilité phénotypique, Maladies mitochondriales, NGS, Exome, aaRS, NARS2

Résumé :

Les maladies mitochondriales, caractérisées par un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire, forment un groupe de pathologies très hétérogène cliniquement et génétiquement, avec un double contrôle par l'ADN mitochondrial (ADNmt) et nucléaire. Leur diagnostic demeure un vrai défi. Ici, nous rapportons le cas d'un patient, né d'une union non consanguine, adressé à notre centre de référence suite à une suspicion de maladie mitochondriale. Il a présenté dans l'enfance une surdité de perception diagnostiquée à 2 ans puis des troubles cognitifs et des troubles du comportement évoquant un syndrome frontal ou des troubles du spectre autistique. Il a également présenté une ataxie, une neuropathie axonale et une épilepsie généralisée à l'âge adulte. Il a 2 sœurs ayant présenté également une surdité dans la petite enfance dont une associée à des céphalées chroniques et des troubles de la personnalité. L'analyse de la biopsie musculaire chez ce patient a montré de nombreuses COX-négatives. L'analyse de la chaîne respiratoire a révélé un déficit de l'activité des complexes I et IV et un défaut d'assemblage des complexes I, IV et V. Le NGS de l'ADNmt n'a pas permis l'identification d'un variant pathogène. Nous avons ensuite réalisé un séquençage d'exome qui s'est avéré négatif suite à une analyse basée sur un modèle récessif. La réanalyse plus large des données orientée par le phénotype a permis l'identification d'un variant hétérozygote c.822G > C dans le gène *NARS2*. Ce gène fait partie des aaRS (aminoacyl-ARNt synthétases) mitochondriales, enzymes clés de la traduction mitochondriale qui catalysent l'aminoacylation des ARNt par les acides aminés correspondants. Des mutations dans ces gènes ont été associées à un large spectre de phénotypes cliniques. *NARS2* code pour la asparaginyI-tRNA synthétase mitochondriale dont les mutations ont été associées à des formes récessives de surdité non syndromique ou d'atteintes neuromusculaires sévères avec des troubles cognitifs. Le variant c.822G > C (r.690_822del) a déjà été rapporté comme pathogène à l'état homozygote chez des patients avec un déficit multiple de la chaîne respiratoire, comme observé chez notre patient et une grande variabilité phénotypique intra-familiale. L'analyse de la couverture du gène *NARS2* suivie du séquençage Sanger de l'exon 9 (mal couvert par NGS) a permis l'identification d'un variant c.922-21_922-19delCTT rare (1x dans gnomAD) hétérozygote *en trans* avec le c.822G > C. Les deux sœurs du patient sont également porteuses de ces mêmes variants. Des analyses fonctionnelles sont nécessaires pour caractériser ce second variant et mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués et la pléiotropie liée au gène *NARS2* et les gènes *aaRS* en général. Notre étude confirme la complexité des maladies mitochondriales et montre l'intérêt d'une réanalyse des données NGS dans le cas d'un exome négatif et la nécessité des études fonctionnelles pour la validation des variants de signification inconnue

Pièce jointe : Abstract-assises 2020-SAS.docx

#20035 : Transmission d'un chromosome dicentrique suivi de cassures post-zygotiques : un mécanisme rare à l'origine de délétions terminales

Auteurs :

Caroline Foucart (1), Valérie Vequeau-Goua (2), Frédéric Bilan (1), Brigitte Gilbert-Dussardier (1), Gwenael Le Guyader (1), Matthieu Egloff (1)

1. Service de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Résumé :

La caractérisation moléculaire de remaniements initialement interprétés au caryotype comme des duplications terminales a permis de mettre en évidence qu'il s'agissait régulièrement de duplications inversées avec délétion terminales (InvDupDel). Le cas le plus connu est celui de l'InvDupDel 8p, mais ces recombinants ont été décrits pour la plupart des chromosomes. Trois mécanismes ont été proposés pour expliquer la survenue des InvDupDel. Ils impliquent tous la formation d'un chromosome dicentrique qui se casse lors d'une division cellulaire. Il a longtemps été supposé que cette cassure se produisait lors de la deuxième division méiotique, aboutissant à un gamète portant le chromosome avec InvDupDel et un gamète avec le recombinant réciproque, c'est-à-dire une délétion terminale. Cependant, plusieurs cas rapportés de patients porteurs d'InvDupDel en mosaïque ont montré que le chromosome dicentrique pouvait en fait être transmis au zygote et que la cassure survenait ensuite lors des premières divisions de mitose de l'embryon.

Nous rapportons le cas d'une patiente présentant une fente palatine et une micrognathie, née prématurément à 27 SA, pour laquelle une CGH array a mis en évidence une délétion 9p terminale d'une taille de 3,46 Mb, confirmée par FISH dans toutes les cellules analysées. Pour cette patiente, une ponction de villosités chorales avait été programmée devant un retard de croissance intra-utérin précoce associé à une artère ombilicale unique. Ce prélèvement n'a pas pu être réalisé en raison de la naissance prématurée, mais un prélèvement placentaire a été effectué à la naissance. Sur ce prélèvement, deux populations cellulaires ont été identifiées : l'une portant la délétion 9p terminale précédemment identifiée, et l'autre portant une InvDupDel 9p. Il est à noter que la délétion 9p terminale ne correspond pas au recombinant réciproque de l'InvDupDel 9p, les points de cassures définis en CGH array 180K étant différents.

A notre connaissance, il s'agit du premier cas rapporté d'une délétion terminale présente de façon homogène dans le sang et associée à la présence d'une InvDupDel en mosaïque confinée au placenta. Ainsi, la transmission d'un chromosome dicentrique suivi de cassures lors des premières divisions mitotiques post-zygotiques pourrait être une cause sous-estimée des délétions terminales identifiées en post-natal.

#20424 : GENIDA, une base de données internationale et participative pour l'étude de l'histoire naturelle, des comorbidités et de pratiques thérapeutiques dans les formes génétiques de troubles du neurodéveloppement: l'exemple du syndrome Koolen de Vries**Auteurs :**

Florent Colin (1), Nicole Collot (2), Joost Kummeling (3), Tjitske Kleefstra (3), David A. Koolen (3), Jean-Louis Mandel (1)

1. Département de Neurogénétique et Médecine Translationnelle, IGBMC - INSERM U964 - CNRS UMR7104 - Université de Strasbourg, Illkirch-Graffenstaden, France
2. Département de Neurogénétique et Médecine Translationnelle, IGBMC - INSERM U964 - CNRS UMR7104 - Université de Strasbourg, Illkirch, France
3. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-Bas

Mots clefs : Neurodéveloppement, Participatif, Base de données, Déficience intellectuelle, Autisme

Résumé :

Le projet participatif GENIDA (<https://genida.unistra.fr>) permet l'étude de cohortes internationales de formes génétique de troubles neuro-développementaux (TND), pour la collecte d'informations sur leur spectre clinique, les comorbidités et l'histoire naturelle. Ces informations sont rentrées et mises à jour par les parents des individus concernés, par l'intermédiaire d'un questionnaire structuré (QCM en 5 langues) qui explore les paramètres physiques les aspects cognitifs et comportementaux, les comorbidités pouvant affecter les diverses fonctions physiologiques. Cinq questions ouvertes permettent une exploration plus qualitative des problèmes perçus comme majeurs par les familles. Le projet, applicable à tous les gènes et CNVs récurrents impliqués dans les formes génétiques de TND, compte actuellement 760 familles participantes actives (ayant rempli le questionnaire) et une dizaine de cohortes spécifiques avec plus de 20 patients. La cohorte la plus importante (n=202) concerne le syndrome Koolen-deVries (KdVS, 17q21.31del ou *KANSL1*mut), une maladie multisystémique caractérisée notamment par une hypotonie néonatale, un retard de développement et déficience intellectuelle et une épilepsie chez 50% des patients. Les résultats obtenus par les données GENIDA confirment les observations rapportées dans les deux publications cliniques principales (Zollino et al. 2015, n=32, Koolen et al. 2016, n=45). Mais GENIDA permet en plus une première approche de l'histoire naturelle (patients d'âge différent), d'identifier de nouvelles comorbidités, et d'obtenir des renseignements précieux sur les thérapies antiépileptiques utilisées, leur efficacité et la survenue d'effets indésirables.

Les troubles respiratoires, comorbidité révélée par notre étude, sont considérés comme un problème majeur par 40% des parents, et englobent notamment la fréquence d'infections respiratoires et notamment de pneumonies souvent récurrentes (n=31), ainsi que de crises d'asthme (n=39), troubles pouvant conduire à des hospitalisations durant l'enfance. Nous présenterons l'étude de corrélations éventuelles avec l'hypotonie, les laryngo ou trachéomalacies assez fréquents dans le KdVS. Nous avons également réalisé une analyse approfondie des troubles épileptiques ainsi qu'une évaluation des fréquences et efficacités perçues des traitements pharmacologiques utilisés (16 molécules, dont principalement Keppra/Levetiracetam et Dépakine/Valproate) et leurs effets secondaires indésirables rapportés (n=37, dont 5 événements graves).

Le projet démontre l'intérêt des parents à participer aux études concernant les maladies affectant leurs enfants, la bonne fiabilité des données saisies par les parents et leur caractère souvent détaillé et apportent de nouvelles connaissances pouvant améliorer la prise en charge de syndromes neurodéveloppementaux spécifiques. Le modèle GENIDA est applicable à d'autres types de pathologies à grande hétérogénéité génétique.

Pièce jointe : GENIDA - Assises 2020 v4_JLM.docx

#20100 : Détection de répétitions CGG par stratégie CRISPR-Cas9 sur séquenceur nanopore dans le cadre du syndrome de l'X fragile

Auteurs :

Pascal PUGNIERE (1), Philippe LOCHU (1), Stephan KEMENY (1), Jérôme AUDOUX (2), Sacha BEAUMEUNIER (2), Jean-Marc HOLDER (2), Nicolas PHILIPPE (2), Grégory EGEA (1)

1. Service de Génétique, Imagenome, Laboratoire Gen-Bio, Clermont-Ferrand, France
2. IRMB, CHRU de Montpellier - Hôpital St Eloi, SeqOne, Montpellier, France

Mots clefs : X fragile, FMR1, séquençage nanopore, CRISPR-Cas9, méthylation

Résumé :

Le syndrome de l'X fragile est une maladie génétique rare caractérisée par une répétition anormale de triplets CGG au niveau de la région 5' non traduite du gène *FMR1* situé sur le chromosome X. Cette mutation dynamique peut évoluer d'un état de pré-mutation (de 55 à 200 répétitions) à un état de mutation complète de l'allèle (> 200 répétitions). Elle reste aujourd'hui la cause la plus fréquente de déficience intellectuelle héréditaire liée à l'X. Au cours de ce syndrome, les patients atteints vont présenter une hyperméthylation de triplets CGG conduisant à une extinction épigénétique de l'expression du gène *FMR1* et, par voie de conséquence, à la perte de la protéine FMRP.

Le diagnostic de la maladie peut s'avérer long et coûteux, du fait de la nécessité de réaliser dans certains cas, deux PCR (dénombrement des triplets et étude de la méthylation). Grâce au séquençage de 3^{ème} génération, il est désormais possible de séquencer individuellement des molécules d'ADN sans aucun marquage fluorescent ni amplification préalable, réduisant ainsi considérablement le temps d'exécution et le coût réactifs. Le séquençage de molécules uniques permet notamment l'obtention de données de séquençage en temps réel, favorisant une détection plus rapide des variants structuraux (variabilité du nombre de copies, duplications, délétions, insertions, inversions ou translocations) ou la détection de modifications de base (méthylation). Ainsi, combinés à la technique d'édition du génome par CRISPR-Cas9, la sélection spécifique et le séquençage consécutif de ces régions génomiques d'intérêt est désormais permis.

Nous présentons une nouvelle méthodologie reposant sur le séquençage ciblé de molécules uniques et capable de restituer simultanément, sans biais de duplicats de PCR, à la fois le dénombrement de triplets CGG et le statut de méthylation du gène *FMR1*. La validation de méthode a été réalisée à partir d'échantillons contrôles dont la région d'intérêt, présentant un nombre de répétitions connu, a pu être spécifiquement obtenue par stratégie CRISPR-Cas9. Nous démontrons que l'identification de répétitions de triplets sur séquenceur *MinION* (Oxford Nanopore Technologies) est aussi précise que les techniques classiques basées sur une amplification PCR. L'analyse de méthylation, réalisée grâce au module variant-caller de *Nanopolish*, nous a permis d'observer des niveaux de méthylation élevés pour les allèles pré-mutés et mutés (73 répétitions ou plus).

L'utilisation combinée du séquençage nanopore consécutif à un enrichissement médié par stratégie CRISPR-Cas9 constitue un outil de diagnostic rapide et complet pouvant à la fois permettre la détection de triplets et l'établissement du statut de méthylation d'une région d'intérêt. L'application de cette approche, particulièrement intéressante dans le cadre des mutations dynamiques, pourrait être étendue aux syndromes ataxiques, l'atrophie musculaire spino-bulbaire, la dystrophie myotonique de Steinert ou la chorée de Huntington.

#20161 : Exploration de la fonction protéasomale dans la déficience intellectuelle syndromique liée au gène USP7

Auteurs :

Wallid Deb (1, 2), Sébastien Küry (2), Frédéric Ebstein (3), Benjamin Cogne (1, 2), Christian Patrick Schaaf (4), Elke Krüger (3), Amandine Le Roy (2), Richard Redon (5, 6), Marie Vincent (1), Thomas Besnard (1, 2), Virginie Vignard (2), Sandra Mercier (2), Bertrand Isidor (1), Stéphane Bézieau (1, 2)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de Génétique Médicale,, L'institut du thorax, CHU Nantes, Nantes, France
3. Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie,, University of Greifswald, Greifswald, Allemagne
4. Institute of Human Genetics,, Universität Heidelberg, Heidelberg, Allemagne
5. , INSERM, UMR_S1087, l'institut du thorax, Nantes, France
6. , CNRS, UMR 6291, Nantes, France

Mots clefs : Déficience Intellectuelle, USP7, Système Ubiquitine-Proteasome, Neurodéveloppement

Résumé :

Introduction. De nombreuses protéines du système Ubiquitine-Protéasome ont déjà été impliquées dans des maladies neurodéveloppementales, comme le montre les rôles d'*UBE3A* (Syndrome d'Angelman), *HUWE1* (déficience intellectuelle liée à l'X) ou encore *OTUD6B* (déficience intellectuelle syndromique) en pathologie. Le gène *USP7* code pour une déubiquitinase impliquée dans une rare forme de déficience intellectuelle syndromique associant un retard de développement, des troubles du comportement, une dysmorphie faciale et un retard statural entre autres. Le rôle d'*USP7* sur les protéines poly-ubiquitinylées, ainsi que la mise en évidence d'une interaction physique entre *USP7* et des sous-unités du protéasome, suggèrent une interaction plus spécifique restant encore à caractériser. Le but de l'étude était d'étudier l'éventuel impact de certains variants *USP7* sur la fonction protéasomale

Matériel et Méthodes. Nous avons étudié 6 variants *de novo* identifiés par exome chez des cas-index, localisés au niveau des différents domaines fonctionnels d'*USP7* : deux variants faux-sens dans le domaine catalytique, un variant faux-sens et une délétion de 2 paires de bases (responsable de l'apparition d'un codon stop prématuré avec décalage du cadre de lecture) dans la région HUBL essentielle à la conformation tridimensionnelle de la protéine, ainsi qu'un variant faux-sens et une délétion dans le domaine TRAF. Nous avons exploré la composition du protéasome par Western-Blotting en SDS-Page et sur extraits natifs, ainsi que l'activité chymotrypsin-like de la sous-unité 20S du protéasome, reflétant l'activité catabolique protéique ATP/Ubiquitine-dépendante chez les eucaryotes. L'exploration de voies de signalisation du développement neurologique embryonnaire a également été réalisée par Western-Blotting.

Résultats. Nous avons observé des niveaux d'expression d'*USP7* différents selon le domaine de localisation du variant, suggérant un impact distinct sur la protéine. De même, la fonction protéasomale n'est pas affectée de la même manière chez les différents sujets étudiés, la baisse de l'activité chymotrypsin-like du protéasome apparaissant plutôt liée à des variants perte de fonction. Une dérégulation de la voie de signalisation Sonic HedgeHog (Shh) a également pu être observée chez ces mêmes patients, confirmant l'importance de l'action d'*USP7* sur les effecteurs Gli de cette voie du neurodéveloppement.

Discussion. Malgré l'absence de lien direct caractérisé entre *USP7* et le protéasome, il semblerait que cette déubiquitinase puisse réguler l'activité chymotrypsin-like du protéasome, impactant de manière plus générale la fonction protéasomale. Cette dysfonction protéasomale pourrait expliquer les troubles présentés par les patients. Il semblerait également que l'atteinte d'*USP7* engendre des perturbations d'effecteurs/inhibiteurs de la voie Shh qui nécessitent une caractérisation plus précise et approfondie avant de pouvoir être reliées au phénotype.

#20313 : Nouvelle mutation faux-sens dans le gène ACE associée à une augmentation isolée du taux d'ACE

Auteurs :

Ibrahima Ba (1, 2), Aurélien Bayot (1), Isabelle Callebaut (3), Catherine Boileau (1), Damien Sene (4, 5), Caroline Kannengiesser (1, 2)

1. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Bichat - APHP, PARIS, France
2. UMR 1152 Physiopathologie et Epidémiologie des Maladies Respiratoires, Faculté de médecine Bichat, PARIS, France
3. UMR 7590, IMPMC, Paris, France
4. Département de Médecine Interne, Hôpital Lariboisière, PARIS, France
5. Université Paris Diderot, Faculté de médecine, PARIS, France

Mots clefs : ACE ; hormonologie ; séquençage Sanger

Résumé :

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE), convertissant l'angiotensine-I en II, a un rôle majeur dans le système (RAA) rénine-angiotensine-aldostérone. Dans l'intron 16, un polymorphisme ins/del correspondant à une séquence Alu de 287 pb a déjà été rapporté comme impliqué dans la variabilité interindividuelle du taux plasmatique d'ACE. De nombreuses autres études d'associations ont été menées, montrant le lien entre ce polymorphisme et les maladies cardio-vasculaires, les atteintes systémiques comme le lupus et diverses autres atteintes.

Eyries et al. et *Kramers et al.* ont publiés un variant à l'état hétérozygote dans le gène ACE rapporté chez des patients ayant des taux élevés d'ACE sans autres anomalies. Les études in vitro ont montré que ces variants augmentaient le taux d'ACE circulante en facilitant son clivage.

Dans cette étude, nous rapportons un nouveau variant pathogène dans le gène ACE, chez une patiente de 44 ans suspectée de sarcoïdose et ayant des taux élevés d'ACE, également constatés chez son père. Le diagnostic de sarcoïdose finalement écarté et devant cette description similaire aux publications, nous avons suspecté la transmission d'une anomalie génétique suivant un mode autosomique dominant.

Le séquençage du gène ACE a montré que le cas index et son père avaient des génotypes différents sur le polymorphisme ins/del ce qui excluait sa causalité dans l'élévation du taux d'ACE.

Un variant hétérozygote a été identifié dans l'exon 24 du gène ACE ; cette substitution nucléotidique, G vers A, entraîne le remplacement de l'alanine en position 1231 acide aminé aliphatique non-polaire, par une Thréonine, acide aminé hydroxylé, polaire et non chargé. Ce variant est très probablement pathogène du fait de la grande conservation de l'acide aminé modifié, la très faible fréquence du variant dans les bases de données exhaustives publiques (GnomAD : 2 hétérozygotes chez plus de 130 000 individus contrôles) ; au niveau fonctionnel, ce variant est localisé dans la zone de clivage de la protéine mature, à proximité du variant identifié précédemment.

Le variant identifié ségrège dans la famille avec l'augmentation du taux d'ACE observée. Ce cas permet de mettre en évidence une nouvelle mutation associée à une augmentation isolée de l'enzyme catabolisant l'angiotensine I en angiotensine II.

L'identification de la cause génétique a permis d'éviter de lourdes investigations dans la prise en charge du patient.

#20244 : Délétion du gène RUNX2 et dysplasie cleido-cranienne en prénatal : A propos d'un cas

Auteurs :

Hela Bellil (1), Estelle Heggarty (2), Jean Philippe Bault (2), Amandine Ignace (3), François Vialard (3), Bérénice Hervé (3), Rodolphe Dard (3)

1. Fédération de Génétique, Chi de Poissy, Paris, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, Chi de Poissy, Poissy, France
3. Fédération de Génétique, Chi de Poissy, Poissy, France

Mots clefs : Dysplasie cleido-cranienne, RUNX2, Analyse chromosomique sur puce à ADN, Diagnostic prénatal

Résumé :

La dysplasie cleido-cranienne (ORPHA: 1452) est une maladie génétique rare de transmission autosomique dominante. Sa prévalence est estimée à 1 sur 1 000 000. Il s'agit d'une maladie osseuse constitutionnelle caractérisée par une triade associant une hypoplasie/aplasie claviculaire, une ossification imparfaite et retardée du crâne et des anomalies dentaires telles qu'une absence ou un retard à l'éruption des dents permanentes. L'intelligence est en général normale. Le diagnostic est basé sur des caractéristiques clinico-radiologiques et confirmé par l'étude moléculaire du gène *RUNX2* « Runtrelated transcription factor 2 » situé en 6p21. Ce gène est un facteur de transcription qui joue un rôle important dans la différenciation des ostéoblastes, le remodelage osseux, et l'odontogénèse. L'étude moléculaire du gène *RUNX2* détecte des mutations dans la majorité des cas. Des délétions partielles ou totales du gène sont rapportées dans 10% des cas seulement. Certains cas de délétions en remaniement complexe peuvent être associés à un retard des acquisitions. Nous rapportons le premier cas de dysplasie cleido-cranienne diagnostiquée en prénatal, associée à une délétion totale du gène *RUNX2* associé à un pronostic neuro-développemental incertain.

Il s'agit d'une patiente âgée de 23 ans, primigeste, sans antécédent particulier. L'échographie du deuxième trimestre a mis en évidence des os longs courts à -3 Z Score, absence d'os plats du nez et une hypoéchogénicité des os du crâne. Devant ces signes d'appel échographiques, une amniocentèse a été pratiquée. Le caryotype fœtal a montré une formule chromosomique 46,XY. L'analyse chromosomique sur puces à ADN a mis en évidence deux microdélétions distinctes sur le chromosome 6: Une première microdélétion de 3.8 Mb en 6p21.2p21.1 peu décrite dans la littérature, et une deuxième microdélétion de 1.2 Mb en 6p21 emportant le gène *RUNX2* associé à la dysplasie cleido-crânienne. Un contrôle échographique réalisé à 25SA a montré une absence de minéralisation du crâne, des clavicules non visibles et un léger hypertélorisme. L'ensemble des signes d'appel échographiques était concordant avec le tableau clinique de la dysplasie cleido-crânienne, résultant de la délétion du gène *RUNX2* chez le fœtus. L'étude parentale a montré le caractère *de novo* de ces délétions.

En conclusion, il s'agit du premier cas de dysplasie cleido-crânienne diagnostiqué en période anténatale avec des signes échographiques jusqu'à présent peu rapportés. Enfin l'atteinte neuro-développementale restera à définir en post-natal en raison de la présence de 2 délétions dans ce remaniement complexe dont une pouvant être considérée comme un VOUS.

#20209 : De l'importance de prendre en compte la pénétrance pour la classification des variants : exemple du gène CFTR

Auteurs :

Agathe BOUSSAROQUE (1), Marie-Pierre AUDREZET (2), Anne MUNCK (3), Caroline RAYNAL (4, 5), Isabelle SERMET-GAUDELUS (6), Thierry BIENVENU (7), Claude FEREC (8), Anne BERGOUIGNOUX (4, 5), Emmanuelle GIRODON (7)

1. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaires, APHP.CUP, Hôpital Cochin, Paris, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU Morvan, Brest, France
3. Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant, Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant, Paris, France
4. Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier, IURC, Montpellier, France
5. Université de Montpellier EA7402, CHU de Montpellier, Montpellier, France
6. Service de Pneumologie et Allergologie Pédiatriques, APHP.CUP, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris, France
7. Génétique et Biologie Moléculaires, APHP.CUP, Hôpital Cochin, Paris, France
8. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU Morvan, Brest, France

Mots clefs : Mucoviscidose, CFTR, pénétrance, dépistage néonatal, impact des variants

Résumé :

Objectifs: L'objectif du dépistage néonatal de la mucoviscidose (DNM) est de repérer les nouveau-nés atteints de forme classique de la maladie de façon à proposer une prise en charge précoce. Ce dépistage conduit néanmoins à repérer également des nouveau-nés pour lesquels le diagnostic ne peut être conclu (CFSPID), notamment en présence d'un test de la sueur intermédiaire et lorsque le génotype n'identifie pas deux variants pathogènes associées à la mucoviscidose (variants CF). L'objectif de cette étude est de prendre en compte la pénétrance associée à certains variants afin de mieux les classer pour le diagnostic et le conseil génétique.

Méthodes: La pénétrance au DNM a été évaluée pour 15 variants du gène *CFTR* (c.1521_1523del (F508del) et 14 autres variants) identifiés chez des nouveau-nés CFSPID, 8 de ces 15 variants étant classés différemment selon les deux bases de données locus spécifiques CFTR-France (données de patients et individus présentant des phénotypes variés) et CFTR2 (données des registres de patients atteints de mucoviscidose). Partant des données du DNM entre 2002 et 2016, le nombre de nouveau-nés repérés homozygotes pour F508del et hétérozygotes composites pour F508del et un autre variant a été comparé au nombre théorique attendu de nouveau-nés porteurs de ce même génotype sur la même période. Ce nombre a été déterminé à partir des fréquences alléliques dans la population générale française ou européenne (gnomAD).

Résultats: Sur les 2441 nouveau-nés dépistés avec un diagnostic de mucoviscidose ou CFSPID entre 2002 et 2016, 987 étaient homozygotes pour F508del et 354 hétérozygotes composites pour F508del et l'un des 14 autres variants. Pour 4 variants classés pathogènes CF dans les deux bases de données, le ratio du nombre de nouveau-nés observés / nombre théorique de porteurs d'un génotype donné est proche de 100%. Par contre, pour les variants présentant une classification discordante entre les deux bases de données, ce ratio est faible. Il est notamment très faible pour les variants classés dans CFTR-France comme associés aux pathologies modérées du CFTR (CFTR-related disorders) : 0,03% pour c.1210-34_1210-6TG[11]T[5] (TG11T5), 0,4% pour TG12T5 et 0,6% pour c.2991G > C (L997F). Il est de 2% pour TG13T5, 15% pour c.350G > A (R117H;T7) et 12% pour c.3454G > C (D1152H).

Conclusion: Ces résultats illustrent le fait que les données épidémiologiques doivent être prises en compte pour évaluer au mieux le risque de développer une mucoviscidose dans le contexte du DNM. Cela est par ailleurs important à considérer dans le contexte des données fortuitement identifiées lors des études pangénomiques, pour le gène *CFTR* et d'autres gènes impliqués dans des maladies héréditaires graves.

#20549 : La duplication Xq27.1-q28 incluant le gène FMR1 : une cause de déficience intellectuelle chez les filles: à propos d'une observation**Auteurs :**

Meriem Chaouch (1), Houweyda Jilani (2), Syrine Hizem (3), Faten Hsoumi (4), Yasmina Elaribi (3), Imen Rejeb (5), Meyssa Merida (3), abir Jbali (4), manel Ajimi (4), Soumaya Bourgou (6), ahlem Belhaj (6), Lamia Ben Jemaa (3)

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, 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, Hopital Mongi Slim, La marsa, tunis, Tunisie
5. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La marsa , Hopital Mongi Slim , La marsa , Tunis, Tunisie
6. service de pédopsychiatrie, Hopital Mongi Slim, La marsa, tunis, Tunisie

Mots clefs : Déficience intellectuelle, CGH array, duplication Xq27.1q28, gène FMR1

Résumé :

La déficience intellectuelle liée à l'X (DILX) est un trouble fréquent qui représente 5 à 10% des causes de déficience intellectuelle chez les hommes. Le syndrome de l'X fragile en est la principale étiologie, résultant d'une perte d'expression du gène *FMR1*. La duplication partielle du bras long du chromosome X est une forme rare de DILX. Elle conduit à une disomie fonctionnelle des gènes compris dans la région dupliquée et a été rapportée dans plusieurs cas de déficit intellectuel chez des sujets de sexe masculin.

Nous rapportons un cas de duplication Xq27.1-Xq28 mise en évidence par CGH array (hybridation génomique comparative sur puce à ADN) chez une patiente adressée pour déficience intellectuelle, obésité et épilepsie.

Notre patiente, issue d'un mariage non consanguin, âgée de 8 ans et demi, présentait un déficit intellectuel, une obésité, une épilepsie, des troubles du spectre de l'autisme et quelques traits dysmorphiques. Le caryotype était normal. La CGH array a mis en évidence une duplication de 8.7 Mb en Xq27.1-q28 entre les points de cassure 140,228,522 et 148,845,68 (hg 19). Cette région dupliquée contient 28 gènes dont 3 gènes OMIM morbides : *FMR1*, *FMR2* et *IDS*. Alors que le gène *IDS* est responsable de la mucopolysaccharidose de type II, les gènes *FMR1* et *FMR2* sont impliqués dans la déficience intellectuelle par amplification anormale de répétitions CGG ou CCG respectivement. La duplication Xq27q28 correspond à un syndrome décrit chez des sujets de sexe masculin présentant une déficience intellectuelle, une obésité, un hypogonadisme et une petite taille, avec une variabilité phénotypique. Uniquement 3 cas de duplication Xq27 ont été rapportés dans la littérature chez des filles avec un tableau phénotypique assez variable, mais comportant un retard du développement, portant essentiellement sur le langage, une épilepsie chez une patiente, et des stéréotypies dans un autre cas. Les troubles neurodéveloppementaux associés à cette duplication seraient la conséquence de l'effet du dosage du gène *FMR1* en l'occurrence. Ce CNV a été classé en pathologique à la lumière de tous ces arguments. La variabilité phénotypique chez les patientes de sexe féminin serait due à l'effet du biais d'inactivation de l'X.

Une FISH (hybridation in situ fluorescente) sera réalisée afin de confirmer l'anomalie, de déterminer son mécanisme, et de la chercher chez les parents.

En conclusion, la duplication Xq27.1-Xq28 représente une forme supplémentaire de DILX, affectant les deux sexes. L'effet du dosage du gène *FMR1* serait le mécanisme le plus probable. L'étude de l'inactivation de l'X est nécessaire, afin d'évaluer son impact sur le phénotype pour expliquer la variabilité phénotypique associée à ce CNV.

#19955 : Lymphangiomatose diffuse et mutation NRAS, à propos de 2 nouveaux cas

Auteurs :

Elise Pierre-Noël (1), Guillaume Herbreteau (2), Emma Allain Launay (3), Charlotte Oriot (3), Sara Weinhard (4), Sébastien Barbarot (5), Flavie Sadones (6), Christophe Perret (6), Christine Sagan (7), Elisabeth Cassagnau (7), Stéphane Bezieau (1), Marc Denis (2), Marie Vincent (1)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de biochimie, plateforme de génétique moléculaire des cancers, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Service de pédiatrie spécialisée, CHU de Nantes, Nantes, France
4. Service d'oncologie pédiatrique, CHU de Nantes, Nantes, France
5. Service de dermatologie, CHU de Nantes, Nantes, France
6. Service de radiologie, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : lymphangiomatose diffuse, lymphangiomatose kaposiforme, PIK3CA, NRAS, mosaïque, rapamycine

Résumé :

La lymphangiomatose diffuse (LD) est une pathologie rare touchant préférentiellement l'enfant et l'adolescent. Il s'agit d'une prolifération de vaisseaux lymphatiques dans différents organes en lien avec un mosaïcisme génétique. Le diagnostic repose habituellement sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et anatomo-pathologiques (lymphoprolifération médiastinale, épanchements pleuraux et péricardiques, atteinte osseuse, parfois cutanée, marquage immuno-histochimique spécifique). Des mutations dans le gène *PIK3CA* ont déjà été rapportées, et plus récemment encore une mutation dans le gène *NRAS* responsable de lymphangiomatose diffuse ou kaposiforme. Actuellement la prise en charge de cette pathologie repose sur un traitement symptomatique, et sur l'utilisation de la rapamycine (inhibiteur mTOR) dont l'efficacité reste partielle.

Nous décrivons ici deux nouvelles observations de LD non kaposiforme, chez des adolescents présentant un tableau respiratoire au premier plan associant des épanchements pleuraux abondants et un envahissement médiastinal. Le diagnostic a été évoqué suite à l'analyse histologique qui a montré une infiltration du tissu adipeux et du parenchyme thymique par une prolifération de vaisseaux lymphatiques. Le séquençage de l'ADN à partir du tissu tumoral sur un panel de gènes impliqués dans les cancers a permis d'identifier chez les deux patients la même mutation dans le gène *NRAS* (c.182G > A), précédemment décrite. Un traitement par rapamycine a été entrepris avec une efficacité clinique franche chez l'un des deux et une efficacité partielle chez l'autre. En l'absence de thérapie ciblant directement les protéines RAS, l'introduction de Trametinib (inhibiteur de MEK), utilisé en combinaison avec un inhibiteur de BRAF dans le traitement du mélanome, est en discussion chez le second patient.

La LD est une pathologie dont le diagnostic n'est pas aisé, pouvant conduire à une errance médicale. Sa présentation est variable et l'atteinte pulmonaire peut mettre en jeu le pronostic vital. Le traitement montre aujourd'hui une efficacité partielle. Deux gènes des voies de transduction RAS/MAPK (*NRAS*) et PI3K/AKT (*PIK3CA*) sont impliqués dans cette pathologie, et leur connaissance permet de déployer et mettre au point des thérapeutiques ciblées.

Pièce jointe : Abstract Lymphangiomatose diffuse Version soumise.docx

#20390 : Leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous-corticaux : à propos d'un cas

Auteurs :

Fatma Mejdoub (1), Fatma Abdelhedi (2), Ikhlas Ben Ayed (1), Nourhène Gharbi (1), Malek Bouassida (1), Houda Kanoun (1), Lobna Maalej (1), Chahnez Triki (3), Hassen Kamoun (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Leucodystrophie, leucoencéphalopathie mégalencéphalique, Déficience intellectuelle, Déficit moteur, Gène *MLC1*.

Résumé :

La leucoencéphalopathie mégalencéphalique (LEM) avec kystes sous-corticaux est un type rare de leucodystrophie qui associe une macrocrânie, un retard des acquisitions psychomotrices, une spasticité et une épilepsie. L'évolution se caractérise par une détérioration progressive sur le plan moteur et cognitif. Cette maladie, de transmission autosomique récessive, est secondaire dans 80% à des mutations au niveau du gène *MLC1* localisé en 22q13.33. Le diagnostic est radiologique, mettant en évidence au niveau de l'IRM cérébrale une anomalie de la substance blanche hémisphérique cérébrale et des kystes sous-corticaux dans la région temporale.

Nous rapportons le cas d'une fille issue d'un mariage consanguin, suivie à notre consultation pour retard psychomoteur d'emblée. L'enquête génétique note la notion de mariages consanguins dans la famille et d'un handicap moteur non suivi chez une cousine maternelle. L'examen clinique fait à l'âge de 3 ans montre un tétra parésie spastique sans syndrome dysmorphique. Par ailleurs, L'IRM cérébrale met en évidence un aspect en faveur d'une LEM avec kystes sous-corticaux. Le diagnostic est alors retenu, un séquençage du gène *MLC1* est en cours.

Notre observation souligne l'intérêt de l'IRM cérébrale dans l'orientation étiologique des leucodystrophies, caractérisés par une très grande hétérogénéité clinique et génétique. Devant une apparition précoce des anomalies radiologiques caractéristiques de LEM, le gène *MLC1* serait le candidat le plus probable à analyser. La mise en évidence de la mutation causale permet de donner un conseil génétique adéquat et d'établir un diagnostic prénatal pour d'éventuelles grossesses ultérieures.

Pièce jointe : leucoencéphalopathie mégalencéphalique avec kystes sous.docx

#20027 : Fréquence des mutations constitutionnelles de l'exon cryptique de VHL chez les patients avec tumeurs du spectre de von Hippel-Lindau ou paragangliome.**Auteurs :**

Alexandre Buffet (1), Bruna Calsina (2), Shahida Flores (3), Sophie Giraud (4), Marion Lenglet (5), Pauline Romanet (6), Elisa Deflorenne (1), Javier Aller (7), Isabelle Bourdeau (8), Brigitte Bressac- de Paillerets (9), Maria Calatayud (10), Caroline Dehais (11), Erwan de Mones (12), Atanaska Elenkova (13), Philippe Herman (14), Peter Kamenický (15), Sophie Lejeune (16), Jean Louis Sadoul (17), Anne Barlier (6), Stéphane Richard (18), Judith Favier (1), Nelly Burnichon (19), Betty Gardie (5), Patricia Dahia (3), Mercedes Robledo (2), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (19, 1)

1. INSERM, UMR970, Paris-Centre de Recherche Cardiovasculaire, Paris, France
2. Hereditary Endocrine Cancer Group, Spanish National Cancer Research Centre (CNIO), Madrid, Espagne
3. Division of Hematology and Medical Oncology, Department of Medicine, Mays Cancer Center, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Etats-Unis
4. Genetics Department, Hospices Civils de LYON (HCL), Bron, France
5. L'Institut du Thorax, INSERM, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Université de Nantes, Nantes, France
6. Laboratory of Molecular Biology Hospital La Conception, Aix Marseille Univ, APHM, Marseille, France
7. Endocrinology and Nutrition Service, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Espagne
8. Division of Endocrinology, Department of Medicine, Research Centre, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montréal, Canada
9. Département de Biopathologie et INSERM U1186, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Villejuif, France
10. Department of Endocrinology and Nutrition, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Espagne
11. Service de Neurologie 2-Mazarin, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
12. Service ORL, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
13. Department of Endocrinology, USHATE "Acad. Ivan Penchev", Medical University Sofia, Sofia, Bulgarie
14. Service ORL-CCF, hôpital Lariboisière, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France
15. Service d'Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Le Kremlin Bicêtre, France
16. Department of Clinical Genetics, Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille, Lille, France
17. Service d'Endocrinologie, Hôpital de L'Archet, CHU de Nice, Nice, France
18. Réseau National pour Cancers Rares PREDIR labellisé par l'Institut National contre le Cancer, Hôpital Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Le Kremlin Bicêtre, France
19. Service de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Résumé :**Contexte**

Il a été découvert récemment dans l'intron 1 du gène *VHL* un exon cryptique (E1'), dont les mutations sont responsables d'un épissage anormal des transcrits de *VHL*. Ces mutations constitutionnelles ont été décrites dans plusieurs familles de polyglobulie de Chuvash sans inactivation biallélique du gène *VHL*, et une famille de maladie de von Hippel-Lindau (VHL) sans mutation dans un des exons classiques de *VHL*. Cependant la fréquence des mutations constitutionnelles de l'exon E1' de *VHL* chez les patients avec maladie de von Hippel-Lindau ou paragangliome (PGL) n'est pas actuellement connu.

Patients et méthodes

Une mutation constitutionnelle de l'exon cryptique de *VHL* a été recherchée sur une grande cohorte internationale de 1167 patients : 105 avec une seule tumeur du spectre VHL, 116 avec plusieurs tumeurs du spectre VHL et 946 avec PGL. Aucun de ces patients n'était porteur d'une mutation constitutionnelle dans un exon classique du gène *VHL* ou dans un des gènes de prédisposition au PGL respectivement.

Résultats

Nous avons identifiés six variants rares de l'exon E1' chez douze patients, 8 ayant un PGL et 4 une ou plusieurs tumeurs du spectre VHL. Un seul des six variants était déjà décrit comme pathogène dans l'article princeps et a été retrouvée chez une patiente avec des hémangioblastomes rétinien multiples. Les analyses fonctionnelles tumorales par immunohistochimie et qPCR ont permis de classer un variant supplémentaire comme pathogène chez un patient avec phéochromocytome pédiatrique, 2 autres comme variant de classe 3 chez deux patients avec PGL. Les deux derniers variants identifiés chez 8 patients restant ont été classés comme probablement bénin. Parmi eux le rs139622356 a été mis en évidence chez 7 patients alors qu'il n'est décrit que 16 fois chez 31390 sujets dans Genome Aggregation Database ($p < 0.0001$), suggérant que ce variant pourrait être un variant modificateur conférant un risque accru de développer des tumeurs du spectre VHL.

Conclusions

Les mutations constitutionnelles de l'exon cryptique de *VHL* sont impliquées dans 0,86 % (1/116) des patients avec plusieurs tumeurs du spectre VHL et dans 0,32 % (3/946) des patients avec PGL, ce qui suggère que cet exon doit aussi être exploré chez les patients avec maladie de von Hippel-Lindau ou PGL. Ces données illustrent l'importance d'explorer les variants dans les régions introniques profondes chez les patients ayant un phénotype évocateur sans mutation identifiée dans les gènes responsables de la maladie.

#20110 : Nanisme microcéphalique causé par un variant dans DNMT3A

Auteurs :

Solène Conrad (1), Marie Vincent (1, 2), Stéphane Bézieau (1, 2), Benjamin Cogné (1, 2)

1. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. L'Institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France

Mots clefs : DNMT3A, nanisme, microcéphalie, déficience intellectuelle, épigénétique, méthylation

Résumé :

Les variants du gène *DNMT3A* sont connus pour donner un phénotype d'avance staturale, macrocéphalie et déficience intellectuelle (DI), appelé syndrome de Tatton-Brown-Rahman (TBRS, OMIM 615879). Nous rapportons l'observation d'une patiente présentant un retard psychomoteur modéré et des traits morphologiques particuliers (oreilles décollées bas implantées et nez bulbeux) associés à un retard staturo-pondéral et une microcéphalie présents dès la naissance. A l'âge de 6 ans la patiente avait une taille à -4 DS, un poids à -3 DS et un périmètre crânien à -4,5 DS. Le séquençage de l'exome a mis en évidence une délétion en phase de 3 nucléotides, *de novo*, dans le gène *DNMT3A* (NM_022552.4:c.911_913del:p.(Ser304del)). Ce variant induit la délétion d'une sérine très conservée dans le domaine PWWP impliqué dans la liaison à la chromatine.

Le gène *DNMT3A* code pour la DNA-méthyltransférase 3 impliquée dans la méthylation *de novo* de l'ADN lors de l'embryogenèse. Récemment, Heyn et al (Nat Genet, 2019) ont rapporté 3 variants faux-sens *de novo* dans le même domaine, PWWP, chez des patients présentant un phénotype similaire de nanisme microcéphalique et DI. Des variants responsables des deux phénotypes inverses (avance ou retard staturaux) ont été identifiés dans le même domaine fonctionnel, mais l'équipe a montré un effet différentiel sur la méthylation: hypométhylation dans le cas de l'avance staturale et hyperméthylation dans le cas du retard statural. Cette observation témoigne de la difficulté d'interprétation des variants dans certains gènes en lien avec l'épigénétique, qui peuvent avoir un effet phénotypique différent selon leur localisation et leur effet perte ou gain de fonction.

Pièce jointe : abstract_DNMT3A_final.docx

#20490 : Diagnostic étiologique de la déficience intellectuelle : résultats du séquençage d'exome en trio dans une cohorte de 818 patients**Auteurs :**

Thomas Courtin (1, 2), Julien Buratti (1), Damien Haye (1), Perrine Charles (1), Caroline Nava (1), Diana Rodriguez-Levi (3), Sandra Whalen (4), Diane Doummard (3), Isabelle Marey (1), Thierry Billette de Villemeur (3), Sandrine Chantot-Bastarud (5), Laurence Cuisset (6), Aurélie Lafitte (1), Valérie Olin (1), Sabina Karagic (1), Estrade Claude (1), Corinne Mach (1), Élodie Lejeune (1), Stéphanie Valence (3), Lydie Burglen (3), Bénédicte Héron (7), Marie-Laure Moutard (3), Alexandra Afenjar (4), Solveig Heide (1), Cyril Mignot (1), Boris Keren (1), Delphine Héron (1)

1. Service de Génétique médicale, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. , Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
4. Service de Génétique médicale, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
5. Service de Génétique moléculaire, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
6. Service de Génétique médicale, Hôpital Cochin, Paris, France
7. Neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France

Mots clefs : Séquençage d'exome, déficience intellectuelle, neurogénétique, diagnostic étiologique, neurodéveloppement

Résumé :

Introduction : La déficience intellectuelle (DI) est une affection cliniquement et génétiquement hétérogène qui concerne 1 à 3 % de la population mondiale. Des études récentes estiment qu'une origine génétique pourrait être retrouvée chez 60% des patients atteints, sous forme d'une multitude de causes rares, dont certaines sont encore à identifier. Du fait de cette extrême hétérogénéité génétique, les stratégies diagnostiques sont complexes. Ces dernières années, les avancées technologiques apportées par le séquençage de nouvelle génération (NGS) ont radicalement modifié la prise en charge diagnostique de cette pathologie. Nous présentons ici les caractéristiques cliniques et génétiques d'une cohorte de 818 patients atteints de DI et ayant bénéficié d'un séquençage d'exome en trio.

Patients et méthodes : 818 patients ont été inclus sur une période de 38 mois, issus des consultations de génétique médicale et/ou de neuropédiatrie. La DI était évaluée sur la base d'un bilan neuropsychologique ou une échelle adaptative lorsque disponible. Dans le cas contraire, une évaluation sur des données de développement (scolarité, autonomie, etc.) a été réalisée. L'ensemble des patients a bénéficié, avant séquençage d'exome, d'une Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) ainsi que d'une recherche d'X-fragile. En cas de négativité, un séquençage d'exome en trio était effectué. Les résultats moléculaires ont été systématiquement discutés en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) avant rendu du résultat au patient.

Résultats : Le taux diagnostique global de l'étude a été de 41 % (338/818 patients). De plus, 41 variants ont été identifiés dans des gènes candidats de DI, contribuant à leur validation, ce qui a augmenté le taux diagnostique à 47% (379/818 patients). Les variants dans des gènes dominants sont majoritaires (81%) et le plus souvent de novo (95%). Pour les 338 patients, 220 gènes différents sont incriminés. Sur le plan clinique, la sévérité de la DI n'a pas d'impact significatif sur le taux diagnostique (léger ID, 66/180, 37% - modéré à sévère ID, 108/419, 44%, p-value = 0.1997), contrairement à d'autres études. D'autres paramètres, comme l'histoire familiale ou l'épilepsie n'ont pas été identifiés comme potentiels facteurs influençant l'efficacité diagnostique du WES (p-value = 0.132 and 0.516).

Conclusion : Cette étude confirme l'hétérogénéité génétique majeure de la DI et l'intérêt d'une approche par séquençage d'exome en trio pour la recherche étiologique, quelle que soit la gravité de la DI et les signes associés. Un arbre décisionnel est proposé à la lumière de ces résultats.

#20177 : Nouveaux phénotypes associés à des variants dominants de DNA2.

Auteurs :

Benoit Rucheton (1), Sandrine Filaut (1), Norma Romero (2), Damien Sternberg (1), Tanya Stojkovic (2), edoardo Malfatti (3, 4)

1. U.F. Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, AP-HP6, GHU La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. , INSERM, Centre de Recherches, Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, GHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France,, Paris, France
3. Service Neurologie Médicale, Centre de Référence Maladies Neuromusculaire Paris-Nord, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France, Garches, France
4. U1179 UVSQ-INSERM Handicap Neuromusculaire: Physiologie, Biothérapie et Pharmacologie Appliquées, UFR des Sciences de la santé Simone Veil, Université Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, France, Versailles, France

Mots clefs : Mitochondrie DNA2

Résumé :

Objectif:

Décrire les caractéristiques cliniques et histopathologiques de trois patients présentant deux nouvelles mutations du gène DNA2 responsables d'une myopathie précoce avec atteinte cardiaque et une mitochondriopathie tardive avec rhabdomyolyse.

Contexte:

DNA2 code pour une hélicase / nucléase impliquée dans le maintien / la réplication de l'ADNmt. Des mutations de DNA2 ont été associées à une ophtalmoplégie progressive autosomique dominante, à une myopathie congénitale avec ptosis et à des délétions multiples de l'ADNmt. À ce jour, seuls quelques cas de DNA2 ont été décrits, aucun ne présentant une atteinte cardiaque ou une rhabdomyolyse.

Méthode :

Les analyses cliniques, histopathologiques (biopsie musculaire) et moléculaires comprenant un panel NGS de 244 gènes impliqués dans les maladies mitochondriales ont été réalisées chez deux patients mexicains, une mère et son fils et chez un troisième cas sporadique : un patient français.

Résultats:

Les patients 1 et 2 ont présenté une myopathie précoce associée à un ptosis, une faiblesse du vélopharynx et une atteinte cardiaque. Le patient 3 a présenté une rhabdomyolyse révélant une maladie mitochondriale caractérisée par une perte auditive neuro-sensorielle, un ptosis et des lipomes. Les biopsies musculaires réalisées chez tous les patients ont montré des altérations mitochondriales variables amis en faveur de cytopathies mitochondriales. Le patient 3 présentait des délétions multiples de l'ADNmt musculaire évoquant une anomalie au niveau d'un gène de maintenance de l'ADNmt. Les analyses génétiques ont révélé une nouvelle mutation hétérozygote non-sens de DNA2 (c.2346delT, p.Phe782Leufs*3) chez P1 et P2, ainsi qu'une nouvelle mutation hétérozygote faux-sens dans le gène DNA2 (c.578T> C, p.Leu193Ser) dans P3. Ces deux variants n'ont pas été rapportées auparavant. Le variant des patients P1/P2 peut être considéré comme pathogène par l'apparition d'un codon stop. Le variant P3 est un variant de signification inconnue classe 3, mais l'histologie et surtout la présence significative de délétions multiples de l'ADNmt chez un patient de 45 ans tendent à conforter son rôle dans la pathogénicité du patient 3.

Conclusions:

À ce jour, seuls quelques cas de variants DNA2 faux-sens ou non-sens à transmission autosomique dominante ont été rapportés. Aucun d'entre eux ne présentait d'atteinte cardiaque ni de rhabdomyolyse. Nous élargissons ici le spectre génétique et phénotypique des troubles mitochondriaux liés à DNA2

#19822 : Les phlébotomies : un traitement efficace de la porphyrie érythropoïétique congénitale.

Auteurs :

Antoine Poli (1, 2), Arienne Mirmiran (2), Cécile Ged (3), Caroline Schmitt (2, 1), Thibaud Lefebvre (2, 1), Hana Manceau (2, 4), Raed Daher (2), Boualem Moulouel (1), Katell Peoc'h (2, 4), Sylvie Simonin (1), Jean-Marc Blouin (5), Jean-Charles Deybach (1), Hervé Puy (1, 2), Emmanuel Richard (6), Laurent Gouya (1, 2)

1. APHP - CRMR Porphyries, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
2. Centre de recherches sur l'inflammation U1149, INSERM, Paris, France
3. Biochimie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
4. Biochimie, Hôpital Beaujon, Clichy, France
5. BMGIC U1035, INSERM, Bordeaux, France
6. BMGIC U1035, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : porphyrie, fer, porphyrines, phlébotomie, érythropoïèse

Résumé :

La porphyrie érythropoïétique congénitale (PEC, OMIM 263700) est une maladie autosomique récessive rare due à un défaut d'activité de l'UROS, la quatrième enzyme de la voie de biosynthèse de l'hème. Ce déficit enzymatique se traduit par une accumulation d'uroporphyrines et de coproporphyrines dans les cellules érythroïdes. L'accumulation de ces porphyrines dans les érythrocytes entraîne une hémolyse chronique. Les porphyrines intra-érythrocytaires diffusent alors dans tout l'organisme. Le dépôt de porphyrines dans la peau est responsable d'une photosensibilité se traduisant par la formation de bulles et, sur le long terme, par des mutilations des zones photo-exposées pouvant entraîner un important préjudice esthétique et fonctionnel. Sur le plan chronique, la PEC évolue fréquemment vers l'insuffisance médullaire et la pancytopenie. Les options thérapeutiques sont peu nombreuses et reposent principalement sur la photo-protection et les hyper-transfusions. Pour les cas les plus sévères la greffe de cellules souches hématopoïétiques est indiquée. Il a été montré que des mutations gains de fonction dans le gène ALAS2, première enzyme de la voie de biosynthèse de l'hème, pouvaient être un facteur aggravant de la PEC et que la carence martiale pouvait améliorer les symptômes de la maladie. Dans le tissu érythroïde, la biodisponibilité du fer régule, par un mécanisme post-transcriptionnel l'expression de la protéine ALAS2. Nous présentons ici le premier cas de patient atteint de PEC traité par phlébotomies itératives pendant 2 ans afin d'induire une carence martiale. Nous avons observé une disparition de l'hémolyse et une diminution marquée des porphyrines urinaires et plasmatiques. La photosensibilité s'est améliorée significativement. Aucun effet secondaire n'a été à déplorer. L'observation concomitante d'une fratrie atteinte de PEC avec une expression phénotypique très différente selon leur bilan martial souligne l'importance du fer dans la modulation de la sévérité de la maladie. Pour confirmer le rôle de la biodisponibilité du fer sur le taux de production des porphyrines érythrocytaires, nous avons réalisé des cultures primaires de cellules érythroïdes dans des concentrations croissantes d'holo-transferrine. Aux concentrations les plus faibles, nous avons observé une diminution significative des taux d'uro- et de coproporphyrines ce qui confirme le rôle déterminant du fer dans la production des porphyrines érythrocytaires. Les phlébotomies sont donc un traitement efficace, accessible et bien toléré de la PEC. Enfin cette étude suggère que le développement d'inhibiteurs de l'enzyme ALAS2 est une stratégie valide pour le traitement des porphyries érythropoïétiques.

Pièce jointe : Abstract assises 2020 AP Phlébotomies.docx

#19842 : Une série de mutations dominantes et hétérozygotes du gène KIF1A associées à des phénotypes cliniques et neuroradiologiques différents**Auteurs :**

Yosra Halleb (1), Lise LARRIEU (2), François RIVIER (3), Nicolas LEBOUcq (4), Emilie CARME (5), Cyril GOIZET (6), Yves CHEVALIER (7), Claire GUISSART (2), michel koenig (2)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de montpellier, sousse, Tunisie
2. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de montpellier, montpellier, France
3. service de neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, montpellier, France
4. Service de Neuroradiologie, CHU de montpellier, montpellier, France
5. Service de neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, montpellier, France
6. Service de génétique médicale, Groupe hospitalier Pellegrin, bordeaux, France
7. Service de neurologie, Hôpital de Montbéliard, montbéliard, France

Mots clefs : KIF1A gene, KIF1A protéine, mutation dominante, motif ATPase,

Résumé :

Le gène KIF1A code pour une protéine motrice impliquée dans le transport rapide et antérograde des précurseurs de la vésicule synaptique le long des microtubules de l'axone. Les mutations de KIF1A ont été décrites dans une large gamme de phénotypes dans les transmissions récessives et dominantes. Les variants du domaine moteur sont incriminés dans les formes dominantes et récessives du SPG30, le retard mental dominant de type 9 (MRD9) et l'encéphalopathie progressive.

Dans cette étude, nous rapportons 4 patients avec différentes mutations faux-sens du domaine de la kinésine (ATPase) de KIF1A. Quatre mutations étaient de novo et une a été identifiée dans une famille de 4 personnes affectées sur 2 générations. Alors que le cas familial était associé à la forme dominante de SPG30 pur et à la cognition normale, les mutations de novo étaient associées à des signes supplémentaires, allant de l'encéphalopathie épileptique à l'épilepsie légère et à des images IRM anormales, incluant des dysmorphies différentes du cervelet et du corps calleux.

Toutes les mutations sont prédites délétères par les programmes de prédiction SIFT et PolyPhen2, et les résidus affectés sont hautement conservés chez les eucaryotes. Une mutation est nouvelle et deux sont situées dans le motif Walker B de l'ATPase. Comparativement aux mutations faux-sens de ce domaine signalées précédemment, aucune corrélation entre le site de la mutation et la sévérité de la présentation clinique n'est apparue. Nos résultats mettent en évidence le large spectre clinique associé aux mutations KIF1A, qui se regroupent néanmoins dans une très petite partie de la protéine.

Pièce jointe : abstract KIF1A assises.docx

#20320 : Analyse fonctionnelle de mutations faux-sens du gène *PTCHD1* associées à la déficience intellectuelle et à l'autisme**Auteurs :**

Judith Halewa (1), Dévina Ung-Legrand (2, 1), Sylviane Marouillat (1), Benoît Dessay (3), Rose-Anne Thépault (1), Nicolas Chatron (4), Bénédicte Gérard (5), Jamal Ghoumid (6), Gaëtan Lesca (4), Thomas Smol (7), Alain Verloes (8), Annick Toutain (1, 3), Martine Raynaud (1, 3), Frédéric Laumonnier (1, 3)

1. UMR1253, iBrain, University of Tours, Inserm, Tours, France
2. Seaver Autism Center for Research and Treatment, ICAHN School of Medicine at Mount Sinai, New-York, Etats-Unis
3. Service de Génétique, CHRU de Tours, Tours, France
4. Genetics Department, Hospices Civils de Lyon, GENDEV Team, CRNL, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
5. Laboratoire de diagnostic génétique, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. EA7364 RADEME, Univ. Lille, Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHU Lille, Lille, France
7. EA7364 RADEME, Univ. Lille, Institut de Génétique Médicale, CHU Lille, Lille, France
8. Department of Genetics, INSERM UMR1141, APHP-Robert DEBRE University Hospital, Denis Diderot School of Medicine, Paris University, France, Paris, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, trouble du spectre autistique, neurones, culture primaire, *PTCHD1*, études fonctionnelles

Résumé :

L'autisme et la déficience intellectuelle (DI) caractérisent des troubles neuro-développementaux avec une composante génétique significative impliquant au moins 1% de la population générale. L'identification de mutations dans le gène *PTCHD1* (situé sur le chromosome X) chez des patients atteints d'autisme et/ou de DI nous a amené à étudier son implication dans le neuro-développement.

L'analyse génétique de nouveaux patients présentant un trouble neurodéveloppemental a mis en évidence 3 mutations faux-sens (Pro32Arg, Pro32Leu, Tyr213Cys) localisées dans le 1^{er} domaine transmembranaire (Pro32) ou dans la 1^{ère} boucle extracellulaire (Tyr213) de la protéine *PTCHD1*. Ces variants sont absents des bases de données GnomAD et sont prédits pathogènes. De manière intéressante, la mutation Pro32Leu est présente chez un oncle sain.

Pour mieux définir le caractère pathogène de ces variants, nous avons effectué des expériences de surexpression des formes mutées de *PTCHD1* dans des lignées cellulaires HEK293 et dans des cultures primaires neuronales a permis la mise en évidence d'un défaut d'expression protéique et de localisation membranaire pour les variants Pro32Arg et Tyr213Cys, alors que la forme normale de *PTCHD1* est localisée à la membrane plasmique, et au niveau des terminaisons synaptiques dans les cultures neuronales.

La protéine *PTCHD1* est une protéine transmembranaire post-synaptique contribuant au fonctionnement des synapses glutamatergiques, et interagissant avec les protéines-clefs de l'échafaudage post-synaptique PSD95 et DLG3 (Ung et al., 2018). Dans l'objectif de caractériser en détail la voie de signalisation, une étude de l'interactome de *PTCHD1* en cours a permis d'identifier une interaction avec la protéine Rac1, qui participe à la régulation de l'organisation du cytosquelette d'actine.

Ces résultats soulignent le rôle majeur de *PTCHD1* dans le développement du cerveau et permettent de fournir des éléments décrivant une nouvelle voie physiologique au sein de la synapse glutamatergique.

Pièce jointe : abstract Halewa Assises Tours 2020.docx

#20506 : SMARCA4 comme gène fréquemment altéré au niveau tumoral et constitutionnel dans les SCCOHT**Auteurs :**

Julien MASLIAH-PLANCHON (1), Marion GAUTHIER-VILLARS (2), Guillaume BATAILLON (3), Emmanuelle FOURME (2), Maud BLANLUET (1), Olivier CARON (4), Philippe DENIZEAU (5), Chrystelle COLAS (6), Dominique STOPPA-LYONNET (2), Olivier DELATTRE (7), Franck BOURDEAUT (8)

1. Laboratoire d'Oncogénétique, Institut Curie, Paris, France
2. Service d'Oncogénétique clinique, Institut Curie, Paris, France
3. Laboratoire d'anatomopathologie, Institut Curie, Paris, France
4. Département de Médecine Oncologique, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
5. Service d'Oncogénétique clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
6. Service d'Oncogénétique clinique, Institut Curie, Paris, France
7. Centre d'oncopédiatrie SIREDO, Institut Curie, Paris, France
8. Centre d'oncopédiatrie SIREDO & Laboratoire de recherche translationnelle en oncologie pédiatrique, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : SMARCA4, carcinomes à petites cellules de l'ovaire de type hypercalcémiant

Résumé :

Les carcinomes à petites cellules de l'ovaire de type hypercalcémiant (SCCOHT pour small cell carcinoma of the ovary of hypercalcemic type) sont des tumeurs rares qui surviennent chez des femmes jeunes. L'âge médian de survenue est de 25 ans mais ces tumeurs ont déjà été observées chez des adolescentes et jusqu'à l'âge de 45 ans. Ce sont des tumeurs extrêmement agressives, de mauvais pronostic et chimio-résistantes. En 2014, trois équipes indépendantes ont mis en évidence des altérations tronquantes bi-alléliques du gène *SMARCA4* conduisant à la perte d'expression de la protéine BRG1 dans plus de 95% des SCCOHT. A travers plusieurs cas familiaux, ces travaux ont également montré que les mutations du gène *SMARCA4* sont également présentes au niveau constitutionnel dans 30 à 40 % des cas et prédisposent ainsi à la survenue des SCCOHT.

A travers l'analyse moléculaire par un grand panel de gènes d'une série de 22 cas index colligés depuis 2014 à l'institut Curie, nous confirmons 1/ que les SCCOHT sont des tumeurs très peu altérées sur le plan moléculaire présentant peu d'altérations de nombre de copie et peu de variants pathogènes en dehors de ceux affectant le gène *SMARCA4*, 2/ que les formes les plus précoces sont généralement associées à la présence d'une altération constitutionnelle mono-allélique (médiane de survenue 22 ans pour les formes avec une mutation constitutionnelle de *SMARCA4* contre 30 ans pour les formes sporadiques) et 3/ que les mutations de *SMARCA4* observées dans les SCCOHT sont très majoritairement des altérations tronquantes contrairement à celle rapportées dans le syndrome de Coffin-Siris.

La mise en évidence, en 2014, d'altérations constitutionnelles du gène *SMARCA4* prédisposant à un cancer au pronostic catastrophique chez des femmes jeunes représente une découverte majeure dans la prise en charge oncogénétique des SCCOHT. L'analyse du gène *SMARCA4* est ainsi devenu indispensable pour identifier les SCCOHT dû à un variant pathogène constitutionnel du gène *SMARCA4*. Néanmoins, des études plus larges sont maintenant nécessaires pour établir des recommandations sur la prise en charge, le suivi et le conseil génétique à apporter à ces patientes.

Pièce jointe : Poster SCCOHT_2019-10-20.docx

#20439 : Identification d'une nouvelle mutation responsable d'hyperparathyroïdie primitive familiale chez une famille Tunisienne

Auteurs :

Sabrine Oueslati (1), Rahma Mahjoub (2), Sana Mahjoubi (3), Yassine Amri (4), Sondess Hadj Fredj (5), Amal Guesmi (1), Hana Oueslati (1), Malek Dabboussi (1), Manel Zouaoui (1), Chayma Kasmi (6), Zayneb Ben Mahmoud (7), Ines Kammoun (3), Taieb Messaoud (8), Amina Bibi (9)

1. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéïnémies, diabète et hormones- Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire -Tunis- Tunisie., Faculté des Sciences de Tunis (FST), TUNIS, Tunisie
2. 1. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéïnémies, diabète et hormones- Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire -Tunis- Tunisie., Faculté de Pharmacie de Monastir, Tunisie, TUNIS, Tunisie
3. Service d'endocrinologie et des maladies métaboliques, Institut national de nutrition et des technologies alimentaires -Tunis- Tunisie., Faculté de Médecine de Tunis, TUNIS, Tunisie
4. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire - Laboratoire de recherche LR00SP03 -Hôpital d'enfants Béchir Hamza -Tunis - Tunisie., Faculté des Sciences de Tunis (FST), TUNIS, Tunisie
5. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire - Laboratoire de recherche LR00SP03 -Hôpital d'enfants Béchir Hamza -Tunis - Tunisie., Faculté des sciences de Tunis (FST), TUNIS, Tunisie
6. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéïnémies, diabète et hormones- Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire -Tunis- Tunisie., Faculté des Sciences de Bizerte, Tunisie, TUNIS, Tunisie
7. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéïnémies, diabète et hormones- Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire -Tunis- Tunisie., Faculté des sciences de Tunis (FST), TUNIS, Tunisie
8. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire - Laboratoire de recherche LR00SP03 -Hôpital d'enfants Béchir Hamza -Tunis - Tunisie., Faculté de Pharmacie de Monastir, Tunisie, TUNIS, Tunisie
9. Laboratoire de biologie clinique- Unité de recherche 17SP10 : Biologie moléculaire appliquée à l'étude des hyperlipoprotéïnémies, diabète et hormones- Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire -Tunis- Tunisie., Faculté de Pharmacie de Monastir, Tunisie, TUNIS, Tunisie

Mots clefs : hyperparathyroïdie familiales, gène *MEN1*, c.496C>A Gln166Lys et c.758C>T Ser253Leu, effet pathogène

Résumé :

L'hyperparathyroïdie primitive (HPT), reconnue comme étant la troisième endocrinopathie, est souvent diagnostiquée devant une découverte fortuite d'une hypercalcémie ou devant une complication comme une ostéoporose ou une lithiase rénale. Elle est caractérisée par une lésion initiale parathyroïdienne qui est responsable d'une augmentation de la synthèse et de la sécrétion de la parathormone (PTH). Cette dernière est responsable des altérations du métabolisme phospho-calcique et de ses conséquences sur le tissu osseux, dont la résultante la plus caractéristique est l'hypercalcémie. L'HPT est due à la présence d'un adénome parathyroïdien unique dans 80% des cas, d'une hyperplasie de plusieurs glandes dans 10 à 20% des cas et d'un carcinome parathyroïdien dans 1% des situations.

Les HPT familiales (HPTF) représentent à nos jours 5 à 10% de l'ensemble des HPT. Celles-ci apparaissent dans un contexte de néoplasie endocrine multiple (NEM) de type 1, de type 2A ou de type 4 ou de syndrome HPT-tumeur de la mâchoire. Elles peuvent aussi être évoquées lors d'une hypercalcémie hypocalciurique familiale ou isolée (FIHP-familial isolated hyperparathyroidism). L'enquête génétique doit être orientée par l'anamnèse et les constatations cliniques.

L'objectif de ce présent travail était le diagnostic moléculaire d'une HPTF évoquée dans une famille Tunisienne composée de six membres atteints d'hyperparathyroïdie sur deux générations. Le diagnostic de NEM1 a été évoqué en présence de signes cliniques et biologiques en faveur d'une hyperparathyroïdie avec une anamnèse familiale.

L'étude moléculaire du gène *MEN1* a été réalisée par séquençage direct sur analyseur automatique de type ABI Prism 310. Une modélisation bioinformatique des variations nucléotidiques identifiées a été également effectuée par logiciel SIFT, Polyphen2, SwissPdb Viewer, I-Mutant, SMD ainsi que Phyre2.

Deux variations de séquences ont été retrouvées à l'état hétérozygote chez tous les membres de la famille: c.496C > A Gln166Lys et c.758C > T Ser253Leu. La première étant décrite pour la première fois dans le monde.

Les résultats de la modélisation bioinformatique ont démontré que la Gln166 de la ménine est conservée chez toutes les espèces analysées et que la nouvelle variation c.496C > A Gln166Lys -localisée au niveau de l'exon 3 du gène *MEN1*- modifie fortement la stabilité structurale de la ménine. Par ailleurs, l'analyse bioinformatique de la variation c.758C > T Ser253Leu a écarté l'effet pathogène de celle-ci et l'a identifiée comme étant un polymorphisme neutre.

Notre étude moléculaire réalisée pour la première fois en Tunisie a permis de mettre à jour le registre des mutations du gène *MEN1* et constitue une étape essentielle dans la compréhension des phénotypes et dans l'établissement des corrélations phénotype-génotype pour une meilleure prise en charge.

#20415 : Syndrome tricho-rhino-phalangien de type I : Description clinique et moléculaire chez 15 cas non apparentés

Auteurs :

Alexia Bourgois (1), Varoona Bizaoui (2), Kara Ranguin (2), Thibaud Armand (3), Stéphanie Arpin (4), Dominique Bonneau (5), Salima El Chehadeh (6), Nicolas Gruchy (2), Laetitia Lambert (7), Lydia Lichtenberger (8), Michèle Mathieu (9), Gilles Morin (9), Nicolas Richard (2), Elise Schaefer (6), Manon Godin (2), Marion Gerard (2), Arnaud Molin (2)

1. Génétique clinique, CHU Caen, Caen, France
2. Génétique, CHU Caen, Caen, France
3. Génétique, CHU Lyon HCL, Lyon, France
4. Génétique, CHRU Tours, Tours, France
5. Génétique, CHU Angers, Angers, France
6. Génétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
7. Génétique, CHU Nancy, Nancy, France
8. Pédiatrie, CHU Amiens, Amiens, France
9. Génétique, CHU Amiens, Amiens, France

Mots clefs : tricho-rhino-phalangien, TRPS1, retard de croissance intra utérin, retard statural, déficience intellectuelle, réarrangements

Résumé :

Le syndrome tricho-rhino-phalangien (TRPS) de type I (MIM190350) est un syndrome malformatif autosomique dominant associant une dysmorphie faciale avec anomalies capillaires (cheveux fins et clairsemés qui poussent lentement) et nez bulbeux et un retard de croissance avec atteinte épiphysaire (extrémités, hanches notamment). Il est dû à des mutations perte de fonction du gène *TRPS1* (8q23.3).

Il existe deux autres sous-types de TRPS :

- le type II, caractérisé par l'existence d'exostoses multiples, est causé par des microdélétions 8q23 emportant les gènes *TRPS1* et *EXT1*
- le type III, également causé par des mutations du gène *TRPS1*, dont le phénotype est plus sévère.

L'objectif est de décrire le phénotype et le génotype des patients atteints de TRPS I à partir de l'étude rétrospective multicentrique d'une cohorte de 15 patients.

La cohorte comprend 5 hommes et 10 femmes avec un âge médian de 27 ans. 4 cas sont sporadiques et 11 cas familiaux, avec un âge médian au diagnostic de 19 ans. Nous rapportons 5 mutations faux-sens, localisées dans les exons 6 et 7, 4 *frameshift* dans les exons 3 à 7, 2 non sens et 1 mutation intronique. Trois réarrangements intragéniques (2 délétions et 1 duplication) ont été détectés par analyse du profil de couverture en séquençage massif en parallèle et confirmés par MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*).

Le phénotype de la cohorte comprend les éléments classiquement observés dans le TRPS I : un retard statural allant jusqu'à -3DS (n=6/15), des brachydactylies et brachymétacarpies (n=9/15), des épiphyses en cône (n=5/15) et une dysmorphie avec cheveux fins et clairsemés, un nez bulbeux et un front haut (respectivement n=8/15, 5/15 et 4/15).

Un retard psychomoteur est présent chez les 3 patients ayant un réarrangement intragénique de *TRPS1*. La déficience intellectuelle dans le TRPS I est rapportée à une fréquence égale à celle de la population générale. Aucune corrélation phénotype-génotype claire n'a été établie jusqu'à présent.

Un retard de croissance intra utérin (RCIU) est observé chez 4 patients sur les 7 pour qui des données anténatales étaient disponibles, bien que cet élément n'ait été rapporté qu'une fois dans la littérature.

Une étude prospective de plus grande envergure paraît nécessaire afin de préciser si le RCIU et la déficience intellectuelle font partie intégrante du TRPS I et de mieux comprendre la relation phénotype-génotype dans ce syndrome.

#20311 : Diagnostic pré-implantatoire (DPI) pour une patiente atteinte d'un syndrome de Peutz-Jeghers causé par une délétion de novo dans le gène STK11 : contribution du NGS

Auteurs :

Victoria Viart (1), Carole Corsini (2), Stéphanie Plaza (1), Florielle Saguet (1), Sandie Mereuze (1), Stéphanie Baert-Desurmont (3), Tal Anahory (4), Samir Hamamah (5), Pascal Pujol (6), Christine Coubes (6), Marjolaine Willems (6), Anne Girardet (1, 7)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. département de génétique médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rouen, Rouen, France
4. Département de Gynécologie Obstétrique, CHRU Montpellier, Montpellier, France
5. Département de Biologie de la Reproduction et du Développement, CHRU Montpellier, Montpellier, France
6. département de génétique médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
7. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, Université de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Diagnostic pré-implantatoire, DPI, syndrome de Peutz-Jeghers, mutation de novo, NGS

Résumé :

Une demande de diagnostic pré-implantatoire (DPI) a été adressée au centre de DPI de Montpellier pour un couple dont la conjointe était atteinte d'un syndrome de Peutz-Jeghers lié à une délétion *de novo* dans le gène *STK11*. Cette délétion incluant l'exon 8 et ses régions introniques flanquantes avait été identifiée par QMPSF et NGS au CHU de Rouen. Pour les besoins du DPI, les points de cassure ont été recherchés permettant de caractériser une délétion de 2555 nucléotides (g.1222449_1225004del).

Dans le cas de mutations *de novo*, il est indispensable d'être en mesure d'étudier le variant causal lors du DPI. Grâce à l'identification des points de cassure, nous avons déterminé et testé des amorces permettant d'amplifier des fragments de 142 pb et de 122 pb correspondant respectivement à l'allèle porteur de la délétion et à l'allèle sauvage. Afin d'associer l'étude directe de la délétion à l'un des 2 haplotypes de la conjointe le jour du DPI, nous avons réalisé -sur l'ADN génomique du couple et de leurs parents respectifs- une étude de ségrégation familiale de 8 marqueurs microsatellites situés de part et d'autre du gène *STK11*. Les résultats ont montré une informativité totale pour 4 marqueurs et une semi-informativité pour 2 marqueurs quel que soit l'haplotype associé à la délétion. Le protocole de PCR multiplex associant diagnostic direct et indirect a ensuite été validé sur cellules uniques nous permettant d'accéder à la demande de DPI de ce couple, selon les conditions définies dans notre centre pour les couples chez lesquels la femme présente une mutation *de novo* : i) analyser au moins 6 embryons le jour du DPI ii) analyser 2 cellules par embryon et, iii) identifier au moins 2 embryons porteurs de la délétion, afin d'optimiser les chances d'assignation de la délétion à l'un des haplotypes de la patiente.

Lors du 1er cycle de DPI, 2 embryons ont été obtenus et ont donc été vitrifiés à J3. Le 2^{ème} cycle de DPI a permis l'obtention de 4 embryons vitrifiés à J2 pour des raisons de planning, puis décongelés lors d'un cycle ultérieur. Le DPI de ces 4 embryons n'a malheureusement pas eu lieu en raison d'un retard important de développement (moins de 6 cellules à J3), mais leur analyse (hors DPI) a malgré tout permis d'assigner la délétion à l'un des 2 haplotypes de la patiente. Le DPI des 2 embryons vitrifiés restants a ensuite été réalisé en toute fiabilité mais aucun n'était candidat pour un transfert embryonnaire.

Notre centre de DPI accepte depuis déjà plusieurs années les couples présentant un variant ponctuel *de novo* aussi bien chez les hommes (étude de *sperm typing* préalable au DPI) que chez les femmes. Depuis la mise en place d'un test de DPI pour syndrome de Peutz-Jeghers chez ce couple, nous sommes en mesure d'accepter également les demandes de DPI avec grande délétion *de novo* chez les femmes, à condition que les points de cassure aient été préalablement identifiés.

Pièce jointe : Abstract_Assises_Victoria_Ayrault.docx

#20464 : Délétion homozygote en aval du gène SHOX chez une femme atteinte de dysplasie mésomélisque de Langer**Auteurs :**

Héla Sassi (1), Yasmina Elaribi (1), Houweyda Jilani (1), Syrine Hizem (1), Imen Rejeb (1), Meriem Chaouch (1), Faten Hsoumi (1), Cédric Le Caignec (2), Lamia Ben Jemaa (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de cytogénétique, CHU de Nantes-Institut de Biologie, Nantes, France

Mots clefs : dysplasie de Langer, SHOX, délétion

Résumé :

Langer mesomelic dysplasia (LMD) is a rare congenital dysplasia, characterized by severe disproportionate short stature with mesomelic limb shortening, thick and curved radius and tibia and aplasia or severe hypoplasia of ulna and fibula. Associated malformations are rarely reported and intellect is normal in all affected subjects reported to date. It is a recessive syndrome caused by homozygous or compound heterozygous defects of *SHOX* gene or its enhancer.

We report the case of a 25-year-old woman, from healthy and related parents, referred to our genetic department for short stature and limb deformities. She had one sister and two paternal cousins with the same phenotype. She had no dysmorphic features, normal dermatoglyphics, clinodactyly of the 5th toes, long toes and joint laxity. The radiographs showed symmetrical shortening of the forearm bones, the tibiae and fibulae with bilateral genu varum. Array CGH and MLPA were performed to the proband and her parents.

We identified a homozygous deletion that does not encompass *SHOX* coding sequences. The 165 kb deletion is located downstream from *SHOX* gene, including several conserved non-coding elements (NCE) (from NCE 3 to NCE5, NCE7 and NCE9). Her parents were heterozygous for the same defect.

To the best of our knowledge, the present report is the first case of homozygous deletion in the downstream enhancer region of *SHOX* gene in a Tunisian patient with LMD. Molecular genetic testing allows us to propose a proper genetic counseling to the family.

#20322 : Diagnostic pré-implantatoire (DPI) : lorsque la consanguinité complique le diagnostic

Auteurs :

Stéphanie PLAZA (1), Florielle SAGUET (1), Sandie MEREUZE (1), Aliya SHMUKHAMETOVA1 (1), Victoria VIART (1), Garance VERRIERE (1), Michel KOENIG (1), Marjolaine WILLEMS (2), Anne GIRARDET (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU MONTPELLIER, MONTPELLIER, France

2. Service de Génétique Médicale, CHU MONTPELLIER, MONTPELLIER, France

Mots clefs : Diagnostic pré-implantatoire, consanguinité, transmission autosomique récessive, marqueurs microsatellites, informativité

Résumé :

Une demande de diagnostic pré-implantatoire (DPI) a été adressée au centre de DPI de Montpellier pour un couple présenté comme étant apparenté (cousins germains), ayant eu deux enfants atteints de la maladie de Tay-Sachs. Le diagnostic moléculaire réalisé chez les enfants avait mis en évidence la présence à l'état homozygote du variant c.1424C > G dans l'exon 13 du gène *HEXA* localisé en 15q23-q24, chaque parent étant hétérozygote pour ce variant.

En France, le DPI est basé principalement sur l'étude de la ségrégation de marqueurs microsatellites dans ou à proximité des gènes faisant l'objet du DPI, associé, lorsque cela est possible à la détection du/des variant(s) délétère(s). S'agissant de la première demande de DPI pour cette maladie à Montpellier, aucun test de PCR multiplex à l'échelle unicellulaire n'avait encore été mis au point. Des amorces correspondant à 12 marqueurs microsatellites situés de part et d'autre du gène *HEXA* et à moins d'1Mb du gène (en accord avec le guide de bonnes pratiques internationales du DPI) ont donc été commandées et testées sur les ADN de la famille de manière à identifier des marqueurs informatifs utilisables pour le DPI du couple. Nous nous attendions à identifier, comme c'est le cas chez la plupart des couples apparentés, un haplotype lié au variant causal commun aux deux membres du couple. Dans cette famille, de manière inattendue, le conjoint s'est révélé être homozygote pour les 12 marqueurs testés. L'étape de faisabilité génétique pré-DPI s'est poursuivie en étudiant des SNP ainsi que d'autres marqueurs microsatellites plus éloignés du gène *HEXA* : au total, 32 marqueurs microsatellites et 8 SNPs répartis sur environ 4 Mb ont été testés mais le conjoint était encore homozygote pour tous.

Trois haplotypes sur 4 étant totalement identiques, il a été décidé, après discussion avec le couple, que seuls les embryons ayant hérité de l'haplotype maternel lié au gène sain seraient candidats au transfert, ramenant le pourcentage d'embryons théoriquement transférables de 75% à 50%. Comme nous nous y attendions, nous avons également eu confirmation par le couple que les parents du conjoint étaient cousins au deuxième degré.

Concernant la mise au point, en raison de la fréquence élevée d'anomalies du nombre d'haplotypes observée lors des DPI, nous avons recherché et inclus dans le test de PCR un marqueur microsatellite localisé sur le chromosome 15 mais éloigné du gène *HEXA*, pour lequel le couple présentait 4 allèles différents, permettant de s'assurer de la présence de seulement 2 haplotypes dans les embryons.

En cas de consanguinité chez les couples demandeurs d'un DPI, nous serons à l'avenir plus vigilants sur des possibles liens de parenté supplémentaires dans les familles respectives des 2 membres du couple, car les excès de consanguinité compliquent beaucoup les mises au point des DPI.

Pièce jointe : Abstract_Assises_Stéphanie_Plaza.docx

#19861 : Un variant intronique profond du gène F8 fréquent conduit à une hémophilie A mineure.

Auteurs :

Pierre BOISSEAU (1), Gaelle LANDEAU TROTTIER (1), Thomas BESNARD (1), Mathilde GIRAUD (1), Stéphane BEZIEAU (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France

Mots clefs : hémophilie A mineure, variant intronique profond fréquent

Résumé :

Dans la cohorte d'hémophiles mineurs du CHU de Nantes, le séquençage des 26 exons du gène du facteur VIII ainsi que des jonctions introns/exons et des régions 5' et 3' UTR permettait de retrouver une variation de séquence délétère pour environ 80% des patients.

A la publication de Yohann Jourdy et al. 2018¹ décrivant une délétion d'une série de thymine en intron 13 à distance de l'exon (c.2113+461_2113+473del) responsable de 50% des hémophilies A mineure sans mutation dans leur cohorte, nous avons décidé de tester cette délétion sur les 95 cas index hémophiles sans mutation de notre cohorte.

Soixante sept patients ont été retrouvés délétés sur les 95 analysés (soit 70% de nos hémophiles A mineurs sans mutation) et 180 apparentés issus de ces familles avec une parfaite ségrégation délétion/pathologie.

Les résultats de l'équipe de Lyon sont donc reproductibles et ne concerne pas un effet fondateur localisé dans l'est de la France.

La queue polyT de la séquence AluY antisens de l'intron 13 du gène *F8* serait le site de liaison du complexe hnRNP C (heterogeneous nuclear RiboNucleoProteins) qui sont les *silencers* les plus importants pour empêcher l'exonisation des séquences Alu². La délétion de ce poly(T) abolirait la fixation du hnRNP C et permettrait ainsi l'exonisation de la séquence Alu. Un mécanisme similaire a été démontré sur un cas d'hyperphénylalaninémie chez lequel une délétion totale du poly(T) dans l'intron 2 du gène *PTS* a permis l'inclusion d'une séquence AluSq dans les transcrits *PTS*³.

¹ Recurrent F8 Intronic Deletion Found in Mild Hemophilia A Causes Alu Exonization.

Yohann Jourdy, Alexandre Janin, Mathilde Fretigny, Anne Lienhart, Claude Négrier, Dominique Bozon, Christine Vinciguerra. The American Journal of Human Genetics 102, 1-8, February 1, 2018

² Direct competition between hnRNP C and U2AF65 protects the transcriptome from the exonization of Alu elements. Zarnack K., Konig, J. Tajnik, M. Martincorena, I. Eustermann, S. Stevant, I. Reyes, A. Anders, S. Luscombe, Ule (2013). Cell 152, 453-466.

³ Disease-causing mutations improving the branch site and polypyrimidine tract: pseudoexon activation of LINE-2 and antisense Alu lacking the poly(T)-tail. Meili, D., Kralovicova, J., Zagalak, J., Bonafe', L., Fiori, L., Blau, N., Thöny, B., and Vorechovsky, I. (2009). Hum. Mutat. 30, 823-831.

Pièce jointe : 2001 poster HA intron 13.pdf

#20540 : Le diagnostic moléculaire de la myopathie « Gamma-sarcoglycanopathie »: Recherche de la mutation c.525delT par séquençage**Auteurs :**

MOUNA BENAICHA (1), meriem elqabli (2), abdelmajid MOUSSAOUI (3), NISRINE ABOUSSAIR (4)

1. service de Génétique, chu mohammed VI de Marrakech, marrakech, Maroc
2. SERVICE DE Génétique, chu mohammed VI marrakech, MARRAKECH, Maroc
3. service de Génétique, chu mohammed VI de Marrakech, chu mohammed VI de Marrakech, marrakech, Maroc
4. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, MARRAKECH, Maroc

Mots clefs : gamma-sarcoglycanopathie, gène SGCG, mutation del525T, séquençage.

Résumé :

La gamma-sarcoglycanopathie est une myopathie des ceintures rare à transmission autosomique récessive, due à des mutations dans le gène de la gamma-sarcoglycane (γ -SG). La mutation la plus fréquemment rencontrée est la mutation c. 525delT. Cliniquement, elle est définie par l'existence d'une atrophie musculaire, une formule histopathologique (nécrose/régénération) et une augmentation du taux de la créatinine phosphokinase (CPK).

Notre étude a porté sur une série de 19 patients marocains qui ont été adressés au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour suspicion de Myopathie des ceintures. La mutation del525T est recherchée par séquençage de l'exon 6 du gène SGCG. Sur les 19 patients étudiés, la mutation del525T a été identifiée chez 5 patients à l'état homozygote (soit 26,32%).

Il est important de noter que notre étude nous a permis de souligner l'importance du diagnostic moléculaire pour faciliter et établir un conseil génétique adéquat.

#20357 : Urticaires neutrophiliques fébriles due à des mutations en mosaïque de NLRP3 : une nouvelle entité avec des implications thérapeutiques**Auteurs :**

Eman Assrawi (1), Camille Louvrier (2), Clémence Lepelletier (3), Sophie Georgin-Lavialle (4), Jean-David Bouaziz (3), Fawaz Awad (1), Florence Moinet (5), Philippe Moguelet (6), William Piterboth (7), Claire Jumeau (1), Laetitia Cobret (1), Elma El Khouri (1), Bruno Copin (8), Philippe Duquesnoy (1), Marie Legendre (1), Serge Amselem (9), Irina Giurgea (10)

1. UMR_S933 INSERM / Sorbonne Université, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
2. Génétique , Hôpital Trousseau, paris, France
3. Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis , Paris, France
4. Service de Médecine Interne , Hôpital TENON, Paris, France
5. Service de Médecine Interne , CHU de Martinique, Fort de France, France
6. Unité d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital TENON, Paris, France
7. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
8. génétique, hopital trousseau, paris, France
9. Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
10. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Mots clefs : Urticaires neutrophiliques fébriles; mutations en mosaïque; NLRP3; thérapeutique

Résumé :

Introduction. L'urticaire neutrophilique fébrile (UNF) peut être associée à des maladies autoinflammatoires monogéniques (cryopyrinopathies liées à des mutations du gène *NLRP3*) ou multifactorielles (maladie de Still ou syndrome de Schnitzler). L'objectif de cette étude a été d'identifier les bases moléculaires et cellulaires d'une UNF à début tardif associée à un syndrome inflammatoire systémique et de proposer un traitement adapté.

Patients et Méthodes. Nous avons étudié deux patients non apparentés âgés de plus de 60 ans, sans antécédents familiaux, atteints d'UNF chronique d'étiologie inconnue. Le séquençage du gène *NLRP3* (NGS, > 500X) a été réalisé sur l'ADN extrait du sang total, des monocytes, des polynucléaires neutrophiles, des lymphocytes B et T (obtenus par tri cellulaire à partir du sang périphérique) et des cellules épithéliales urinaires et buccales. L'impact fonctionnel des mutations identifiées a été déterminé par l'étude de l'activation de l'inflammasome NLRP3 à travers la quantification de la formation de ASC-specks et le dosage de l'IL1 β sécrété dans deux modèles cellulaires (HEK293T exprimant de manière stable la protéine fluorescente ASC et la caspase 1 et THP1 respectivement).

Résultats. Les deux patients ont débuté, après l'âge de 45 ans, une UNF caractérisée par des poussées urticariennes de moins de 24 heures, survenant tous les 2 à 3 jours, non prurigineuses, non déclenchées par le froid. Ces poussées étaient associées à de la fièvre et des arthralgies. Les deux patients ont développé une surdité de perception diagnostiquée vers l'âge de 50 et 60 ans respectivement. Dans les deux cas, la biopsie cutanée a mis en évidence un riche infiltrat dermique de polynucléaires neutrophiles sans vascularite. Une mutation somatique, en mosaïque, de *NLRP3* (une délétion en phase et une mutation faux-sens, respectivement) a été identifiée chez chaque patient. Malgré le début tardif de la maladie, ces mutations étaient présentes en mosaïque (entre 5 et 13%) dans tous les sous-types cellulaires étudiés, suggérant un événement mutationnel survenu précocement durant le développement embryonnaire. Les études fonctionnelles réalisées *in vitro* ont démontré l'effet gain de fonction des deux mutations identifiées sur l'activation de l'inflammasome NLRP3. Alors que les traitements usuels de l'urticaire chronique (antihistaminiques, immunosuppresseurs) avaient échoué, un traitement par anti-IL1 initié sur la base de ces résultats a permis une rémission complète.

Conclusion. Une UNF associée à un syndrome inflammatoire systémique doit faire rechercher une mutation en mosaïque de *NLRP3* afin de préciser le diagnostic et de guider au mieux la prise en charge thérapeutique. Malgré le début tardif de la maladie, la distribution du mosaïcisme somatique dans tous les types cellulaires étudiés suggère que l'événement mutationnel est survenu très précocement.

Pièce jointe : Assrawi et al UNF-NLRP3.docx

#20089 : EYA3 : nouveau gène candidat pour le Spectre Oculo-Auriculo-Vertébral.

Auteurs :

Angèle Tingaud-Sequeira (1), Aurélien Trimouille (2), Christophe Hubert (3), Estelle Lopez (1), Benoît Arveiler (4), Didier Lacombe (4), Caroline Rooryck-Thambo (4)

1. MRGM, Inserm U-1211, Inserm-Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin-CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. MRGM, Inserm U-1211, Inserm-Université de Bordeaux, bordeaux, France
4. MRGM, Inserm U-1211/Service de Génétique Médicale, Inserm-Université de Bordeaux/ Hôpital Pellegrin-CHU Bordeaux, bordeaux, France

Mots clefs : syndrome de Goldenhar, spectre Oculo-Auriculo-vertébral, EYA transcriptional coactivator and phosphatase 3, EYA3

Résumé :

Le syndrome de Goldenhar ou spectre Oculo-Auriculo-Vertébral (OAVS) est une pathologie complexe du développement caractérisé principalement par une microsomie hémifaciale, des anomalies asymétriques de l'oreille, des yeux et des malformations vertébrales. Son étiologie est complexe et ainsi, des facteurs génétiques et environnementaux sont identifiés. L'étiologie génétique comprend quelques CNVs (dup4p16.1, del22q11) et un gène (*MYT1*), mais seuls quelques patients bénéficient à ce jour d'un diagnostic moléculaire (< 5%). Par ailleurs, quelques gènes candidats sont aujourd'hui avancés (*OTX2*, *ZYG11B*, *AMIGO2*) mais ne concernent qu'un ou deux cas isolés et la causalité reste souvent difficile à confirmer.

En utilisant une stratégie de séquençage d'exome dans une forme familiale associée au criblage par NGS ciblé de 94 patients OAVS, un variant faux-sens récurrent dans le gène *EYA3* a été identifié chez deux familles non apparentées. Ce variant remplace un résidu asparagine en position 312 en une sérine. De manière intéressante, ce gène appartient à la même famille que le gène *EYA1* associé lui au syndrome Branchio-Oto-Rénal. Cette pathologie est considérée comme un diagnostic différentiel de l'OAVS. *EYA3* est donc considéré comme un gène candidat fort pour cette pathologie.

Les études de ségrégation dans les deux familles ont révélé une pénétrance incomplète et une expressivité variable de ce variant avec des individus présentant un phénotype OAVS complexe des d'autres membres de la famille présentant des sinus pré-auriculaires isolés et des individus asymptomatiques.

Le variant a été étudié dans des modèles cellulaires afin de déterminer son caractère pathogène, et ces expériences ont mis en évidence une demi-vie allongée de la protéine mutée. De plus, nous avons identifié des anomalies craniofaciales spécifiques chez les embryons de poisson zèbre après inhibition de l'expression du gène homologue, *eya3*, par action de morpholinos, avec un phénotype comparable avec les modèles animaux précédents, soutenant son implication dans le développement anormal des structures atteintes chez les patients OAVS. Enfin, des études de protéomique sur cellules HeLa après inhibition de l'expression du gène *EYA3* montrent entre autres une dérégulation de la voie de réparation à l'ADN, de la voie de phosphorylation oxydative, de la voie de polyubiquitination des protéines ainsi qu'une activation de la voie de l'acide rétinolique en particulier via RXR.

En conclusion, *EYA3* est un nouveau gène associé à l'OAVS dans un contexte de pénétrance incomplète. L'hypothèse d'un facteur environnemental est envisagée ce qui pourrait également expliquer la variabilité du phénotype.

#19889 : Phénotype atténué dans 2 familles avec mutations du gène KCNJ10

Auteurs :

Lise LARRIEU (1), Yosra HALLEB (2), Morgane POINTAUX (2), Alain VERLOES (3), Claire EWENCZYK (4), Claire GUISSART (1), 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. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier, Montpellier, France
3. Département de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France, Paris, France
4. Département de Génétique Clinique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France, Paris, France

Mots clefs : KCNJ10, Ataxie, Epilepsie, NGS, Mini-Exome

Résumé :

Les mutations dans le gène *KCNJ10* sont à l'origine d'une maladie autosomique récessive appelée syndrome EAST/SESAME (**E**pilepsy, **A**taxia, **S**ensorineural deafness, salt-wasting renal **T**ubulopathy). Il se caractérise par une épilepsie, une surdité neuro-sensorielle, une ataxie, un retard mental et un déséquilibre électrolytique.

Il s'agit d'une maladie multi-systémique rare dont le spectre est encore mal connu.

Nous avons identifié 2 familles avec mutations du gène *KCNJ10*, qui présentent un phénotype clinique particulier.

Dans la première famille, le patient et sa sœur présentent une ataxie spastique, une épilepsie et un retard psychomoteur ayant démarré durant les premières années de vie (âge actuel : 22 et 13 ans). Aucun problème auditif n'a été mis en évidence.

Dans la seconde famille, la patiente présente une épilepsie depuis l'âge de 13 ans et une ataxie spastique depuis l'âge de 20 ans. Son frère présente un phénotype atténué avec une épilepsie de 1 à 30 ans, une dysarthrie ayant débuté à 25 ans et une ataxie à partir de 30 ans. Pour le cas index de la famille 2 des analyses biochimiques, une mesure des potentiels évoqués auditifs et des émissions auto-acoustiques ont été réalisés et se sont avérés normaux.

Dans la première famille, nous avons identifié la mutation p.Arg65Cys déjà décrite à l'état homozygote chez les 2 enfants atteints.

Dans la seconde famille, les deux enfants atteints sont homozygotes pour la nouvelle mutation p.Ile209Thr.

Ces deux mutations sont prédites pathogéniques par les programmes SIFT et PolyPhen2 et ont été trouvées à l'état hétérozygote chez les parents des deux familles.

L'association d'un phénotype clinique atténué à ces deux mutations faux-sens peut s'expliquer par une activité résiduelle de la protéine Kir4.1 (inwardly rectifying potassium channel) qui conduit à un phénotype moins sévère.

Nos résultats révèlent un nouveau phénotype lié aux mutations de *KCNJ10* caractérisé par une ataxie spastique, une épilepsie et une absence de surdité et de déséquilibre électrolytique.

#19772 : Recherche d'association génétique entre le polymorphisme (C/T) du gène PTPN22 et la susceptibilité aux maladies auto-immunes Thyroïdiennes dans la population Tunisienne

Auteurs :

Ghazi Chabchoub (1), Mouna Mnif (2), Ahmed Rebai (3), Mohamed Abid (2), Leila Keskes (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

2. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalo-universitaire Hédi Chaker de Sfax, Sfax, Tunisie

3. Unité de Bioinformatique, Centre de Biotechnologie de Sfax, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Auto-immunité, Susceptibilité génétique, Maladie auto-immune thyroïdienne

Résumé :

Le gène PTPN22 joue un rôle dans l'auto activation des lymphocytes T grâce à l'interaction avec une protéine kinase inhibitrice (Csk). Ce gène contient un polymorphisme fonctionnel C1858T au niveau de l'exon 14 qui transforme un résidu arginine à la position 620 en tryptophane (R620W). Pour chercher une possible contribution de ce gène dans la composante génétique des maladies auto-immunes thyroïdiennes (MAIT), nous avons réalisé une étude familiale composé de 15 familles tunisiennes atteintes de MAIT dont 76 patients et une étude cas témoins composé de 150 patients atteints de MAIT et 150 témoins de la population générale. L'analyse moléculaire de ce polymorphisme a été réalisée par la technique PCR-RFLP utilisant l'enzyme de restriction *XcmI*. L'analyse statistique par le test Family-based association (FBAT-e option) n'a pas montré une association significative entre le polymorphisme R620W et la susceptibilité aux MAIT dans les familles d'étude selon les trois modèles; dominant, récessif et additif ($p=0,3$). En plus, l'analyse de ce polymorphisme dans le sous groupe d'individus portant l'allèle HLA-DR11 n'a pas montré une association significative suggérant une absence d'interaction entre le gène PTPN22 et le locus HLA-DR ($p=0,06$). De même, la distribution des fréquences alléliques utilisant le test Chi2 n'a pas montré de différence significative entre malades atteints de MAIT et témoins ($p=0,07$). De même l'analyse par le test GRR n'a pas montré une association significative d'un génotype avec la maladie pour le polymorphisme étudié ($p=0,2$). L'analyse de ce polymorphisme en fonction de l'étiologie (maladie de Basedow et thyroïdite de Hashimoto) n'a pas montré une association significative ($p > 0,05$). Nos résultats ont montrés l'absence d'association entre le polymorphisme R620W du gène PTPN22 et les MAIT dans les deux études suggérant le rôle mineur de ce gène dans l'hérédité de ces maladies dans la population tunisienne.

#19923 : Description du premier patient atteint d'encéphalopathie épileptique porteur d'une variation homozygote dans le gène OTUD7A**Auteurs :**

Philippine Garret (1, 2), Geoffroy Delplancq (1, 3), Frédéric Ebstein (4), Blandine Doziers-Puyravel (5), Aïcha Boughalem (2), Stéphane Auvin (5, 6), Yannis Duffourd (1, 7), Barbara Zieba (4), Sana Mahmoudi (8), Karun Singh (9), Christel Thauvin-Robinet (1, 3), Jean-Marc Costa (2), Elke Krüger (4), Detlef Trost (2), Alain Verloes (6, 10), Laurence Faivre (1, 11), Antonio Vitobello (1, 7)

1. UMR1231 GAD Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
2. Génétique Humaine, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
3. Centre de Référence maladies rares « déficiences intellectuelles de cause rare » – centre de génétique, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie, Universitätsmedizin Greifswald, Greifswald, Allemagne
5. Service de Neurologie pédiatrique, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. UMR1141 INSERM, Université Paris Diderot – Sorbonne Paris Cité, Paris, France
7. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
8. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier René-Dubos, Pontoise, France
9. Stem Cell and Cancer Research Institute – Department of Biochemistry and Biomedical Sciences, McMaster University, Hamilton, Canada
10. Genetics Department, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
11. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs » – centre de génétique, FHU-TRANSLAD – CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : microdélétion 15q13.3, CHRNA7, OTUD7A, Protéasome

Résumé :**Introduction**

Le syndrome microdélétionnel 15q13.3 (*OMIM #612001*), est caractérisé par des troubles neurocognitifs d'importance variable, pouvant aller d'une absence de symptomatologie à une déficience intellectuelle de différents degrés, une prédisposition à une épilepsie, et des particularités faciales et des extrémités. Une symptomatologie plus sévère est rapportée dans de rares cas avec microdélétion 15q13.3 homozygote. Le gène *CHRNA7* (*OMIM *118511*), codant pour le récepteur nicotinique alpha-7 à l'acétylcholine (nAChR), a longtemps été considéré comme le gène candidat à l'origine des manifestations neuropsychiatriques associé à ce syndrome. Cependant, de récentes études sur modèles murins ont remis en cause son rôle dans le phénotype associé à la microdélétion 15q13.3, et mis en avant l'implication du gène voisin *OTUD7A/CEZANNE2* (*OMIM *612024*), codant pour une déubiquitine à domaine OTU (ovarian tumor), dans le phénotype neurocognitif des souris porteuses de la délétion hétérozygote synténique (*Df(h15q13)/+*). Ainsi le gène *OTUD7A* représente le meilleur candidat pour expliquer le dysfonctionnement cérébral observé en cas de microdélétion homozygote ou hétérozygote de la région 15q13.3 du génome humain.

Matériel et méthodes

Un séquençage d'exome en trio a été réalisé chez un patient présentant un retard global sévère du développement, avec troubles de la vision corticale, spasmes puis crises myocloniques généralisées avec des anomalies à l'IRM cérébrale (hypsarythmie).

Résultats

Un variation faux-sens rare à l'état homozygote dans le gène *OTUD7A*: NM_130901.2:c.697C > T, p.(Leu233Phe) a été identifié dans un contexte de consanguinité parentale éloignée. Ce changement d'acide aminé ultra-conservé p.(Leu233Phe), localisé au sein du domaine catalytique OTU est prédit par SIFT et Provenance comme délétère. Les parents et son frère, porteurs de la variation à l'état hétérozygote, présentent des difficultés d'apprentissage.

Des analyses fonctionnelles ont été effectuées afin d'étudier l'impact de cette variation, et ont montré qu'elle était à l'origine d'un dysfonctionnement du protéasome. Cette variation semble être un candidat

solide pour expliquer les manifestations neuropsychiatriques observées chez ce patient.

Discussion

L'identification d'autres patients porteurs de variations bialléliques pathogènes dans ce gène seront nécessaires pour renforcer ces résultats. GeneMatcher a permis une mise en contact avec une équipe du NIH ayant colligé plusieurs patients, allant dans le sens de ces résultats.

Pièce jointe : Assises_2020_OTUD7A_v3.doc

#20073 : Délétion combinée 7p22 et 15q11 : deux cas familiaux de déficience immunitaire étendant le phénotype vers une dysimmunité

Auteurs :

Natacha Sloboda (1), Arthur Sorlin (1), Mylène Valduga (2), Mylène Beri-Dexheimer (2), Claire Bilbault (3), Fanny Fouyssac (4), Aurélie Becker (2), Laëtitia Lambert (1), Céline Bonnet (2), Bruno Leheup (1)

1. Service de Génétique Clinique, CHRU Nancy, Nancy, France
2. Laboratoire de Génétique, CHRU Nancy, Nancy, France
3. Service de Médecine Infantile - Neuropédiatrie, CHRU Nancy, Nancy, France
4. Service d'Oncohématologie pédiatrique, CHRU Nancy, Nancy, France

Mots clefs : 7p22, vascularite, hypogammaglobulinémie, CGH, pathologie dysimmunitaire

Résumé :

Nous rapportons ici deux nouveaux cas familiaux d'association de délétions 15q11 et 7p22, avec une grande variabilité clinique pour la délétion 7p22.

Deux patients d'une fratrie présentaient une translocation familiale déséquilibrée similaire, provenant d'une translocation maternelle équilibrée, avec des délétions de 7p22 et de 15q11 (arr [GRCh37] 7p22.3-p22.2 (42976-3736851) x1, 15q11.1-q11.2 (20172544-24979427) x1).

Nous avons utilisé les techniques d'ACPA, de FISH et du caryotype pour étudier le phénotype des deux patients.

La délétion 7p22 (3,5 Mb) contient 58 gènes, dont plusieurs gènes OMIM. Les patients 1 et 2 ont présenté un retard des d'acquisitions, des particularités morphologiques et une hypogammaglobulinémie, d'expression plus sévère chez le patient 1 que chez le patient 2. Le patient 1 a également été atteint d'une vascularite cérébrale.

Nous discutons ici de l'éventuelle implication des gènes PDGFA, CARD11, LFNG, GPER1 et MAFK, inclus dans la délétion 7p22, dans les caractéristiques cliniques et biologiques de ces deux patients.

Pièce jointe : Del7p - Sloboda N. -abstract Tours v3 - français.docx

#20255 : Conservations des données NGS cliniques: Comparaisons de trois méthodes de compression dans le contexte de la norme ISO15189

Auteurs :

Aurora Perdriau (1), Jean-François Taly (1)

1. Unité de Bioinformatique, Eurofins Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : bioinformatique, NGS, stockage informatique, ISO15189

Résumé :

L'utilisation en routine des techniques de séquençage haut débit entraîne la production d'une quantité considérable de données génomiques. Par données génomiques nous entendons tous les fichiers générés lors de l'analyse bioinformatique. Les plus volumineux sont les fichiers contenant les lectures brutes (FASTQ, 5GB pour un exome 60X), ceux contenant les lectures alignées sur un génome de référence (BAM, 5GB) et finalement ceux contenant les variants annotés (VCF, 10MB). Cette croissance constante des analyses et des données qui en découlent, est à l'origine de deux interrogations concernant le stockage informatique de celles-ci : Quels fichiers doit-on garder et combien de temps ?

La norme ISO15189, à laquelle sont soumis les laboratoires de biologie médicale, indique qu'il est nécessaire de conserver les données brutes de séquençage le temps de deux audits COFRAC (SH-REF02). Le guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA), lui, recommande que les résultats nominatifs, en y incluant les données brutes des automates, soient conservés sans limite de temps. Il apparaît nécessaire de déterminer précisément les besoins afin de déterminer quelles seront les données stockées et d'évaluer les coûts de leur conservation. Il est important de noter que les coûts de stockage ne se limitent pas uniquement au prix du matériel informatique. En effet les ressources humaines nécessaires au maintien de l'infrastructure et de la production de données doivent également être prises en compte. Par exemple, s'il est décidé de ne conserver que les FASTQs et les VCFs et qu'il survient un doute concernant l'appel des variants, il sera nécessaire de consommer des ressources de calcul afin de ré-aligner les lectures avec le même logiciel et dans la même version qu'à l'époque de la première analyse.

Afin d'apporter un premier élément de réponse concernant la problématique de l'espace de stockage, nous avons réalisé un benchmark de trois outils de compression des fichiers FASTQ et BAM. Ces outils sont (i) le CRAM (samtools) recommandé par the Global Alliance for Genomics and Health (GA4GH), (ii) Lena (Enancio) et (iii) PetaSuite (PetaGene) que nous avons pu tester suite à des échanges avec les développeurs.

Chaque outil a été évalué sur plusieurs critères : taille du fichier d'origine par rapport à la taille du fichier compressé, temps d'exécution, nombre de lectures présentes dans chaque fichier compressé et l'intégrité des données après décompression via un md5check.

#20213 : WGS à partir de la salive : des données de qualité et un bon aperçu du microbiome salivaire

Auteurs :

Anthony Francis Herzig (1), Lourdes Velo-Suárez (1), Gaëlle Le Folgoc (1), Anne Boland (2), Marcel Goldberg (3), Marie Zins (3), Jean-François Deleuze (2), Emmanuelle Génin (1, 4)

1. Inserm, Univ Brest, EFS, UMR 1078, GGB, F-29200, Brest, France

2. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Université Paris-Saclay, F-91057, Evry, France

3. UMS 011, Université de Paris, F-94800, Villejuif, France

4. CHU, Brest, F-29200, Brest, France

Mots clefs : WGS, saliva, genotyping repeatability, genotyping errors, salivary microbiome

Résumé :

Here we present a pilot study for the creation of a large genetic reference dataset from individuals across France. For this new dataset, the logistical benefits of data collection at distance using home-use saliva kits are set to be exploited. Our goal here is to establish the suitability of saliva-based whole-genome sequencing (WGS) and to provide an in depth comparison of WGS data ascertained from blood and saliva. To this end, DNA samples from blood and saliva of 39 individuals were sequenced to a depth of 30-40x.

To fully examine the reliability of WGS data from saliva, we complemented a traditional side-by-side comparison of paired WGS variant call sets for each individual by taking into account factors such as bioinformatics tools used and differences in expected sequencing accuracy of genomic regions. We find that variant calls from blood and saliva created using the same bioinformatics tools are more similar to each other compared to sets of variant calls created using different bioinformatics tools but on the same raw data (either from blood or saliva). Additionally, when examining the discordances across many individuals, we observed that the differences between saliva and blood are likely to fall into known regions of the human genome that are typically sequenced with low confidence; and also can be largely accounted for using standard quality control measures.

To fully appraise the observed differences between blood- and saliva-based WGS data, we created experimental pseudo-replicates using two different methods. Firstly, we partitioned raw unaligned read data to create two sets of variant calls (from non-overlapping read sets) for each DNA sample. Secondly, we considered sibling pairs in regions of double haplotype sharing. These two approaches provide insights into the levels of discrepancies that might be expected between repeated sequencing of DNA either from a single extraction or from separate extractions. Through such an analysis, a clear baseline for a comparison between WGS data derived from different sources is given and we demonstrate the wholly unobjectionable quality of WGS data from saliva. Differences between WGS data from saliva and blood of a single individual are shown to be similar to the differences that one would expect between sequencing replicates were an individuals' blood or saliva to be sequenced twice.

Finally, while often highlighted as a weakness of data collected from saliva, the presence of non-human DNA fragments allows us to accurately characterize each individual salivary microbiome in parallel to collecting high quality human WGS data; hence increasing the overall potential of the proposed reference dataset.

Pièce jointe : assises_abstract_GAZEL-ADN_v3.docx

#20368 : Syndrome de Stickler: à propos de 6 patients**Auteurs :**

Hana Fredj (1), mediha trabelsi (1), rym meddeb (1), lilia kraoua (1), faouzi maazoul (1), ridha mrad (1)

1. service des Maladies Congénitales et Hérititaires , Hôpital Charles Nicole à Tunis,Tunisie, tunis, Tunisie

Mots clefs : syndrome de Stickler, séquence de Pierre Robin, atteinte oculaire, atteinte osseuse, atteinte auditive, gène du collagène

Résumé :

Introduction : Le syndrome de Stickler est une pathologie génétique rare, dû à une mutation portant sur l'un des gènes du collagène *COL2A1*, *COL11A1*, *COL11A2*, *COL9A1*. Ce syndrome associe une atteinte oculaire, ostéoarticulaire, une séquence de Pierre Robin plus au moins complète ainsi qu'une atteinte auditive. Vu l'hétérogénéité génétique de ce syndrome, son diagnostic reste essentiellement clinique. But du travail : Etudier les caractéristiques cliniques du syndrome de Stickler chez des patients Tunisiens. Patients et méthodes : Etude clinique de 6 patients suivis au Service des Maladies Congénitales et Hérititaires de l'Hôpital de Charles Nicolle de Tunis, pour un syndrome de Stickler. Résultats : Tous les patients sont de sexe masculin. L'âge moyen à la première consultation était de 2ans et 3mois. Une consanguinité a été notée chez la moitié des patients. L'enquête génétique était négative dans tous les cas. Le motif de consultation était une dysmorphie faciale isolée (1/6), une dysmorphie faciale associée à une atteinte oculaire (3/6) ou une dysmorphie faciale associée à une atteinte osseuse (2/6). Le développement psychomoteur était normal chez tous les patients. Tous nos patients avaient une dysmorphie faciale évocatrice d'un syndrome de Stickler associant un faciès aplati avec hypoplasie de l'étage moyen (6/6) et un micro-rétrognathisme (4/6) associé à une fente palatine (2/4) ou à un palais ogival (2/4). L'atteinte oculaire à type de forte myopie, de strabisme, de cataracte ou de glaucome était observée chez 4/6 patients. L'atteinte osseuse, associait des anomalies vertébrales (platyspondylie, cyphose lombaire) chez 3/6 des patients, une déformation thoracique (5/6) et des anomalies des extrémités (4/6). L'atteinte auditive, à type d'hypoacousie de transmission, a été observée dans 2/6 cas. Le caryotype sanguin, réalisé pour tous les patients est revenu normal. Aucune étude moléculaire n'a été faite pour ces patients. Conclusion : Une analyse rigoureuse des données cliniques nous a permis de poser le diagnostic du syndrome de Stickler. Toutefois, la confirmation moléculaire, bien que complexe, s'avère nécessaire afin d'étudier la corrélation génotype-phénotype de ce syndrome et de pouvoir donner un conseil génétique adapté.

Pièce jointe : syndrome de stickler.docx

#20387 : Hypophosphatasie : l'étude d'une grande cohorte de patients identifie 2 mécanismes distincts de dominance et révèle une nosologie basée sur la génétique**Auteurs :**

Etienne Mornet (1), Agnès Taillandier (1), Christelle Domingues (1), Emmanuelle Benaloun (2, 1), Annika Dufour (1, 1), Nicole Lavaud (1, 2), Carole Charle (1, 1), Fabienne Wallon (1, 1), Nathalie Rousseau (1, 1), Mihelaiti Guberto (1, 1), Christine Muti (1), Brigitte Simon-Bouy (1)

1. Génétique constitutionnelle, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France
2. Service de Biologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

Mots clefs : Hypophosphatasie, effet dominant négatif (DNE), haploinsuffisance, nosologie

Résumé :

L'hypophosphatasie (HPP) est une maladie héréditaire rare due à des mutations du gène ALPL codant pour la phosphatase alcaline non tissu-spécifique (TNSALP). Il existe un continuum dans la sévérité du phénotype, depuis une forme périnatale létale jusqu'à une forme odontologique sans manifestation osseuse. Les formes sévères (périnatale et infantile) sont toujours récessives, les formes modérées (prénatale bénigne, juvénile, adulte, odontologique) sont récessives ou dominantes. L'incidence des formes sévères a été estimée à 1/300000 en Europe, celle des formes modérées à 1/6300. Le diagnostic repose sur le dosage des phosphatases alcalines (PAL) qui sont abaissées et des symptômes qui varient selon la forme clinique. Le patient adulte hétérozygote pour le gène ALPL ne présente parfois que des signes non spécifiques de l'HPP tels que la chondrocalcinose, l'ostéoporose ou des douleurs musculo-squelettiques. Nous avons analysé une cohorte de 424 patients HPP testés dans le cadre du diagnostic moléculaire entre 1997 et 2019. A l'aide de la modélisation 3D et de tests fonctionnels nous avons classé les mutations en fonction de leur effet dominant négatif (DNE) et de l'activité enzymatique résiduelle qu'elles permettent. Ainsi la cohorte peut être décrite par les génotypes formés par les allèles s (sévere récessif), Sd (sévere dominant), et m (modéré). Les résultats montrent que :

- L'homozygotie (génotypes Sd/Sd, s/s et m/m) est un facteur aggravant la sévérité
- Les mutations avec DNE sont retrouvées à parts égales dans l'HPP récessive et dans l'HPP dominante, ce qui complique le conseil génétique
- 64 % des adultes testés sont hétérozygotes pour une mutation ne montrant aucun effet dominant négatif, suggérant que ces allèles sont dominants via un autre mécanisme (haploinsuffisance).
- Les adultes avec HPP dominante sans DNE sont statistiquement moins sévèrement atteints si on considère les critères de sévérité âge au diagnostic, taux de phosphatases alcalines et antécédents de fractures.
- Les adultes avec HPP dominante sans DNE représentent une nouvelle entité clinique diagnostiquée seulement à partir de 2010, et caractérisée par des signes non spécifiques de l'HPP et des phosphatases alcalines à la limite basse ou inférieures à la normale.
- La prévalence de l'HPP dominante sans DNE reste difficile à estimer, particulièrement s'il existe des facteurs génétiques modulant l'expression du phénotype. D'après nos résultats elle pourrait cependant atteindre 1/328.

En conclusion, l'étude de la composition allélique de notre cohorte suggère une nosologie basée sur la génétique avec 3 formes cliniques : la forme sévère, récessive et rare (1/300000), la forme modérée, récessive ou dominante et plus fréquente (1/6300), et enfin la forme douce, caractérisée par des phosphatases alcalines basses et des signes cliniques non spécifiques, dominante et dont la prévalence pourrait atteindre 1/328.

Pièce jointe : Assises de genet - Mild adult HPP_v3.docx

#20234 : Evaluation de manière objective de l'actionnabilité des gènes impliqués dans les encéphalopathies épileptiques néonatales et les myopathies en vue de développer une procédure rapide de séquençage à haut débit

Auteurs :

Maude Vecten (1, 2), Laurent Villard (1, 2), Mathieu Cerino (1, 2), Mathieu Milh (1, 3), Svetlana Gorokhova (1, 2), Nicolas Lévy (1, 2), Marc Bartoli (1), Martin Krahn (1, 2)

1. INSERM, Marseille Medical Genetics, U1251, Aix-Marseille Université, Marseille, France

2. Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfants, APHM, Marseille, France

3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Timone Enfants, APHM, Marseille, France

Mots clefs : actionnabilité, gène actionnable, classification semi-quantitative ClinGen, myopathies, Liste FILNEMUS, encéphalopathies épileptiques néonatales

Résumé :

Avec l'utilisation du séquençage à haut débit, le concept de « gènes actionnables » a émergé. Il s'agit de gènes impliqués dans des pathologies pour lesquelles il existe un traitement et/ou une prise en charge spécifique, qui pourra être initié en cas de diagnostic génétique précis. L'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) a publié en 2016 une liste de 59 gènes actionnables. Plus récemment, Clinical Genome Resource (ClinGen) a proposé une classification semi-quantitative permettant d'évaluer l'actionnabilité clinique des gènes au travers de quatre indicateurs. Sur cette base, nous avons souhaité évaluer de manière objective l'actionnabilité de gènes impliqués dans deux thématiques d'intérêt de notre laboratoire, les encéphalopathies épileptiques néonatales et les myopathies, pour lesquelles peu de données obtenues de manière méthodologique existent actuellement.

Cette approche systématisée permettra par la suite de prendre en compte les données obtenues pour des choix stratégiques, notamment de développement de circuits spécifiques de diagnostic génétique rapide, et de réflexion sur les évolutions d'approches thérapeutiques et de prise en charge des pathologies concernées.

Nous avons scoré l'actionnabilité clinique de 10 gènes d'encéphalopathies épileptiques néonatales, de 300 couples « gène-pathologie » de myopathies et du gène *DMD* impliqué dans la myopathie de Duchène, en utilisant la classification ClinGen. Nous avons également comparé les scores obtenus avec ceux de 36 gènes actionnables appartenant à la liste ACMG et publiés dans une étude de Webber *et al.*

Nous avons démontré que les 10 gènes d'encéphalopathies épileptiques néonatales, que nous avons sélectionnés, étaient actionnables avec les mêmes scores d'actionnabilité clinique que ceux des gènes spécifiés initialement comme actionnables par l'ACMG. Nous avons objectivé que la plupart des 300 couples « gène-pathologie » des myopathies de la liste FILNEMUS, n'étaient pas actionnables. En prenant en compte les nouvelles approches thérapeutiques proposées en recherche pour certains gènes, nous avons pu montrer que les gènes de myopathies concernés devenaient alors actionnables.

L'actionnabilité des dix gènes d'encéphalopathies épileptiques néonatales va nous permettre de développer un circuit de diagnostic rapide par séquençage à haut débit afin de proposer un traitement adapté le plus tôt possible. Les données obtenues concernant l'actionnabilité des couples « gène-pathologie » de myopathies constituent une ressource de réflexion concernant les évolutions de prise en charge des pathologies concernées.

En conclusion, l'actionnabilité des gènes n'est pas un concept figé, et est amenée à évoluer dans les prochaines années avec l'avancée des recherches. Le développement récent d'outils méthodologiques de détermination de l'actionnabilité pourra être intégré dans les choix stratégiques d'approches diagnostiques et de prise en charge des patients atteints de maladies génétiques.

Pièce jointe : Abstract assise génétique VECTEN.docx

#20460 : Identification d'une nouvelle mutation du gène BEST1 par NGS chez une famille Tunisienne ayant une bestrophinopathie autosomique récessive**Auteurs :**

Fatma Mejdoub (1), Fatma Abdelhedi (2), Ikhlas Ben Ayed (1), Nourhène Gharbi (1), Malek Bouassida (1), Yosra Lajmi (2), Houda Kanoun (1), Hassen Kamoun (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Mots clefs : bestrophinopathie autosomique récessive, Anomalie rétinienne, Acuité visuelle, NGS, Gène BEST1.

Résumé :

Les bestrophinopathies représentent un large spectre d'anomalies rétinienne regroupant 5 sous types. Elles sont secondaires à des mutations du gène *BEST1* localisé au niveau de la région 11q13. Ces variations pourraient être responsable de perte ou de gain de fonction au niveau protéique, ce qui explique l'hétérogénéité génétique de cette pathologie. Sur le plan clinique, elle se manifeste par une baisse progressive et précoce de l'acuité visuelle (entre 4 et 40 ans). Le fond d'œil, l'électro-oculo-gramme (EOG) ainsi que l'électro-rétino-gramme (ERG) permettent d'orienter vers le sous type de bestrophinopathie.

Nous rapportons les observations de trois cousins suivis pour baisse progressive de l'acuité visuelle avec flou visuel apparus depuis le jeune âge. L'enquête familiale révèle la fréquence élevée de consanguinité au sein de cette famille. Une étude d'exome a été réalisé chez les patients et a mis en évidence une nouvelle mutation (c.91C > A) à l'état homozygote au niveau de l'exon 2 du gène *BEST1*. Il s'agit d'une variation (vérifiée par séquençage Sanger) qui n'a pas été décrite dans les bases de données (dbSNP) comme étant un SNP, ni dans la littérature. Cette variation est responsable au niveau protéique d'un changement d'une leucine par une méthionine en position 31. Les outils de prédictions bioinformatiques suggèrent que cette mutation aurait un effet délétère. L'analyse moléculaire chez les parents a révélé la présence de cette variation à l'état hétérozygote.

La bestrophinopathie autosomique récessive (BAR) est une pathologie rare associé le plus souvent à des mutations hétérozygotes composites. Pour nos observations, l'identification d'une mutation à l'état homozygote serait en rapport avec la fréquence élevée de consanguinité chez la population Tunisienne. L'étude moléculaire chez ces patients permet sans doute de donner conseil génétique aisé à tous les membres de la famille mais pose un problème d'ordre éthique pour ceux qui demandent un diagnostic prénatal. À l'heure actuelle, il n'existe pas de moyens de prévention ni de traitement curatif pour cette pathologie.

Pièce jointe : BEST1_ASSISES2020_final.docx

#19751 : Novel missense NOG mutation in a Tunisian family with brachydactyly type B2

Auteurs :

Faten Hsoumi (1), Yasmina Elaribi (1), Hela Sassi (2), Imen Rejeb (1), Houweyda Jilani (1), Syrine Hizem (1), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service de maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Monji Slim, La Marsa, La Marsa, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La Marsa, La Marsa, Tunisie

Mots clefs : Brachydactyly, mutation, sanger, NOG gene

Résumé :**Background**

Brachydactyly type B2 (BB2) is a very rare genetic disorder, characterized by hypoplasia/aplasia of the distal phalanges along with symphalangism and nail hypoplasia. It is an autosomal dominant disease caused by missense mutations in *NOG* gene. The *NOG* gene encodes for the NOGGIN protein that inhibits the BMP (bone morphogenetic protein) which is an essential growth factor in bone development. To the best of our knowledge, this is first report of this pathology in Tunisia.

The current study was proposed to examine mutation in *NOG* gene in a Tunisian family.

Methods

We report three patients from the same family with BB2: the proband, his father and his sister. The proband is a 5-year-old boy with BB2 characterized by distal symphalangism in the hands, bilateral hypoplasia of distal phalanges of fingers II and III and absence of a distal phalanx in finger V. His feet were normal. His sister and father showed variable degrees of affected feet.

Results

We identified a new missense mutation in *NOG* gene which is probably pathogenic according to the predilection scores. The same variation was found in the rest of the family cases.

Conclusion

Although it is a rare condition, brachydactyly represents a good study model for abnormalities of bone development and morphogenesis in general. A functional study of this new mutation is therefore necessary in order to elucidate its molecular consequences and compare it to other mutations already reported in the literature.

Pièce jointe : abstract BDB_assises 2020.docx

#20187 : Première identification d'un CNV chez un patient avec syndrome de la colonne raide lié à SEPN1 : conséquences sur le diagnostic moléculaire.

Auteurs :

Corinne METAY (1), Pascal SABOURAUD (2), Karen GAUDON (1), Valérie JOBIC (1), Pascale RICHARD (1)

1. UF de cardiogénétique et Myogénétique, Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de pédiatrie - Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires, CHU de Reims - American Memorial Hospital, REIMS, France

Mots clefs : SEPN1, colonne raide, CNV, délétion

Résumé :

Les dystrophies musculaires congénitales (DMC) constituent un groupe très hétérogène de maladies de l'enfant ayant comme point commun un début très précoce et une hypotonie marquée. Parmi elles, les myopathies congénitales due à des mutations dans le gène *SEPN1* sont considérées comme différentes présentations d'une même maladie, appelée SEPN1-related myopathy ou sélénoprotéinopathie et associées à une transmission de type récessif et se répartissent en 4 entités : syndrome de la colonne raide, myopathie à multi-minicores, desminopathie avec corps de Mallory, myopathie avec disproportion congénitale de types de fibres. Malgré une présentation histopathologique hétérogène, le phénotype des patients s'avère plutôt homogène avec une faiblesse axiale, une scoliose précoce souvent associée à une colonne raide et un syndrome restrictif respiratoire, ceci en présence d'une force des membres préservée ainsi qu'une déambulation possible.

Nous rapportons le cas d'une enfant de 9 ans, née hypotrophe prématurément à 30 SA. A l'âge de 7 ans, elle développe une scoliose et un rachis raide. Une insuffisance respiratoire restrictive sévère (CVF à 25%) est découverte à l'occasion d'une pneumopathie à 8 ans 1/2. Son taux de CK est normal. Le diagnostic évoqué est alors celui d'une sélénoprotéinopathie. Le séquençage Sanger du gène *SEPN1* met en évidence le variant c.1A > G, p.(Met1Val) à l'état hétérozygote entraînant une abolition de la traduction protéique. La recherche d'un second évènement mutationnel via un panel ciblé de gènes impliqués dans les myopathies rétractiles a identifié un réarrangement génomique (CNV) à l'état hétérozygote, consistant en une délétion des exons 7 à 12 et produisant un ARNm tronqué. Le variant c.1A > G, p.(Met1Val) est décrit comme étant relié à un phénotype sévère (Ferreiro A. Am J Hum Genet 2002) et son association avec un CNV pourrait expliquer la gravité du phénotype comme en atteste le syndrome restrictif sévère permanent observé chez la patiente. Jusqu'à présent, seules de petites délétions exoniques ou de jonctions exon-intron inférieures à 150 bp ont été rapportées dans le gène *SEPN1*. L'identification pour la première fois d'un CNV impliquant 6 exons est la preuve que ce mécanisme mutationnel est impliqué dans les Sélénopathies. Cette observation souligne, lors du diagnostic génétique de Syndrome de la colonne raide, la nécessité de rechercher des grands réarrangements dans *SEPN1* notamment suite à la découverte d'un premier variant pathogène afin de proposer un conseil génétique adapté aux familles.

Pièce jointe : Résumé Assises génétique Tours C Métay.docx

#19783 : Identification d'un variant d'épissage dans le gène CYLD chez deux familles non apparentées et présentant des phénotypes différents**Auteurs :**

Adrien Borgel (1), Jérôme Lamoril (1), Dimitri Tchernitchko (1), Catherine Boileau (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Bichat - Claude Bernard, Paris, France

Mots clefs : Syndrome Brooke-Spiegler, Cylindromatose familiale, Trichoépithéliome multiple familial, dermatologie, CYLD, variant d'épissage

Résumé :

Le Syndrome de Brooke-Spiegler (BSS) est une maladie rare (100 cas en France recensés en 2019) de transmission autosomique dominante de variants dans le gène *CYLD*. Ce gène est également impliqué dans la cylindromatose familiale (FC) et le trichoépithéliome multiple familial (MFT). Le spectre phénotypique s'étend de la FC avec comme atteintes des tumeurs de type cylindromatomes, jusqu'au MFT avec des tumeurs de type trichoépithéliomes. Entre les deux extrémités de ce spectre se trouve le BSS avec des atteintes mixtes. Il n'a pas été décrit de corrélation génotype-phénotype entre les variants du gène *CYLD* et le BSS, la FC et le MFT.

CYLD est un gène suppresseur de tumeur codant la déubiquitineuse CYLD. Elle clive spécifiquement les chaînes de poly-ubiquitination fixées sur Lys-63. Elle agit comme régulateur négatif de la protéine NF-κB anti-apoptotique en interagissant avec le complexe IKK. Cette inactivation de ce complexe via la déubiquitination de la protéine RIP1 empêche NF-κB de rejoindre le noyau et d'induire la transcription de gènes anti-apoptotiques et pro-mitotiques. *CYLD* cible également le facteur de transcription Bcl3 qui, lorsqu'il est ubiquitiné, augmente la synthèse de la cycline D1 jouant un rôle important dans le cycle mitotique.

Nous rapportons ici 2 cas non apparentés : (1) Une femme de 44 ans présente depuis l'âge de 20 ans un BSS. Elle décrit des trichoépithéliomes et cylindromes chez deux tantes paternelles. (2) Un homme de 62 ans présente des lésions de types cylindromes, apparues à l'âge de 27 ans qui ont augmenté en taille et en nombre par la suite. Son frère jumeau monozygote ainsi que le fils de ce dernier présentent les mêmes lésions cutanées de topographies identiques. Leur mère et leur sœur sont également atteintes de FC depuis l'âge de 30 ans.

L'analyse par Sanger du gène *CYLD* a permis de mettre en évidence un variant dans l'intron 16 en position c.2241+5G > A à l'état hétérozygote chez tous les sujets symptomatiques testés des deux familles. Ce variant n'est pas rapporté ni dans les bases de données, ni dans la littérature. Ce variant touche le site donneur d'épissage de l'intron 16. Nous avons confirmé par étude de l'ARN de la patiente présentant un BSS que ce variant avait pour conséquence la délétion de l'exon 16 par un mécanisme d'épissage alternatif. Cette délétion entraîne un décalage de lecture et l'apparition d'un codon stop prématuré : p.H704Sfs*4. Il en résulte une protéine tronquée en C-terminal, au niveau de son domaine catalytique.

Selon les recommandations de l'ACMG/AMP pour l'interprétation de variants, nous avons considéré le variant comme pathogène (classe 5) du fait de sa fréquence (absente des bases de données), sa nature (variant d'épissage avec décalage du cadre de lecture) et de la ségrégation au sein de la famille atteinte de FC. Cette étude confirme l'hypothèse actuelle qu'il n'existe pas de corrélation génotype-phénotype entre *CYLD* et les pathologies dont il est responsable.

#20117 : Trisomie 2 fœtale en mosaïque: une série de 4 nouveaux cas

Auteurs :

Solène Conrad (1), Olivier Pichon (1), Eva PIPRAS (2), Marie-Paule BEAUJARD (3), Frédérique LE BRETON (4), Pierrick TEILLET (5), Pascaline LETARD (6), Ericka LAUNAY (7), Sylvie JAILLARD (7), Chloé QUELIN (8), Sébastien Schmitt (1), Brigitte BENZACKEN (2), Valérie MALAN (3), Kamran Moradkhani (1), Cédric Le Caignec (1), Madeleine JOUBERT (5), Claire BENETEAU (1)

1. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Service de Cytogénétique, BDR, CECOS, APHP, Paris, France
3. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
4. Institut de Pathologies Multisites des HCL - Site Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
5. Service d'Anatomo-Pathologie, CHU Nantes, Nantes, France
6. Service d'Anatomie et de cytologie pathologiques, Hôpital Jean Verdier, APHP, Bondy, France
7. Service de Cytogénétique et de Biologie Cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
8. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France

Mots clefs : trisomie 2 mosaïque, trisomie 2 fœtale, syndrome malformatif, dysmorphie

Résumé :

La trisomie 2 confinée au placenta est une situation assez fréquente, estimée à 1,2/1000 biopsies de trophoblaste. En revanche, la trisomie 2 fœtale en mosaïque est une pathologie très rare, retrouvée sur 1/58 000 ponctions de liquide amniotique. Jusqu'à présent, seuls 20 cas ont été rapportés. La littérature et l'ACLF (Association des Cytogénéticiens de Langue Française) recommandent donc de ne pas réaliser de ponction de liquide amniotique en cas de trisomie 2 homogène à la culture des villosités chorales en l'absence de signe d'appel échographique associé.

Grâce à une collaboration de l'ACLF, nous rapportons 4 nouveaux cas de trisomies 2 fœtales en mosaïque, dont les principaux signes sont un retard de croissance intra-utérin (RCIU), des anomalies de marqueurs sériques (PAPP-A basse) et un syndrome polymalformatif. Parmi les anomalies retrouvées, on peut observer des anomalies de gyration et de migration neuronale, des anomalies thoraco-abdominales sévères (coelosomie et hernie diaphragmatique), des anomalies du pôle caudal, des anomalies ovariennes et utérines, ainsi que des malformations rénales et squelettiques (pieds bots, syndactylies). La dysmorphie faciale comprend habituellement un nez court avec des narines antéversées et une ensellure nasale marquée, qui peut être détectée à l'échographie. Dans nos 4 cas, il est à noter que la trisomie 2 n'a été retrouvée après culture que chez 2 fœtus en raison d'un biais de sélection en faveur des cellules normales. Par ailleurs, dans un 5^e cas la trisomie 2 placentaire a été partiellement « corrigée » chez le fœtus par une duplication 2q11.1q12.1 homogène d'une taille de 7Mb.

En conclusion, en cas de détection d'une trisomie 2 placentaire avec des signes échographiques, il est recommandé de rechercher une trisomie 2 fœtale par Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) à partir d'un prélèvement de liquide amniotique natif ou par FISH interphasique sur cellules amniotiques non cultivées.

Pièce jointe : abstract_trisomie_2_mosaïque_final.doc

#20065 : Efficacité des entretiens téléphoniques de préparation (ETP) et du routage en oncogénétique**Auteurs :**

Nathalie Parodi (1), Maud Branchaud (1), Gaëlle Collet (1), Céline Gasnier (2), Zoe Nevriere (2, 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 et Inserm U1245, UNIROUEN, CHU de Rouen et Inserm, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : Oncogénétique, entretien téléphonique de préparation, routage

Résumé :

La demande croissante de consultations en oncogénétique et la nécessité de pouvoir assurer ces consultations rapidement, afin qu'elles soient utiles à la prise en charge des patients, représentent un véritable challenge. Dans le cadre des prédispositions au cancer du sein et de l'ovaire, nous avons précédemment décrit une procédure basée sur les entretiens téléphoniques de préparation (ETP), effectués par des conseillers en génétique, suivis par un routage des dossiers d'ETP par un oncogénéticien. Nous avons depuis élargi cette procédure aux suspicions de formes héréditaires de cancers du colon, du rein ou de tumeurs de l'enfant : (1) J0, demande de RDV auprès du secrétariat qui, au téléphone, collecte les informations minimales et fixe un ETP dans les 15 jours suivant la demande de consultation. Les critères d'exclusion pour l'ETP sont : difficulté de compréhension du français et personnes sous tutelle ; (2) J7-J14, lors de l'ETP d'une durée de 20 mn, les informations médicales concernant le patient sont recueillies et l'arbre généalogique, avec les antécédents familiaux de cancer, est établi ; (3) J7- J21, suite à l'ETP, soit une consultation est directement proposée car les critères d'indication de consultation et d'analyse génétique sont remplis, soit l'ETP est analysé dans les 7 jours lors d'une séance de routage, avec 3 décisions possibles : (a) consultation prioritaire réalisée par un oncogénéticien, notamment lorsque le résultat de l'analyse génétique permettra de codifier la prise en charge (ex : inhibiteur de PARP ; type de geste chirurgical) ou lorsque le contexte est difficile (pronostic réservé, contexte psychologique...) ; (b) consultation non prioritaire réalisée par un oncogénéticien ou par un conseiller en génétique et (c) pas d'indication à proposer une consultation d'oncogénétique et/ou existence d'un cas index plus approprié dans la famille. Un courrier est alors adressé au patient et aux médecins. A ce jour, nous avons réalisé 5129 ETP. Nous avons, depuis la mise en place de cette procédure en 2015, des valeurs stabilisées concernant l'issue de ces ETP. Dans 36% des cas, soit 1831 patients, une consultation n'était pas justifiée et environ 10% ont bénéficié d'une consultation prioritaire. Nous réalisons à présent 30 ETP par semaine. Nous confirmons l'impact positif du routage : réduction du temps secrétaire au téléphone ; patients contactés au maximum dans les 15 jours suivant la demande de RDV ; suppression de consultations non justifiées et de déplacements inutiles de patients ; diminution du délai de RDV au maximum dans les 10 semaines avec consultation urgente assurée dans la semaine ou les 2 semaines et priorisation des consultations. Enfin, cette méthode permet d'optimiser la distribution des tâches entre conseillers en génétique et oncogénéticiens, de préserver du temps médical tout en assurant pour l'ensemble des patients une expertise médicale et surtout de garantir une grande réactivité en oncogénétique.

#19741 : Le CRB du CEPH : une biobanque à haut débit

Auteurs :

Jean-Marc Sebaoun (1), Valérie Morel (1), Jean-Christophe Beaudoin (1), Laetitia Gressin (1), Jean-François Deleuze (2), Hélène Blanché (1)

1. CRB du CEPH, Fondation Jean Dausset-CEPH, Paris, France

2. , Fondation Jean Dausset-CEPH, Paris, France

Mots clefs : CRB, biobanque, extraction, ADN

Résumé :

Le CEPH (Centre d'Etude du Polymorphisme Humain) et tout particulièrement sa biobanque est reconnu mondialement puisqu'il est à l'origine de la 1^{ère} collaboration internationale qui visait à cartographier le génome humain. Le CRB du CEPH a acquis une expérience considérable dans la mise en place de grandes cohortes et offre un appui logistique à des groupes de recherche pour constituer de nouvelles cohortes d'envergure dans le cadre de programmes de recherche clinique. Le CRB est notamment impliqué dans le programme COBLAnCE (Cohort for Bladder Cancer), dans le LabEx GENMED ainsi que dans le projet européen MyPeBS (My Personal Breast Screening).

Son Système de Management de la Qualité est certifié selon les normes ISO9001 :2015 et NF S96-900, depuis 2017, pour ses activités de réception, traitement, conservation, mise à disposition de ressources biologiques d'origine humaine.

Le CRB du CEPH s'est réorganisé pour être en mesure de traiter plusieurs dizaines de milliers d'échantillons par an, en garantissant des délais de traitement courts et tout en limitant les coûts.

La chaîne de traitement des échantillons a été complètement repensée grâce à la base de données Biobase développée en interne totalement en adéquation avec les besoins.

Les protocoles d'extraction d'ADN de sang total, de buffy-coat, de salive et de lignées lymphoblastoïdes ont été optimisés sur le Prime (PerkinElmer) (rendement, qualité, non-contamination notamment pour les échantillons visqueux).

Des protocoles de pipetages ont également été implémentés sur le Prime pour garantir la traçabilité des échantillons : normalisation des concentrations, aliquotage pour distribution et contrôles de qualité et assemblage de réactions de PCR.

L'utilisation de tubes tricolés pour conserver et distribuer les ADN a permis de supprimer des tâches répétitives d'étiquetage des tubes et d'ouverture/fermeture de ceux-ci. Chaque laboratoire (extraction et qualification des ADN) a été équipé d'un scanner pour des racks de tubes et d'un capper/decapper pour ouvrir et fermer les tubes.

Les contrôles de qualité : amplification de marqueurs sur les chromosomes X et Y, vérification de l'intégrité de l'ADN par détermination du GQN sont réalisés sur un Fragment Analyzer (Agilent) en plaque de 96 échantillons.

Cette organisation permet d'extraire jusqu'à 200 prélèvements par jour de différents types de spécimens et de divers volumes, de quantifier, normaliser les ADN, de réaliser les contrôles de qualité, l'aliquotage pour les mises à disposition avec quatre personnes dans le laboratoire et cela pendant l'ensemble de l'année. Elle garantit par ailleurs à tout moment du traitement de l'échantillon une traçabilité optimale des matériels biologiques et permet d'envoyer aux laboratoires de recherche des ADN de haute qualité. Le CRB du CEPH peut ainsi se positionner dans des projets à haut débit de génomique humaine à l'échelle nationale mais aussi internationale comme cela sera présenté dans le poster.

#19821 : Approches bioinformatiques spécifiques pour l'analyse de données RNASeq dans le cadre des maladies génétiques rares

Auteurs :

Emilie Tisserant (1), Yannis Duffourd (1, 2), Alexandre Plagos (1), Christel Thauvin (1, 2), Laurence Faivre (1, 3), Vitobello Antonio (1, 2)

1. , UMR1231 GAD, Inserm – University of Burgundy-Franche Comté, DIJON, France

2. , Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France

3. , Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON , France

Mots clefs : RNASeq, bioinformatique, maladies génétiques rares

Résumé :

Le séquençage haut-débit de l'exome et du génome a permis de réduire l'errance diagnostique de patients atteints de maladies génétiques rares. Cependant ces approches ne permettent pas toujours d'identifier les variations génétiques expliquant ces maladies.

Le séquençage de l'ARN (RNASeq) permet de nombreuses applications, telles que l'analyse de la modification de l'expression des gènes ou la détection d'événements d'épissage alternatif. Ainsi, ces applications peuvent permettre d'améliorer le diagnostic chez les patients pour lesquels le séquençage de l'exome ou du génome n'a pas été concluant, notamment en aidant à l'interprétation de certaines variations, par exemple, des variations non codantes ayant un impact fonctionnel.

Toutefois, dans le cadre du diagnostic des maladies rares, le design expérimental de l'analyse RNASeq diffère de celui d'une analyse d'expression différentielle qui compare des groupes d'échantillons avec réplicats dans différentes conditions. Afin de détecter des événements pathogéniques, la stratégie consiste à identifier des événements aberrants (niveaux d'expression génique, événement d'épissage) par rapport à une large population, l'échantillon d'un patient étant alors comparé aux échantillons d'une large cohorte. Actuellement, peu de méthodes et d'outils bioinformatiques et statistiques ont été développés pour cette approche.

Afin d'évaluer leur capacité à détecter des événements aberrants, nous avons comparé différentes méthodes bioinformatiques sur les données RNASeq issues d'échantillon de sang d'une cohorte de 28 patients atteints de maladies rares non diagnostiquées par le séquençage d'exome. Pour la détection de gènes exprimés de manière aberrante, deux méthodes ont été testées : une approche utilisant DeSeq2 avec un design comparant l'échantillon de chaque patient au reste de la cohorte ; et un outil dédié, OUTRIDER qui détecte les niveaux d'expression génique déviant significativement de la distribution de la population. Pour la détection d'événements d'épissage aberrant, l'outil rMATs, qui se base sur l'estimation du niveau d'expression des exons, et l'outil Leafcutter, qui estime l'utilisation des introns, ont été testés en comparant l'échantillon de chacun des patients au reste de la cohorte. Au sein des 28 échantillons, nous avons ainsi détecté entre 0 et 300 gènes exprimés de manière aberrante par échantillon avec une médiane de 3 gènes par échantillon. De 0 à 141 (médiane = 5) et de 37 à 556 (médiane = 74) événements d'épissage aberrants par échantillon ont été détectés avec Leafcutter et rMATs, respectivement. Ces comparaisons nous permettront de valider une stratégie pour l'analyse des données RNASeq dans le contexte particulier des maladies rares. L'intégration de ces résultats avec les données de séquençage d'exome et de génome permettront d'évaluer la capacité de ces approches à améliorer l'interprétation clinique des variations des patients atteints de maladies rares.

Pièce jointe : abstract_AG_Tisserant_v3.doc

#20523 : Syndrome d'Ellis-van Creveld : A propos d'un cas**Auteurs :**

KENZA DAFIR (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 : Dysplasie chondro-ectodermique , 'Ellis-van Creveld

Résumé :

Le syndrome d'Ellis-van Creveld est une affection rare avec environ 150 cas rapportés dans le monde. Elle se transmet sur le mode autosomique récessif avec une expression variable. C'est une dysplasie chondro-ectodermique caractérisée par des côtes courtes, une polydactylie, un retard de croissance, une dysplasie des ongles et des dents, des anomalies ectodermiques et des malformations cardiaques (60% des cas). Le développement psychomoteur est normal. Elle est due à des mutations des gènes EVC1 et EVC2. Le syndrome d'EVC appartient au groupe des syndromes côtes courtes-polydactylie qui doivent être évoqués lors du diagnostic prénatal. Sa prise en charge est pluridisciplinaire.

Nous rapportons une nouvelle observation marocaine du CHU de Marrakech, d'une patiente âgée de 33 ans, non consanguine, adressée en consultation de génétique médicale pour un retard de croissance associé à une cardiopathie congénitale. L'ensemble des signes cliniques et radiologiques ont permis d'évoquer en premier lieu chez notre patiente le diagnostic d'un syndrome d'Ellis-van Creveld.

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.

#20316 : Diagnostic prénatal du syndrome Simpson-Golabi_Behmel associé à une délétion Xq26.2 incluant les gènes GPC3-GPC4

Auteurs :

Dima JOUNI (1), Chloé PUISNEY-DAKHLI (2), Jelena MARTINOVIC (3), Ingrid WIEDER (2), Hanane BOUCHGHOUL (4), Gérard TACHDJIAN (2), Aline RECEVEUR (2)

1. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine Bécère, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Clamart, France
2. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine Bécère, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Clamart, France
3. Service d'Anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Antoine Bécère, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Clamart, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Kremlin Bicêtre, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Le Kremlin Bicêtre, France, Clamart, France

Mots clefs : syndrome Simpson-Golabi-Behmel, GPC3, GPC4

Résumé :

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGBS) est un syndrome rare caractérisé par une avance de croissance pré et postnatale associée à des anomalies squelettiques, cardiaques et rénales ainsi qu'à une déficience intellectuelle de sévérité variable. En diagnostic anténatal, des signes échographiques tels que la macrosomie, l'hydramnios et l'hyperclarté nucale, associés à des malformations cardiaques, rénales et craniofaciales, peuvent être observés.

Les premières études génétiques ont permis d'identifier des remaniements du gène *GPC3* (Xq26.2) dans 37% à 70% des patients. Plus récemment des remaniements de *GPC4* ont été décrits souvent associés à ceux de *GPC3* dans au moins 5 cas de SGBS. Nous rapportons ici une délétion de 317 Kb emportant la totalité du gène *GPC4* et l'extrémité 3' du dernier exon du gène *GPC3* (Xq26.2).

La délétion a été mise en évidence par CGH-array à partir de villosités chorales à 17 SA pour une hyperclarté nucale, une cardiopathie, une duplication rénale et un micropénis chez un fœtus de sexe masculin. Il s'agissait de la troisième grossesse chez une patiente de 34 ans qui a été interrompue à 18 SA. L'analyse en fœtopathologie a mis en évidence une cardiopathie de type VDDI, trois lobes pulmonaires à gauche, une duplication rénale droite et des os longs courts.

Dans ses antécédents, on retrouve une première interruption médicale de grossesse réalisée chez un fœtus de sexe masculin devant un syndrome polymalformatif associant une cardiopathie, une hépatomégalie, une malformation de la cage thoracique, une syndactylie, un hydramnios et une hypoplasie de l'ensellure nasale. Cette récurrence du syndrome de SGB est en faveur d'une transmission maternelle, cette pathologie étant de transmission liée à l'X. L'origine maternelle de la délétion a été confirmée par PCR quantitative.

Les profils d'expression ainsi que des études fonctionnelles du gène *GPC4* suggèrent que des remaniements de ce gène peuvent être à l'origine de plusieurs manifestations cliniques du SGBS. Cependant, il n'a été décrit qu'une seule fois comme responsable du SGBS où une duplication pure de ce gène a été observée chez des descendants de la famille rapporté initialement par Golabi et Rosen. Les délétions décrites des deux gènes *GPC3-GPC4* emportent les deux derniers exons du *GPC3* ou une partie de l'exon 3.

Nous rapportons un cas de SGBS impliquant à la fois *GPC3* (une petite partie de l'exon 8 :260pb) et l'ensemble du gène *GPC4*. Devant cette délétion et les signes échographiques similaires à ceux décrits associés à une délétion pure de *GPC3* ou à une duplication pure de *GPC4*, deux hypothèses peuvent être proposées quant à la physiopathologie génétique de ce syndrome : soit l'implication directe de la délétion de *GPC4*, ou l'incrimination d'une région minimale critique de *GPC3* de 260 pb, gène qui a toujours été considéré comme causal pour ce syndrome.

#20473 : Episodes aigus d'acidose lactique et encéphalopathie dus à un déficit en complexe III

Auteurs :

Pierre - Hadrien Becker (1), Zina Chamekh (1), Maha Ben Sedrine (1), Anne - Gaëlle Le Moing (2), Pascale De Lonlay (3), Elise Lebigot (1), Patrice Therond (1), Abdelhamid Slama (1), Pauline Gaignard (1)

1. Biochimie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
2. Neuropédiatrie, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
3. Maladies Métaboliques Pédiatriques, CHU Necker-Enfants malades, Paris, France

Mots clefs : LYRM7, complexe III, cytopathie mitochondriale, acidose lactique, encéphalopathie

Résumé :

Les cytopathies mitochondriales sont remarquables par leur grande diversité d'expression clinique et leur double origine génétique : le génome mitochondrial polypléide de transmission maternelle et le génome nucléaire. Les déficits en complexe III représentent 2 à 15% des déficits identifiés de la chaîne respiratoire et sont souvent dus à des mutations dans le gène mitochondrial *MT-CYB* codant une des sous-unités catalytiques (phénotype musculaire) ou dans les gènes *BCS1L* ou *TTC19* (phénotype neurologique) codant des protéines nécessaires à l'assemblage du complexe III. Les déficits liés aux autres gènes nucléaires codant pour des protéines de structure, ainsi qu'au gène *LYRM7* codant pour une protéine d'assemblage, ont été chacun décrits dans quelques familles seulement.

Nous rapportons le cas d'une patiente explorée à l'âge de 4 ans pour accès récurrents d'acidose lactique avec troubles de la conscience et hypotonie déclenchés par le jeûne. L'examen clinique montre un syndrome pyramidal franc, un retard psychomoteur important, ainsi qu'un léger débord hépatique, des cheveux cassants bicolores et un retard de croissance. L'hyperlactatémie, l'atteinte neurologique et les anomalies de la substance blanche à l'IRM ont fait suspecter une cytopathie mitochondriale.

Le séquençage de l'ADN mitochondrial était normal. L'étude de notre panel dédié de 182 gènes nucléaires a retrouvé une mutation homozygote c.19-3C>G dans le gène *LYRM7* (NM_181705), entraînant un saut de l'exon 2 sur cDNA et l'apparition d'un codon-stop prématuré (p.Val7Glnfs*4). Les études fonctionnelles de la chaîne respiratoire ont montré une diminution de l'activité du complexe III dans les fibroblastes mais pas dans le muscle ni dans le foie. Le défaut d'assemblage du complexe III dans les fibroblastes a été confirmé par BN-PAGE.

Le premier cas de déficit en complexe III lié au gène *LYRM7* a été décrit en 2013, 10 patients issus de 8 familles ont été rapportés depuis. Leur phénotype est similaire avec des épisodes d'acidose lactique déclenchés par un contexte fébrile ou un jeûne, associés à une encéphalopathie progressive avec régression psychomotrice. Cependant, leur évolution est très variable, ainsi le plus âgé a 14 ans, tandis que 4 patients sont décédés vers l'âge de 2 ans. Il est à noter qu'un apparenté homozygote est encore asymptomatique. Notre patiente a actuellement 6 ans et garde un retard global des acquisitions. Sa prise en charge est surtout marquée par la nécessité d'une nutrition entérale pour mauvaise prise pondérale. Aucune corrélation génotype-phénotype évidente ne permet d'expliquer à l'heure actuelle cette variabilité.

La description de nouveaux cas est essentielle pour mieux comprendre la physiopathologie liée au déficit en *LYRM7* notamment pour préciser l'origine de l'encéphalopathie : est-elle causée par un déficit en complexe III au niveau cérébral ou est-elle secondaire aux crises métaboliques, et dans ce cas potentiellement évitable ?

Pièce jointe : Abstract - Episodes aigus d'acidose lactique .docx

#19743 : Un nouveau hotspot mutationnel du gène SKI dans le contexte du diagnostic moléculaire de syndrome de Marfan et des anévrismes de l'aorte ascendante**Auteurs :**

Pauline ARNAUD (1, 2), Caroline RACINE (3), Nadine HANNA (1, 2), Julien THEVENON (4), Jean-Luc ALESSANDRI (5), Dominique BONNEAU (6), Jill CLAYTON-SMITH (7, 8), Christine COUBES (9), Bruno DELOBEL (10), Sophie DUPUIS-GIROD (11), Laurent GOUYA (12), Sylvie ODENT (13), Virginie CARMIGNAC (14), Christel THAUVIN-ROBINET (14, 15), Carine LE GOFF (16), Guillaume JONDEAU (12, 2), Catherine BOILEAU (1, 2), Laurence FAIVRE (17)

1. Département de Génétique, Hôpital Bichat, AP-HP, PARIS, France
2. INSERM U1148, Hôpital Bichat, PARIS, France
3. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'inter-région Est et FHU TRANSLAD, Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France
4. Unité de Génétique Clinique, Pôle Couple Enfant, CHU de Grenoble site Nord - Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
5. Service de Réanimation Néonatale, Pôle Femme-Mère-Enfant, CH Felix Guyon, CHU de La Réunion, Saint-Denis, La Réunion, France
6. Département de Biochimie et Génétique et Unité Mitovasc INSERM 1083, CNRS 6015, CHU Angers, Angers, France
7. Manchester Centre For Genomic Medicine, St Mary's Hospital, Manchester and University Hospitals, NHS Foundation Trust Manchester, Academic Health Sciences Centre, St Mary's Hospital, Manchester, Royaume Uni
8. Division of Evolution and Genomic Sciences, School of Biological Sciences, University of Manchester, Manchester, Royaume Uni
9. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Sud-Languedoc Roussillon, Centre Hospitalier Universitaire Montpellier, Montpellier, France
10. Centre de Génétique Chromosomique, GHICL, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
11. Centre de Compétences syndrome de Marfan et syndromes apparentés, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
12. Centre National Maladies Rares, Syndrome de Marfan et apparentés, Hôpital Bichat, AP-HP, PARIS, France
13. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
14. INSERM, U1231, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
15. Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France
16. INSERM U1148, Hôpital Bichat, Paris, France
17. Centre de Génétique - Pôle Pédiatrie, CHU Dijon Bourgogne - Hôpital F. Mitterrand, Dijon, France

Mots clefs : Gène SKI, Syndrome de Shprintzen-Goldberg, Syndrome de Marfan, Spectre phénotypique

Résumé :**Contexte**

Les variations pathogènes du gène *SKI* sont associées au syndrome de Shprintzen-Goldberg (SGS), qui est une maladie systémique rare du tissu conjonctif, caractérisée par des atteintes cranio-faciales, squelettiques et cardiovasculaires. Dans la littérature, certains signes cliniques comme la déficience intellectuelle et la craniosténose sont presque systématiquement retrouvés chez les porteurs de variants pathogènes dans ce gène. Jusqu'alors, la description clinique de ces patients était plutôt homogène, et les variants pathogènes connus étaient situés dans deux hotspots particuliers du gène *SKI*.

Méthodes et résultats

Dans le contexte du diagnostic moléculaire du syndrome de Marfan (MFS) et des pathologies apparentées, nous avons identifié 9 cas index, porteurs de 3 variants pathogènes différents du gène *SKI* affectant l'acide aminé Thr180. Tous ces cas, âgés de 2 à 47 ans, étaient sporadiques. Il a été possible de montrer que 7 de ces événements moléculaires étaient survenus *de novo*. Ces patients ont bénéficié d'un examen clinique spécifique réalisé par une équipe pluridisciplinaire. Ils présentaient tous des caractéristiques morphologiques moindres avec un *habitus* marfanoïde et ceci ne permettait pas de faire le diagnostic de SGS *a priori*. Seulement 3 d'entre eux avaient des difficultés d'apprentissage et aucun ne présentait de déficience intellectuelle. Six cas index sur 9 présentaient un anévrisme de l'aorte ascendante, qui a nécessité une chirurgie préventive pour le cas le plus âgé.

Conclusion

Ce rapport étend le spectre phénotypique associé aux variants pathogènes du gène *SKI*. Nous décrivons ici un nouveau hotspot mutationnel associé à une atteinte syndromique apparentée au syndrome de Marfan, sans déficience intellectuelle. Une atteinte cardiovasculaire a été mise en évidence dans un nombre significatif de cas, ce qui illustre la nécessité d'un diagnostic précis de ces patients pour adapter le traitement médicamenteux et le suivi cardiologique.

Pièce jointe : 2019-Assises-P.ARNAUD-Un nouveau hotspot mutationnel dans le gène SKI dans le contexte du dg moleculaire MFS-TAA.docx

#20573 : Etude de la mutation G2019S du gène LRRK2 dans une population marocaine atteinte de la Maladie de Parkinson

Auteurs :

Oussama Kettani (1), Sanae El Bardai (2), Badr eddine El Makhzen (2), Mohamed Ahakoud (3), Mody Diop (4), Hanane Sayel (4), Ihsan El Otmani (4), Said Trhanint (4), Meriam Abbassi (4), Mohammed Faouzi Belahsen (5), Laila Bouguenouch (3, 6), Karim Ouldim (4, 7)

1. Service de génétique médicale, CHU Hassan II, Fès , Maroc, Fès, Maroc
2. Service de génétique médicale , CHU Hassan II, Fès, Maroc
3. Service de génétique médicale, CHU Hassan II, Fes, Maroc
4. Service de génétique médicale, CHU Hassan II, Fès, Maroc
5. Service de neurologie, CHU Hassan II, Fès, Maroc
6. Faculté de médecine et de pharmacie, Université sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc
7. Faculté de médecine et de pharmacie, Université sidi Mohamed Ben Abdellah, Fes, Maroc

Mots clefs : Parkinson, G2019S, LRRK2, RFLP, Maroc

Résumé :

Introduction : La maladie de Parkinson (MP) représente l'une des affections neurodégénératives les plus fréquentes, affectant 1 à 2 % de la population générale après 65 ans. A ce jour, un large spectre de variants génétiques a été associé à la forme familiale et sporadique de la maladie dans diverses populations du monde. Parmi ces variants figure la mutation G2019S du gène *LRRK2* impliquée à elle seule dans une proportion importante des formes autosomiques dominantes de la MP et aussi dans des formes communes idiopathiques. La fréquence de la mutation G2019S varie considérablement selon l'origine géographique et ethnique. Très rare en Asie et en Europe, elle est très fréquente en Afrique du Nord.

Objectif: Déterminer la fréquence de la mutation G2019S chez une population marocaine atteinte de la MP.

Méthode : Nous avons effectué une analyse génétique de la mutation G2019S chez 90 patients atteints de la MP en utilisant une méthode standard de PCR suivie d'une digestion enzymatique par une enzyme de restriction.

Résultat : La mutation G2019S a été retrouvée chez 45% des sujets étudiés.

Conclusion : La fréquence de la mutation G2019S dans la population marocaine étudiée confirme celles retrouvées dans d'autres populations nord-africaines.

#19929 : Étude clinique, biologique, radiologique et génétique du syndrome LPAC chez des patients tunisiens

Auteurs :

Yosra Halleb (1), Houneida Ghazouani (2), Fahmi Hmila (3), Ali Saad (4), Rafik Ghrissi (3), Ilhem Ben Jazia (5), moez gribaa (4)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de montpellier, sousse, Tunisie
2. Service d'imagerie médicale, CHU Farhat Hached, sousse, Tunisie
3. Service de chirurgie générale, CHU Farhat Hached, sousse, Tunisie
4. Laboratoire de Cytogénétique, génétique moléculaire et biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, sousse, Tunisie
5. Service de gastro-entérologie, CHU Farhat Hached, sousse, Tunisie

Mots clefs : LPAC, gene ABCB4, mutations dominantes, phosphatidylcholine

Résumé :

Le syndrome de cholélithiase associée à une faible teneur en phospholipides (LPAC) est une forme de cholélithiase suspectée chez les patients présentant une cholélithiase symptomatique associée à l'un des critères suivants : a) moins de 40 ans au début des symptômes, b) récurrence des symptômes après une cholécystectomie, c) sites hyperéchogènes intrahépatiques avec topographie compatible avec des dépôts lipidiques le long de la surface luminale de l'arbre biliaire intrahépatique, des boues intrahépatiques ou de la microlithiase, d) Antécédents familiaux de cholélithiase chez des parents au premier degré. Il est associé au gène *ABCB4* codant pour la protéine ABCB4 exprimée au niveau de la membrane biliaire canalaire de l'hépatocyte. Elle fait passer la phosphatidylcholine (PC) de la foliole interne à la foliole externe de la membrane, ce qui la rend disponible pour l'extraction avec les sels biliaires. Les défauts de cette protéine entraînent de faibles taux de PC, qui coexistent avec des concentrations normales de sels biliaires dans la bile. En conséquence, les micelles biliaires de la PC sont déstabilisées, ce qui permet aux acides biliaires non micellaires de causer des lésions épithéliales et favorise la formation de micro-calculs de cholestérol biliaire. Notre étude porte sur 19 patients tunisiens âgés de moins de 40 ans atteints de lithiase biliaire et répondant aux critères du syndrome LPAC. Nous avons réalisé une étude analytique des caractéristiques épidémiologiques, cliniques, biologiques et radiologiques des patients puis un séquençage de type Sanger des 27 exons codant du gène *ABCB4*. L'analyse moléculaire a mis en évidence une mutation pathogène du gène *ABCB4* chez 31,57% des patients. Les mutations trouvées sont de type non-sens et faux-sens (deux sont de nouvelles mutations). Des études génétiques supplémentaires de haute résolution par NGS couvrant l'ensemble du génome sont ainsi nécessaires pour rechercher des mutations dans d'autres gènes pouvant être impliqués dans ce syndrome chez les patients non mutés dans le gène *ABCB4*.

Pièce jointe : abstract LPAC Yosra Halleb.docx

#19858 : Évaluation bioinformatique de l'impact de la recalibration des scores de qualité des bases (BQSR) sur la découverte de variations issues de données de séquençage à haut-débit.

Auteurs :

Cyril FOURNIER (1, 2), Caroline CHAPUSOT (1, 2), Benjamin TOURNIER (1, 2), Romain AUCAGNE (1, 2), Emilie TISSERANT (3, 4), Laurence FAIVRE (3, 5), Christel THAUVIN (3, 4), Mary CALLANAN (6, 2), Yannis DUFFOURD (3, 4)

1. UMR1231 Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
2. Unité fonctionnelle Innovation génétique et épigénétique en oncologie, Plateforme de biologie hospitalo-universitaire, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. UMR1231 GAD, Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
4. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
5. Centre de Référence maladies rares « Anomalies du Développement et syndromes malformatifs », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. UMR1231 Inserm, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France

Mots clefs : Base quality score, Recalibration, Bioinformatique, Variant caller, Performance, GATK, BamUtils, GIAB, Pipeline

Résumé :

Les techniques de séquençage haut-débit (SHD) permettent aujourd'hui de réaliser un séquençage «à la carte» pour un coût toujours plus faible et dans des temps records. Or, nous savons que ces techniques ne sont pas sans failles et apportent leurs lots d'erreurs à différentes étapes du processus de génération des données. L'analyse bioinformatique de ces données doit donc prendre en compte et corriger ces erreurs pour générer un résultat le plus précis et réaliste possible. Dans un contexte diagnostique, les temps d'analyse se doivent de rester raisonnables afin de répondre aux exigences de temps imposés par ce genre d'examen. Parmi les nombreuses étapes d'une analyse bioinformatique de données de SHD, la recalibration du score de qualité des bases (BQSR) est une étape exigeante en temps et en ressources de calcul.

Le BQSR est une étape de pré-processing des données qui permet de détecter les erreurs systématiques produites par le séquenceur quand celui-ci estime le score de qualité de l'appel d'une base. Le score de qualité d'une base, appelé score de phred, définit la probabilité que la base séquencée soit correcte. Ce score est cependant biaisé par le contexte du séquençage, le type de machine, la technologie de séquençage utilisée, etc... Ainsi cette étape de BQSR a pour but de gommer ces différents biais afin d'obtenir un score de qualité reflétant le mieux possible la réalité.

Nous testons ici plusieurs outils de recalibration dans le but d'évaluer leur impact sur la détection de variations génomiques. Nous avons testé les outils «GATK» aux versions 2, 3 et 4, «bamUtils» et «LACER», ainsi que «Kbbq» et «Stampy». Ces outils utilisent des approches légèrement différentes afin de corriger ces biais.

Le jeu de données utilisé provient du consortium «Genome in a Bottle» (GIAB), qui met à disposition des données de séquençage sur génomes humains pour permettre l'analyse comparative et la validation de pipeline d'appel de variations. Notre jeu de données se compose d'un mix de 2 génomes, NA12878 porteur de mutations somatiques et NA24385, dont un set de variations vérifiées a été généré par le GIAB et sur lequel nous pouvons évaluer nos outils bioinformatiques.

Le pipeline de recherche de variations est basé sur les *Best practices workflow* proposé par GATK.

Les résultats obtenus indiquent une très faible variation du nombre de variations détectées, et une sensibilité égale entre les méthodes (GATK4 = 98.36%, GATK2/3 = 98.25%, bamUtils = 98.34%, No BQSR = 98.36%). Il semble donc que la recalibration n'affecte pas la sensibilité du pipeline à détecter des variations, mais en revanche double le temps de calcul global dans la plupart des cas. L'ajustement du score de qualité des bases n'a donc que peu d'effet sur la validation des variations par les algorithmes de variant calling, cette étape de BQSR très chronophage pourrait donc être supprimée de notre pipeline et nous faire gagner un temps précieux dans le processus diagnostique.

#20206 : Détection, en routine diagnostique, d'un mosaïsme constitutionnel sur le gène BRCA2 par séquençage haut débit.

Auteurs :

NOEMIE BASSET (1), VERONICA CUSIN (2), ERELL GUILLERM (1), MELANIE EYRIES (1), CHRYSTEL BRUNET (1), VERONIQUE BERTRAND (1), TOMO LISNER (1), ELISABETH DA MAIA (3), FLORENCE COULET (1)

1. Département de génétique - UF Laboratoire d'oncogénétique et d'angiogénétique, APHP Sorbone Université - Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, PARIS, France
2. Département de génétique - UF Oncogénétique clinique, APHP Sorbone Université - Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, PARIS, France
3. Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, APHP Sorbone Université - Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, PARIS, France

Mots clefs : BRCA2, mosaïque, séquençage haut débit, cancer du sein, oncogénétique

Résumé :

On estime que 10% des cancers du sein et/ou de l'ovaire sont la conséquence d'un variant pathogène héréditaire, et dans plus de 50% des cas, ces variants pathogènes sont situés dans les gènes BRCA1 et BRCA2. Actuellement, le criblage de ces gènes est couramment effectué à l'aide d'un panel de gènes étendu en utilisant le séquençage à haut débit. Cette technologie est plus sensible que les méthodes de séquençage traditionnelles et améliore la capacité de détection des événements en mosaïque. Très peu de cas de mutations de novo ont été décrits dans les gènes BRCA avec un seul cas de mosaïcisme constitutionnel démontré, sur le gène BRCA1 (Friedman, Br J Cancer 2015).

Nous rapportons un cas de mosaïcisme constitutionnel du gène BRCA2. Il s'agit d'une femme de 46 ans adressée en consultation de génétique pour un cancer du sein bifocal, présentant deux lésions de 9 et 15 mm montrant, un carcinome lobulaire invasif SBR I Ki67 à 10%, avec une composante in situ à 30 % sur un foyer (pT1b pN0), et un carcinome lobulaire in situ sur le deuxième foyer. L'immunohistochimie était positive pour les récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone et négative pour le récepteur Her2. Dans ses antécédents familiaux, on note deux sœurs atteintes d'un cancer du sein à 58 et 74 ans. Elle a deux filles et un garçon, mineurs, en bonne santé.

L'analyse, effectuée chez cette patiente, d'un panel de 13 gènes reconnus d'utilité clinique (établi selon les recommandations nationales) dans le cadre d'un syndrome de prédisposition héréditaire au cancer du sein et/ou de l'ovaire par séquençage haut débit, à partir d'un prélèvement sanguin, a mis en évidence le variant pathogène tronquant (classe 5) c.4688G > A, p.(Trp1563 *) sur le gène BRCA2. La fréquence allélique du variant est de 23% (profondeur de lecture > 500X) suggérant une mutation en mosaïque (résultat confirmé par séquençage Sanger). L'analyse d'autres types de prélèvements a permis de confirmer la présence du variant pathogène en mosaïque, à des taux similaires dans le tissu mammaire sain, l'urine, la salive, et dans les bulbes capillaires. Aucun matériel tumoral n'est accessible à ce jour et le test pré-symptomatique de ses enfants est prévu, à leur majorité.

Nous rapportons ici le premier cas de mosaïcisme constitutionnel du gène BRCA2. Même si le mosaïcisme n'est probablement pas un phénomène courant dans les familles BRCA1 /2, il est probablement sous-estimé, et le nombre de cas devrait augmenter pour deux raisons : le dépistage réalisé par une technologie plus sensible et plus précise (séquençage haut débit), et l'élargissement des indications de tests moléculaires en raison des thérapies ciblées (inhibiteur de PARP). Ainsi, même s'il est rare, cet événement devrait être pris en compte pour le conseil génétique, et dans l'évaluation des familles à haut risque.

Pièce jointe : ABSTRACT ASSISES 2020 FINAL.docx

#20146 : Filamine - A et hétérotopie nodulaire périventriculaire : Spectre phénotypique du syndrome d'Ehlers Danlos

Auteurs :

Clarisse BILLON (1, 2), Salma ADHAM (3, 2), Anne LEGRAND (3, 2), Michael FRANK (3), Anne-Claire BREHIN (4), Bertrand ISIDOR (5), Stéphane ZUILY (6), Laurent CHICHE (7), Xavier JEUNEMAITRE (3, 2), Juliette ALBUISSON (3, 8)

1. Laboratoire de Génétique, Assistance-Publique Hôpitaux de Paris , Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Inserm, PARCC, Université de Paris, Paris, France
3. Centre de référence des maladies vasculaires rares, Département de Génétique, Assistance-Publique Hôpitaux de Paris , Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
4. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Unité de génétique Clinique, CHU de Nantes – Hôtel Dieu, Nantes, France
6. Service de médecine Vasculaire, CHRU de Nancy , Nancy, France
7. Service de Chirurgie Vasculaire, Assistance-Publique Hôpitaux de Paris, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Département de Biologie et Pathologie des Tumeurs, Centre Georges Francois Leclerc, Dijon, France

Mots clefs : Hétérotopie nodulaire périventriculaire, Syndrome d'Ehlers Danlos, FLNA

Résumé :

Le gène *FLNA* code la Filamine-A, une protéine ayant un rôle clé dans la stabilité des filaments d'actine. Les variations pathogènes perte de fonction de ce gène sont impliquées dans l'hétérotopie nodulaire périventriculaire (PVNH), résultant d'une anomalie de migration neuronale. La PVNH est associée à une épilepsie dans 1/3 des cas et chez près de 2 patients sur 3 à des anomalies cardio-vasculaires (CV) où prédomine une atteinte de l'aorte thoracique ascendante. Dans cette pathologie semi-dominante liée à l'X, quelques hommes hémizygotés porteurs de variations pathogènes hypomorphes ou en mosaïque somatique ont été décrits. Des signes de maladies du tissu conjonctif (TC) peuvent être associés chez ces patients, tels qu'une hyperlaxité articulaire, une hyperélasticité cutanée, et une atteinte aortique thoracique ou abdominale. Bien que déjà décrit, le syndrome d'Ehlers-Danlos (SED) avec hétérotopie périventriculaire n'a pas été retenu dans la réactualisation de la classification de New-York (2017). En effet, la majorité des patients rapportés dans la littérature présentaient un phénotype neurologique au premier plan. L'expérience du Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares (CRMVR) pourrait amener à revoir ce point de classification : nous rapportons ici 6 patients, initialement adressés au CRMVR, en Centre de Compétence, ou en consultation de Génétique, pour un phénotype de SED avec atteinte vasculaire sans épilepsie. Une perte de fonction de *FLNA* a été identifiée chez ces 6 patients. Nous avons procédé à une revue de la littérature, et 80% des patients mutés *FLNA* présentaient au minimum un critère majeur de SED classique (en particulier l'hyperlaxité articulaire). La prévalence des atteintes vasculaires était élevée, avec une moyenne de 45% d'anévrysmes et 30% d'anomalies valvulaires. La fréquence inattendue de l'association entre anomalies CV et signes majeurs de SED relevée au cours de cette revue suggère que les complications et caractéristiques cliniques liées aux SED appartiennent bien au spectre phénotypique du syndrome PVNH lié à *FLNA*, et qu'elles y sont prévalentes. Ce chevauchement clinique devrait conduire à reconsidérer cette pathologie en tant que membre du spectre phénotypique des SED. Nous démontrons que l'association d'une hyperlaxité articulaire (avec ou sans hyperélasticité cutanée) et d'anomalies de la valve cardiaque et/ou d'atteinte de l'aorte thoracique, y compris en l'absence de crises convulsives, doit faire rechercher une variation pathogène de *FLNA*. Une IRM cérébrale peut être prescrite à la recherche de PVNH pour étayer cette hypothèse.

#20164 : Apports des analyses génomiques (CGH et NGS) dans l'identification de causes rares d'infertilité féminine.

Auteurs :

Noémie Celton (1), Florence Scheffler (2), Guillaume Jedraszak (3), Rosalie Cabry (4), Henri Copin (4), Moncef BenKhalifa (2)

1. Génétique, CHU Tours, Tours, France
2. Médecine de la reproduction, CHU Amiens, Amiens, France
3. Génétique, CHU Amiens, Amiens, France
4. Médecine de la reproduction, CHU Amiens, Amiens, France

Mots clefs : infertilité, IOP, NGS

Résumé :

Introduction :

On estime à 10% l'incidence des troubles de la fertilité. Dans 30 à 40% des cas, un trouble de la fonction ovarienne est identifié. Suite au bilan standard la majorité des infertilités ovariennes reste inexpliquée.

L'objectif de l'étude est d'évaluer l'apport des analyses génomiques (CGH et NGS) au diagnostic étiologique de ces infertilités.

Matériel et méthodes :

-Cohorte de 25 patientes de moins de 36 ans présentant une infertilité d'origine ovarienne inexpliquée (23 insuffisances ovariennes prématurées (IOP), et 2 troubles de la folliculogénèse avérés)

-Recherche de remaniements chromosomiques par CGH-array (Agilent, 180K)

-Recherche de variants géniques par NGS (Exome Clinique Sophia Genetics)

-Confirmation des variants identifiés et enquête familiale par caryotype, FISH, PCR semi-quantitative ou séquençage Sanger selon la nature du variant identifié.

Résultats :

La CGH-array a permis d'identifier 2 remaniements causaux dans des contextes d'IOP (délétion récurrente 15q25.2 (**CPEB1**), recombinant de l'X non visible au caryotype), et 4 autres remaniements d'intérêts peu ou pas décrits comprenant des gènes candidats dans l'infertilité (**NAIP, DMXL2, SPANXC, SLCO3A1**).

L'analyse NGS de 6 patientes, a permis d'identifier des variants causaux pour 3 familles :

Mutation tronquante homozygote dans le gène **FIGLA** identifiée chez 2 sœurs présentant une IOP franche.

Mutations faux-sens dans le gène **MLH3** à l'état hétérozygote composite identifiées chez une patiente présentant un blocage méiotique diagnostiqué lors de la fécondation *in vitro*.

Mutation faux sens homozygote dans le gène **ZP1** chez une patiente présentant un syndrome des complexes cumulo-ovocytaires vides diagnostiqué lors de la fécondation *in vitro*.

Discussion :

Cette étude a permis d'objectiver l'apport des explorations génomiques dans l'infertilité féminine inexpliquée. Au total une origine génétique a été identifiée pour 6 patientes et des variants d'intérêt nécessitant des études complémentaires chez 4 autres patientes. Le rendement diagnostique de notre étude est donc de 25%.

Les causes génétiques occupent une place prépondérante dans l'infertilité puisqu'on estime qu'environ 50% des infertilités auraient une composante génétique isolée ou associées à d'autres facteurs. Malgré cela les causes génétiques de l'infertilité restent encore majoritairement inconnues. Combiner une approche chromosomique et une approche génique permettrait d'identifier le substratum moléculaire des infertilités inexpliquées.

Pièce jointe : Assises2020.docx

#20271 : Duplication partielle du gène DMD : situation piège en prénatal

Auteurs :

Laurence MICHEL-CALEMARD (1), Tristan CELSE (2), Radu HARBUZ (2), Rita MENASSA (1), Gaëlle VIEVILLE (2), Françoise DEVILLARD (2), Florence AMBLARD (2), Charles COUTTON (2, 3), Véronique SATRE (2, 3)

1. UM Pathologies Endocriniennes Rénales Musculaires et Mucoviscidose, Service Biochimie Biologie Moléculaire Grand Est, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
2. UM de Génétique Chromosomique, CHU GRENOBLE ALPES, GRENOBLE, France
3. Team Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility, Université Grenoble Alpes, INSERM U1209, CNRS UMR 5309, Institute for Advanced Biosciences, GRENOBLE, France

Mots clefs : DMD, diagnostic prénatal, haplotypage, insertion, chromosome Y

Résumé :

Nous présentons le cas d'une patiente de 22 ans dont le dossier a été présenté au CPDPN de Grenoble car à l'échographie du premier trimestre son fœtus présentait une clarté nucale à 3,5 mm pour une longueur cranio caudale à 63 mm. Le caryotype réalisé sur un prélèvement de villosités choriales s'est révélé normal 46,XY et l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) a mis en évidence une duplication intragénique de 401 kb comprenant les exons 56 à 73 du gène *DMD*. L'analyse par MLPA du gène *DMD* a confirmé la duplication chez le fœtus de sexe masculin et son absence chez la patiente. L'analyse des microsatellites dans cette région a montré la présence de deux haplotypes différents : un d'origine maternelle et un non maternel. La MLPA réalisée chez le père en bonne santé a permis d'identifier la duplication chez lui et l'haplotypage a confirmé que le deuxième allèle était d'origine paternelle. L'analyse par FISH chez le fœtus et son père a permis de montrer que le fragment dupliqué s'était inséré dans les bras longs du chromosome Y, dans la région Yq11.22. L'étude familiale n'a malheureusement pas pu être poursuivie dans la famille paternelle. La présence de la duplication chez le père sain a permis d'être rassurant pour la grossesse en cours concernant l'effet de cette duplication et la grossesse s'est poursuivie jusqu'au terme sans particularité.

Ce cas de figure permet de tirer deux enseignements. Il ne faut pas conclure trop vite au caractère *de novo* d'une duplication potentiellement pathogène du chromosome X non retrouvée chez la mère. Il est important de réaliser des vérifications des anomalies mises en évidence par ACPA par des techniques complémentaires permettant soit d'évaluer l'origine parentale de l'anomalie, y compris dans les pathologies liées à l'X, soit leurs positions chromosomiques.

Pièce jointe : Résumé DMD.docx

#19919 : Caractérisation et localisation de nouvelles séquences répétitives dans le génome humain

Auteurs :

RABEB TOUATI (1, 2), Asma Tajouri (1), imen Messaoudi (2), Afef Elloumi oueslati (2), Lachiri Zied (2), Maher Kharrrat (1)

1. , Laboratoire de Génétique Humaine LR99ES10, Faculté de médecine de Tunis (FMT), Université de Tunis El Manar, Tunisie, TUNIS, Tunisie

2. , Laboratoire Signal, Images et Technologies de l'Information (LR-SITI-ENIT), Ecole Nationale d'Ingénieurs de Tunis (ENIT), Université de Tunis El Manar, TUNIS, Tunisie

Mots clefs : Séquences répétitives, répétition en tandem, satellites, gène, technique de codage, transformation en ondelettes, détection de motifs répétitifs, segmentation d'image, génome humain, New-annotated-repeat-Data

Résumé :

Les séquences répétitives occupent la majeure partie de l'ADN humain et leur importance dépend de leur position, fonction et nombre d'occurrence. Différentes séquences répétitives du génome humain ont été identifiées en utilisant l'alignement de séquences consensus et ont été annotées dans des banques d'ADN. Cependant, la recherche automatique de ces séquences reste un défi pour les chercheurs en biologie. Pour cela, il est indispensable de remplacer les expérimentations par de nouvelles méthodes pour explorer le génome humain. Dans ce travail, les outils de traitement du signal et de l'image ont été utilisés pour visualiser et détecter des séquences répétitives indépendamment de leur taille et de leur position. Notre technique est appliquée sur le chromosome en entier et elle permet la localisation de motifs répétitifs dans une nouvelle représentation de l'ADN en image. Les motifs répétitifs choisis dans cette étude, correspondent à des séquences de références qui sont les plus fréquentes dans tous les chromosomes du génome humain, et ce indépendamment de leur taille. Notre approche nous a permis de détecter des séquences répétées en tandem même si le motif de répétition renferme des variations nucléotidiques. En effet, une telle imperfection n'engendre pas d'une grande influence sur la forme globale du motif répétitif au niveau de la séquence de l'ADN. En conséquence, nous pouvons ainsi générer une nouvelle base de données de séquences répétitives contenant des motifs répétés en tandem ou des séquences dispersées dans les chromosomes du génome humain.

Pièce jointe : R Touati et al.docx

#20062 : Faux positif d'ADNlcT21 avec différentes anomalies chromosomiques confinées au placenta

Auteurs :

Luc DRUART (1), Hélène DESSUANT (1), Laure RAYMOND (2), Sylvie TAPIA (1), Francis ROUSSEAU (3), Jean François TALY (3), Marc Nouchy (3)

1. Cytogénétique, Eurofins Biomnis, Paris, France
2. génétique moléculaire, Eurofins Biomnis, Lyon, France
3. Génétique moléculaire, Eurofins Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : ACPA, ADNlc, cytogénétique, dépistage prénatal, diagnostic prénatal, SNP array

Résumé :

L'existence de résultats faux positifs pour le dépistage de la trisomie 21 basé sur l'ADN fœtal libre circulant (ADNlc) dans le sang maternel justifie la réalisation d'un geste invasif de préférence par amniocentèse (1). Nous rapportons le cas d'une patiente de 38 ans ayant eu un dépistage combiné avec un risque de 1/139, un test ADNlc positif pour la trisomie 21, une amniocentèse avec un caryotype fœtal 46,XX. La mort du fœtus a été constatée à 34SA. Une ACPA a été réalisée sur un prélèvement du placenta et a mis en évidence une trisomie 3 complète, sans mosaïque, et une trisomie 21 complète, avec une mosaïque à 50%. Le caryotype et l'autopsie du fœtus n'ont pas été réalisés. Les données du séquençage ayant servies au test ADNlcT21 ont été ré-analysées avec un logiciel différent et développé à partir de différentes publications pour avoir une analyse complète du génome fœtal (2,3) Le nouveau résultat obtenu est également positif pour la trisomie 21 mais négatif pour la trisomie 3. Nous analysons les causes des discordances apparentes des résultats obtenus par les différents tests réalisés et tentons d'expliquer les causes possibles de la mort fœtale au vu des connaissances actuelles sur les mosaïques confinées au placenta (4,5,6). Parmi les différentes hypothèses d'origine chromosomique pouvant expliquer la mort fœtale, la trisomie 3, considérée isolément, semble la moins probable, la trisomie 21, considérée isolément, est une cause possible, mais la double trisomie 3 et 21, touchant de façon différente les parties d'origine trophoblastique et d'origine mésenchymateuse du placenta, semble la cause la plus probable du décès du fœtus vraisemblablement indemne de toute anomalie chromosomique. **1.** Arrêté du 14 décembre 2018 modifiant l'arrêté du 23 juin 2009 modifié fixant les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic prénatals avec utilisation des marqueurs sériques maternels de trisomie 21. JORF n°0294 du 20 décembre 2018 **2.** C. Zhao *et al.*, « Detection of Fetal Subchromosomal Abnormalities by Sequencing Circulating Cell-Free DNA from Maternal Plasma », *Clin. Chem.*, vol. 61, n° 4, p. 608-616, avr. 2015. **3.** R. Straver, E. A. Sistermans, H. Holstege, A. Visser, C. B. M. Oudejans, et M. J. T. Reinders, « WISECONDOR: detection of fetal aberrations from shallow sequencing maternal plasma based on a within-sample comparison scheme », *Nucleic Acids Res.*, vol. 42, n° 5, p. e31-e31, mars 2014. **4.** Grati FR. Chromosomal Mosaicism in Human Feto-Placental Development: Implications for Prenatal Diagnosis. *J Clin Med.* 2014 Sep; 3(3): 809-837. **5.** Toutain J, Labeau-Gaüzere C, Barnetche T, Horovitz J, Saura R. Confined placental mosaicism and pregnancy outcome: a distinction needs to be made between types 2 and 3. *Prenat Diagn* 2010 30: 1155-1164. **6.** Toutain J, Goutte-Gattat D, Horovitz J, Saura R (2018) Confined placental mosaicism revisited: Impact on pregnancy characteristics and outcome. *PLoS One.* 2018; 13(4): e0195905.

Pièce jointe : Faux positif d.docx

#19880 : Mosaïcisme somatique dans la polykystose rénale autosomique dominante: Etude de 18 cas.

Auteurs :

Marie Pierre AUDREZET (1), Vinh Toan HUYNH (2), Isabelle CORRE (3), Aurore DESPRES (3), Eric RENAUDINEAU (4), Marion SALLEE (5), Cécile COURIVAUD (6), François JOURET (7), Marie Line JACQUEMONT (8), Régine PERRICHOT (9), Lise Marie POUTEAU (10), Hélène LONGUET (11), Claude FEREC (1), Yannick LE MEUR (12), Emilie CORNEC-LE GALL (12)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU BREST, BREST, France
2. service de Néphrologie, CHRU, BREST, France
3. Service de Génétique Moléculaire, CHRU, BREST, France
4. service de Néphrologie, Hôpital Général, Saint Malo, France
5. Néphrologie et Transplantation rénale, APHM Hôpital de la Conception, MARSEILLE, France
6. service de Néphrologie, CHU Besançon, BESANCON, France
7. service de Néphrologie, Université de Liège, LIEGE, Belgique
8. Génétique Médicale, CHU La Réunion, SAINT PIERRE, France
9. Néphrologie, CH BRETAGNE ATLANTIQUE VANNES, BREST, France
10. service de Néphrologie, CH Laval, LAVAL, France
11. service de Néphrologie, CHU Tours, TOURS, France
12. Néphrologie, CHRU BREST, BREST, France

Mots clefs : ADPKD, Mosaïque, PKD1

Résumé :

INTRODUCTION: La Polykystose rénale autosomique dominante (PKRAD) est une maladie génétique de transmission monogénique fréquente, qui touche environ 1 personne sur 1000 et est responsable de 7 % des causes d'insuffisance rénale terminale (IRT) chez l'adulte. La maladie se caractérise par une variabilité génétique, avec deux gènes majoritaires impliqués : le gène *PKD1*, responsable de 85 % des cas, localisé en 16p13.3, codant la polycystine 1 et le gène *PKD2*, responsable de 15 % des cas, localisé en 4q21, codant la polycystine 2. Plus de 1200 mutations ont été décrites dans le gène *PKD1* et environ 200 dans le gène *PKD2*, la très grande majorité d'entre elles étant des mutations privées. Dans 7 à 10% des cas, l'analyse moléculaire ne permet pas d'identifier la mutation en cause.

La survenue de mutations du gène *PKD1* *de novo* au stade embryonnaire précoce, ou mosaïcisme, a été rapportée dans la littérature chez 5 individus à ce jour. Ce phénomène est probablement sous-estimé car difficile à mettre en évidence dans l'ADN leucocytaire par les techniques de séquençage traditionnel.

PATIENTS ET METHODES : Nous avons colligé tous les cas de mosaïcisme somatique responsables d'une PKRAD chez des patients inclus dans la cohorte Genkyst et/ou adressés au laboratoire de Génétique moléculaire du CHU de Brest. Les données génétiques, cliniques et radiologiques des patients ont été analysées.

RESULTATS

Nous avons identifié 18 cas de mosaïcisme, chez des patients âgés de 9 à 62 ans. Le variant pathogène familial a été retrouvé chez 14 individus avec des ratios alléliques variant de 3,5 à 40% dans l'ADN leucocytaire et était indétectable chez quatre individus. Toutes les mutations affectaient le gène *PKD1* (15 mutations tronquantes dont 2 affectant un site d'épissage et 3 non-tronquantes). La PKRAD survenait *de novo* chez tous les patients identifiés, avec un phénotype rénal peu sévère dans la majorité des cas (un seul individu, porteur d'une mutation tronquante de *PKD1*, avait atteint l'IRT à 63 ans). Une asymétrie marquée de la taille des reins (quatre individus) ou une polykystose hépatique sévère contrastant avec une atteinte rénale modérée (trois individus) ont été rapportés, suggérant des niveaux de mutation hétérogènes selon dans les différent organes. Lorsque la maladie était transmise à la descendance, les symptômes survenaient plus précocement et l'atteinte rénale était plus sévère, en rapport avec le génotype *PKD1*.

CONCLUSION

Une mutation du gène *PKD1* en mosaïque peut expliquer un test génétique initial négatif, et se traduit par un phénotype souvent moins sévère qu'attendu, ou une présentation clinico-radiologique atypique de type atteinte asymétrique ou unilatérale. L'identification de ces patients a des conséquences importantes en termes de conseil génétique (risque de transmission à la descendance) et en terme d'information pronostique (atteinte pouvant être moins sévère, mais qui sera d'évolution classique si elle est transmise à la génération suivante).

#20301 : Identification de variants de novo dans le gène KCNH1 chez 6 patients sans signes classiques des syndromes de Zimmerman-Laband / Temple-Baraitser**Auteurs :**

Marion Aubert-Mucca (1), Olivier Patat (1), Sandra Whalen (2), Sarah Weckhuysen (3), Diane Doummar (4), Stéphanie Valence (5), Caroline Karsenty (6), Lionel Arnaud (7), Eric Le Guern (7), Caroline Nava (7), Laurent Villard (8), Boris Keren (7), Cyril Mignot (9)

1. Service de génétique médicale, CHU Toulouse Purpan, Toulouse, France
2. Service de génétique médicale, CHU Paris Est - Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France
3. Département de génétique moléculaire, University of Antwerp | UA · VIB, Anvers, Belgique
4. Service de Neuropédiatrie, Unité de neuropédiatrie et pathologie du développement, CHU Paris Est - Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France
5. Service de Neuropédiatrie - Unité de neuropédiatrie et pathologie du développement, CHU Paris Est - Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France
6. Service de Neuropédiatrie, CHU Toulouse Purpan, Toulouse, France
7. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Centre de génétique moléculaire et chromosomique, CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Laboratoire de génétique moléculaire, Département de génétique médicale, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
9. Unité Déficiences intellectuelles/ troubles du développement, Service de Génétique clinique et Médicale, CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix - Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : KCNH1, intellectual disability, epilepsy, Temple-Baraitser syndrome, Zimmermann-Laband syndrome

Résumé :

KCNH1 *de novo* missense variants have been reported in association with two clinically recognizable phenotypes: Temple-Baraitser Syndrome [TBS] and Zimmerman-Laband Syndrome [ZLS]. The clinical overlap between these two syndromes suggests they belong to a spectrum of *KCNH1*-related encephalopathies. The affected patients are usually described as having a severe intellectual disability with or without epilepsy, hypertrichosis and more distinctive features such as nail hypo/aplasia and gingival hyperplasia described in almost 90% of all the published cases. Very few patients described so far in the literature with a diagnosis of *KCNH1*-related encephalopathies lack the typical limb or gingival abnormalities. We report here an international multi-centric series of 6 atypical cases with 3 novel *de novo* missense variants in *KCNH1* in whom the diagnosis had not been considered at examination. Variants were identified by whole-exome sequencing or epilepsy gene panel.

Referring clinical geneticist reevaluated their patient's phenotypes and completed a standardized table for data collection. This showed that typical features of TBS/ZLS, including anomalies of nails and gingival enlargement, were actually lacking in all six patients. Although our patients' variants localized nearby previously reported ones, the p.Gly496Arg substitution occurred in 3/6 of our patients and other changes involving the same residue (p.Gly496Arg and p.Gly496Glu) have been previously reported in the literature in patients with a mild form of TBS/ZLS. Besides, we noted that constipation, which could be particularly severe, seems to be frequent, and frequently motivates a specific medical follow-up. In order to conclude, we define here an extension of the *KCNH1*-phenotype with mild or non syndromic forms, and a possible genotype/phenotype correlation needing further cases.

Pièce jointe : Abstract KCNH1 Assises 2020.docx

#19801 : Diagnostic moléculaire des anomalies de structures dentaires non syndromiques : intérêt de l'approche par NGS ciblé**Auteurs :**

CELINE GAUCHER (1, 2), CAROLINE SILVE (3, 4), Audrey BRIAND (5, 4), Chrystel LEROY (5), Aurélie TOUSSAINT (5), Dominique VIDAUD (5, 4), Michel VIDAUD (5, 4), Eric PASMANT (5, 4)

1. Génétique et Biologie Moléculaires / Médecine Bucco-Dentaire, Hopital Cochin, APHP Centre/ Hôpital Henri Mondor, APHP, Paris, France
2. EA2496, faculté de chirurgie dentaire, Université de Paris, Montrouge, France
3. Génétique et Biologie Moléculaires / Médecine Bucco-Dentaire, Hopital Cochin, APHP Centre, Paris, France
4. Inserm UMR_S1016, Institut Cochin, Université de Paris, Paris, France
5. Génétique et Biologie Moléculaire, Hopital Cochin, APHP Centre, Paris, France

Mots clefs : métabolisme minéral, amélogénèse imparfaite, dentinogénèse imparfaite, anomalies de la dentine, NGS

Résumé :

INTRODUCTION: Les anomalies de structure des tissus minéralisés dentaires d'origine génétique peuvent s'exprimer de façon isolée ou associées à des syndromes poly- malformatifs ou métaboliques (Ostéogénèse imparfaite, Syndrome Email-Rein, Hypophosphatémies à FGF23 élevées, Syndrome de Raine...). La compréhension de ces anomalies au niveau moléculaire a énormément évolué ces dernières années, amenant à une révision des classifications cliniques. Ainsi l'entité « Amélogénèse imparfaite (AI) » est dorénavant retenue pour toutes les anomalies non syndromiques de l'émail et le terme « Dentinogénèse imparfaite (DI) » est réservé aux anomalies non syndromiques de la dentine liées à des mutations du gène *DSPP*. A ce jour, 19 gènes ont été impliqués dans les amélogénèses imparfaites non syndromiques et 3 (en plus de *DSPP*) dans des anomalies de la dentine. **OBJECTIF :** Considérant 1) que certains de ces gènes peuvent s'exprimer à la fois dans des anomalies isolées ou dans des formes syndromiques, et 2) que les anomalies de structure dentaires sont les signes d'appels précoces de certains de ces syndromes, il est apparu nécessaire de proposer un diagnostic moléculaire des anomalies de structure dentaires « isolées ». **METHODES :** La structuration du diagnostic génétique en France au sein des filières maladies rares couvre l'exploration de la majorité des syndromes/ pathologies métaboliques ou multi-organes. La stratégie s'est donc orientée vers une approche la plus ciblée possible afin de pouvoir 1) affirmer la causalité génétique de l'anomalie dentaire observée et 2) la restreindre, ou non, à cette seule expression dentaire. Un résultat négatif peut conduire, selon le phénotype général, à orienter le patient vers des examens cliniques et/ou une recherche moléculaire plus approfondie. Un panel regroupant les 22 gènes répertoriés a donc été développé en NGS par capture et est exploité depuis 18 mois. **RESULTATS :** Dix-neuf familles cliniquement diagnostiquées comme présentant une anomalie de la dentine, et vingt-huit familles présentant une AI ont été analysées. Sur les 19 cas index d'anomalie de la dentine, 8 présentent un variant pathogène de *DSPP* et 3 sont porteurs d'un variant pathogène dans un gène affilié à l'amélogénèse imparfaite, soit 42 % de mutations de *DSPP*, et un taux de rendu positif global de 58%. Sur les 28 cas index présentant une amélogénèse imparfaite, 18 variants pathogènes ont été confirmés, sur 9 gènes différents (*AMELX*, *ENAM*, *FAM83H*, *ODAPH*, *DLX3*, *MMP20*, *COL17A1*, *LAMA3*, *LAMB3*) soit un taux de rendu positif de 64%. **CONCLUSION :** L'approche moléculaire ciblée des anomalies de structure de l'émail et de la dentine démontre son intérêt diagnostique (taux de rendu positif cumulé de 61%). De plus, de façon intéressante, elle indique que des gènes « AI » peuvent être impliqués dans des pathologies cliniquement diagnostiquées « DI » dans un premier temps. Un protocole de recherche d'analyse par WGS est en cours pour explorer les familles négatives.

#20005 : La Dysplasie Alvéolo-Capillaire : une série Française

Auteurs :

Renaud Touraine (1), Laurélia Jourdan-Voyen (2), Véronique Adouard (1), Inès Harzallah (1), Jean-Pierre Masutti (3), Tiffany Busa (4), Catherine Vincent-Delorme (5), Lelia Dreyfus (6), Arnaud Molin (7), Baptiste Savey (8), Abraham Mounzer (9), Ziad Assaf (10), Véronique Atallah (11), Vanessa Da Cruz (12), Dominique Gaillard (13), Elise Leroy-Terquem (14), Jean-Baptiste Mouton (15), Jamal Ghoumid (16), Jean-Charles Picaud (17), Frédérique Dijoud (18), Sonia Bouquillon (19), Cédric Baumann (20), Laetitia Lambert (21)

1. Génétique, CHU-Hôpital Nord, SAINT ETIENNE cdx2, France
2. Néonatalogie, CHU de Nancy, Nancy, France
3. Foetopathologie, CHU de Nancy, Nancy, France
4. Génétique, CHU-La Timone, Marseille, France
5. Génétique, CHG d'Arras, Arras, France
6. Néonatalogie, CHU de Lyon, Bron, France
7. Génétique, CHU de Caen, Caen, France
8. Néonatalogie, CHU de Caen, Caen, France
9. Néonatalogie, CHG de Verdun, Verdun, France
10. Néonatalogie, CHU- Hôpital Necker, Paris, France
11. Cardiologie Pédiatrique, CHU-Hôpital Necker, Paris, France
12. Anatomo-Pathologie, CHU-Hôpital Nord, Saint Etienne, France
13. Génétique, CHU de Reims, Reims, France
14. Néonatalogie, CHU-Hôpital Necker, Paris, France
15. Cardiologie Pédiatrique, CHU de Bordeaux, Pessac, France
16. Génétique, CHU de Lille, Lille, France
17. Néonatalogie, CHU-Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France
18. Anatomo-Pathologie, CHU de Lyon, Bron, France
19. Cytogénétique, CHU de Lille, Lille, France
20. Recherche Clinique, CHU de Nancy, Nancy, France
21. Génétique, CHU de Nancy, Nancy, France

Mots clefs : Dysplasie alvéole-capillaire, FOXF1

Résumé :

La Dysplasie Alvéolo-Capillaire (DAC) avec défaut d'alignement des vaisseaux pulmonaires (OMIM 265380) est une cause rare d'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) du nouveau-né. Le diagnostic est fait par l'analyse histologique. Une haplo-insuffisance du gène *FOXF1* est responsable de cette pathologie.

Nous avons repris les cas analysés au laboratoire de Génétique du CHU de Saint-Etienne, diagnostiqués entre 2005 et 2017 dans une étude rétrospective.

Sur cette série, l'analyse moléculaire a identifié une anomalie chez 16 enfants sur 21 (76,2%). L'âge gestationnel était en moyenne de 37,6 semaines et les symptômes de détresse respiratoire sont apparus vers la 60^{ème} heure en moyenne. Une HTAP a été diagnostiquée chez 20/21, suprasystémique dans 70% des cas. Une histologie pulmonaire a été faite pour 57,1% lors d'une autopsie et pour 28,6% après biopsie percutanée. Deux cas ont eu une survie un peu plus longue de 3,3 et 14 mois.

Une anomalie de *FOXF1* ou de sa région a été identifiée chez 16 enfants : 8 mutations ponctuelles et 8 délétions impliquant *FOXF1* ou sa région régulatrice.

Cette étude a permis de préciser l'histoire de ces patients et de proposer un arbre décisionnel pour faciliter le diagnostic de cette pathologie rare et probablement sous-diagnostiquée.

#20207 : Améliorer l'information des patients et de leurs parents sur les enjeux du séquençage des tumeurs de l'enfant par un regard interdisciplinaire sur les questions éthiques, légales et psychologiques

Auteurs :

Sandrine de Montgolfier (1), Emmanuelle Rial-Sebbag (2), Khadija Lahlou-Laforêt (3), Lucile Hervouet (4), Sandra Le Tirant (2), Isabelle Coupier (5, 6), Laurence Brugières (7), Franck Bourdeaut (8), Marion STRULLU (9), Hélène Cave (10, 11), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (12, 13), Sophie Julia (14)

1. Institut de Recherche Interdisciplinaire sur les enjeux Sociaux (IRIS), Ehess/INSERM/CNRS, Paris, France
2. UMR 1027 INSERM, Université de Toulouse & Université Toulouse III – Paul Sabatier, Toulouse, France
3. UF de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgences, DMU Psychiatrie et Addictologie, et Département de Génétique, APHP, Centre-Universités de Paris, Paris, France
4. IRIS Institut de recherche interdisciplinaire sur les enjeux sociaux (UMR 8156 CNRS - 997 INSERM - EHESS - UP13) - , Université Paris 13 - Campus Condorcet, Aubervilliers, France
5. Service de génétique médicale et oncogénétique , CHU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve Montpellier, Montpellier, France
6. INSERM896, CRCM Val d'Aurelle, Montpellier, France
7. Département de Cancérologie de l'enfant et de l'adolescent, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
8. SIREDO Pediatric Oncology Center, Laboratory of Translational Research in Pediatric Oncology – INSERMU830, Institut Curie, Paris, France
9. Service d'hémo-immunologie pédiatrique, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Robert Debré, Paris, France
10. Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (AP-HP), Département de Génétique, Hôpital Robert Debré,, Paris, France
11. INSERM UMR 1131, Institut de Recherche Saint-Louis, Université de Paris, Paris, France
12. Assistance Publique Hôpitaux de Paris (AP- HP), Service de Génétique , Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
13. PARCC, INSERM, Université de Paris, Paris, France
14. Service de génétique médicale, Hôpital Purpan CHU Toulouse, Toulouse, France

Mots clefs : Oncopédiatrie, Séquençage, Oncogénétique, Ethique, Légal, Psychologie, Information, Consentement

Résumé :

Contexte et objectifs

Les techniques de séquençage du génome sont utilisées de plus en plus fréquemment en oncologie pédiatrique pour la recherche de thérapies ciblées de cancers en rechute ou progressifs sous traitements. Ces explorations associent un séquençage tumoral et constitutionnel, et peuvent révéler une prédisposition génétique au cancer et des données incidentes. Ces approches modifient les pratiques de génétique (logistiquement et temporellement). Elles interrogent le contexte juridique de leur utilisation en clinique et en recherche, les conséquences psychologiques et les modalités d'information et de consentement.

Le projet GenInfoKid (Projet INCa-SHS N°2018-127 de 3 ans) repose sur une approche multidisciplinaire combinant droit, éthique psychologie et sociologie associant chercheurs en SHS, cliniciens et biologistes. Nous présenterons la méthodologie et quelques résultats préliminaires.

Méthodes

Le 1er axe méthodologique prévoit une analyse éthique et légale (via une revue de littérature et des entretiens semi-directifs avec les professionnels impliqués en oncopédiatrie).

Le 2ème axe s'intéresse aux facteurs influençant la décision des parents et des enfants de réaliser un test génétique et aux conséquences psychologiques (via des entretiens auprès d'enfants et de leurs parents lors du test et après l'annonce du résultat puis via un questionnaire construit à l'issue de cette phase qualitative).

Un 3ème axe s'intéresse aux besoins en information des jeunes patients et de leurs parents à l'aide de focus group déployés dans 6 services d'oncopédiatrie partenaires.

Résultats préliminaires

L'analyse du cadre juridique, en cours de révision, questionne l'usage des tests génétiques chez les enfants : le rendu des données incidentes, le rendu des résultats de génétique de maladie à révélation tardive chez un enfant et la réutilisation d'échantillons issus d'enfants pour la recherche post-mortem.

Pour les professionnels, l'utilisation du séquençage est vécue comme un espoir de mieux traiter l'enfant, et/ou identifier une prédisposition génétique dans la famille. Une limite ténue est mise en évidence entre ce qui relève de la clinique et de la recherche. Le nombre de professionnels impliqués augmente et certains ne se sentent pas suffisamment qualifiés pour prescrire ce type de test et accompagner les familles. Enfin, le profil de professionnels impliqués et les parcours des familles sont variables au sein de services et entre les sites.

Pour les familles (jeunes patients et parents), l'investigation génétique est associée à l'enjeu de trouver des réponses sur les causes de la maladie et d'adapter son comportement (reproductif et de surveillance). Cependant, plusieurs risques sont identifiés concernant une démarche perçue comme « sans retour », qui implique la famille et peut susciter de la culpabilité et des conflits. En termes d'information, les familles semblent préférer une information directe et répétée tout en évitant l'infantilisation.

#20555 : Etude clinique et moléculaire du syndrome de Noonan avec lentigines multiples : A propos de 5 patients tunisiens

Auteurs :

Héla SASSI (1), Hana SAFRAOU (2), Imen CHELLY (3), Rym MEDDEB (4), Elhem JBEBLI (5), Faten FDHILA (5), Nouredine LITAEIM (6), Mediha TRABELSI (4), Faouzi MAAZOU (7), Ines OUERTANI (8), Lilia KRAOUA (9), Ridha M'RAD (9)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie
3. Service de pédiatrie, Hôpital de Bizerte, Tunis, Tunisie
4. Service des maladies congénitales et héréditaires , Hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie
5. Service de médecine infantile B , Hôpital Béchir Hamza, Tunis, Tunisie
6. Service de Dermatologie , Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
7. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie
8. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
9. Service des maladies congénitales et héréditaires , Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Syndrome de Noonan avec Lentigines Multiples, Voie RAS, PTPN11, Séquençage Sanger, Séquençage de nouvelle génération

Résumé :**Introduction:**

Le syndrome de Noonan avec lentigines multiples « SNLM » (OMIM 151100) est une affection autosomique dominante rare, à ce jour seulement 235 patients ont été répertoriés dans le monde. Il est caractérisée par l'association d'une dysmorphie faciale, d'une atteinte cutanée (présence de lentigines multiples) et d'une cardiomyopathie hypertrophique. Dans plus que 90% des cas, le SNLM est dû à des mutations inhibitrices du gène *PTPN11* (exon 7,12 et 13). Ce gène code pour une tyrosine kinase SHP2 qui joue un rôle important dans la régulation de la voie RAS /MAPK. Les caractéristiques cliniques du SNLM sont partagées essentiellement avec le syndrome de Noonan et les autres RASopathies. A notre connaissance, les profils clinique et moléculaire du SNLM ne sont pas connus en Tunisie. Nous rapportons la première étude génétique tunisienne du SNLM.

Méthodes:

Nous avons mené une étude rétrospective, incluant des patients ayant une suspicion clinique de SNLM, adressés au service des maladies congénitales et héréditaires de l'hôpital Charles Nicolle de Tunis entre 2012 et 2019. L'étude moléculaire a été réalisée par séquençage de nouvelle génération (NGS) et par méthode de Sanger ciblant les exons 7, 12 et 13 du gène *PTPN11* (gène majeur du SNLM).

Résultats:

Nous avons colligé 5 patients tunisiens de SNLM, 1 cas familial et 2 cas isolés, répartis en 3 garçons et 2 filles. L'âge moyen était de 17 ans. La dysmorphie faciale était typique chez les 5 patients et était à type : de facies triangulaire, un front haut, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, un ptosis, des oreilles larges bas implantées en rotation postérieure, des lèvres épaisses et un cou court. L'examen de la peau et des phanères a décelé une peau lâche et sèche (5 cas), des lentigines >100 (5 cas) et des taches café au lait (4 cas). L'échographie cardiaque a révélé une atteinte cardiaque à type de cardiomyopathie hypertrophique (CMH) (1/5), une insuffisance mitrale (1/5) et un cas de CMH avec sténose de l'artère pulmonaire (1/5). La déficience intellectuelle concernait 3/5 cas. Les atteintes sensorielles étaient une myopie (3 cas) et une surdité chez 2 cas. Le diagnostic moléculaire a été confirmé chez tous les patients (cas familial et 2 cas isolés). Le résultat du séquençage a montré la présence au niveau de l'exon 7 du gène *PTPN11*, la mutation c.836A>G (Y279C) à l'état hétérozygote chez 4/5 patients et la présence au niveau de l'exon 12 du gène *PTPN11*, la mutation c.1391G>C (G464A) à l'état hétérozygote chez le 5^{ème} patient. Le risque de récurrence dans le SNLM est estimé à 50% dans le cas familial et à 1% dans les cas sporadiques.

Conclusion:

Notre étude a montré que le spectre clinique et moléculaire du SNLM dans la population tunisienne sont comparables aux autres populations. Une meilleure connaissance de cette pathologie rare permettra un diagnostic moléculaire rapide et une prise en charge adéquate.

#20485 : Mise en évidence d'un effet fondateur chez les patients atteints du syndrome de Bardet-Biedl sur l'île de la Réunion.

Auteurs :

Aurélien Gouronc (1), Vincent Zilliox (2), Anne-Sophie Leuvrey (1), Elsa Nourisson (1), Yaumara Perdomo-Trujillo (3), Jean-Luc Alessandri (4), Bérénice Doray (5), Françoise Darcel (6), Hugues Flodrops (7), Paul Guégen (8), Marie-Line Jacquemont (9), Frédérique Payet (8), Hanitra Randrianivo-Ranjatoelina (9), Sophie Scheidecker (1, 10), Hélène Dollfus (3, 10), Jean Muller (1, 10)

1. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Unité Fonctionnelle de Bioinformatique Médicale appliquée au diagnostic (UF7363), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Centre de Référence pour les affections rares en génétique ophtalmologique, CARGO, Filière SENGGENE, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Pole Femme-Mère-Enfants, CH Félix Guyon, CHU de La Réunion Saint-Denis, Saint-Denis, France
5. Service de Génétique, Hôpital Félix Guyon, CHU La Réunion, Saint-Denis, France
6. Service des Maladies Neurologiques Rares, CHU La Réunion, site Sud, Saint Pierre, Saint-Pierre, France
7. Service de Pédiatrie, CHU La Réunion, site de Saint-Pierre, Saint-Pierre, France
8. Service de Génétique, CHU La Réunion, Hôpital Félix Guyon, Saint-Denis, France
9. UF de Génétique Médicale, CHU La Réunion, site Sud, Saint Pierre, Saint-Pierre, France
10. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM, UMRS_1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Université de Strasbourg Faculté de médecine de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : Bardet-Biedl, BBS3, ARL6, effet fondateur, SNP array

Résumé :

Introduction

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) est une ciliopathie rare avec une prévalence estimée à 1/150 000 et associant de manière variable une dystrophie rétinienne, une polydactylie, des anomalies rénales, une obésité troncale, des troubles cognitifs et un hypogénitalisme. A ce jour des variations pathogènes ont été identifiées dans 24 gènes, causant ce syndrome selon un mode autosomique récessif. Parmi ces gènes, le gène *ARL6/BBS3* code pour la plus petite protéine impliquée avec 186 acides aminés et compte seulement 21 variations pathogènes distinctes (2 non-sens, 11 faux sens, 3 variations affectant l'épissage et 5 larges délétions emportant plusieurs exons). Parmi ces variations, nous avons rapporté en 2012 une variation de classe 3 dans ce gène (NM_032146.4:c.535G > A, p.Asp179Asn) sans pouvoir conclure pour cette famille. Dans cette étude, nous nous proposons de reclasser ce variant et modifier la stratégie diagnostique pour le BBS.

Matériels et méthodes

Sur une cohorte de patients originaires de l'île de la Réunion, nous avons exploré par séquençage Sanger direct, séquençage à haut débit et par puces de génotypage les gènes impliqués pour le BBS. L'analyse fonctionnelle du variant a été réalisée sur les fibroblastes de peau.

Résultats

Nous rapportons ici 8 familles originaires de l'île de la Réunion (10 cas) présentant un syndrome de Bardet-Biedl typique et porteurs du variant NM_032146.4:c.535G > A, p.Glu179Lys dans le gène *ARL6/BBS3* à l'état homozygote. Au vu de la position à l'extrémité 3' de l'exon 8 et de l'analyse bioinformatique indiquant un possible effet sur l'épissage du gène, nous avons réalisé une étude fonctionnelle de l'ARN messager du gène et confirmé un défaut d'incorporation de l'exon 8. Cette variation ayant été exclusivement observée chez des patients réunionnais. Nous avons génotypé une partie de la cohorte et confirmé un effet fondateur. En effet, au moyen du logiciel PLINK nous avons pu mettre en évidence un haplotype commun à ces individus d'environ 3,8 Mb et déterminé un ancêtre commun à environ 8 générations. Ces données ont été confrontées aux données généalogiques disponibles pour l'île de la Réunion. Nous avons ainsi pu confirmer l'âge d'apparition de la mutation et identifier le couple ancestral en 1752.

Discussion et conclusion

Ce travail a ainsi permis de reclasser un variant de classe 3 en classe 5 dans le gène *ARL6/BBS3* et identifier un effet fondateur sur l'île de la Réunion. La mise en évidence de cet effet fondateur nous a permis de modifier la stratégie diagnostique de première intention et de préciser le conseil génétique pour les familles originaires de l'île de la Réunion.

Pièce jointe : Gouronc_Résumé assises Tours 2020_BBS3.docx

#20551 : Etude par RNAseq de l'épissage alternatif physiologique de gènes impliqués dans les cancers digestifs : MLH1, MSH2, MSH6 et CDH1**Auteurs :**

Molka SEBAI (1), Roseline TANG (1), Yahia ADNANI (1), Christine BOMBLED (1), Sengul TOZLU-KARA (1), Meissa BARBOUCHE (1), Alice FIEVET (1), Odile CABARET (1), Marine GUILLAUD-BATAILLE (1), Etienne ROULEAU (1)

1. Service de génétique des tumeurs, Gustave ROUSSY, Villejuif, France

Mots clefs : RNAseq, épissage alternatif physiologique, prédisposition aux cancers digestifs, MLH1, MSH2, MSH6, CDH1

Résumé :Introduction

L'épissage alternatif est un mécanisme de diversité qui permet à un ARN messager transcrit à partir d'un gène d'avoir plusieurs isoformes de transcrits naturels. Ces isoformes sont faiblement exprimées par rapport au transcrit de référence. Dans la majorité des cas, elles entraînent un décalage du cadre de lecture et sont éliminées par le système « nonsense mediated decay ». Certains variants génétiques peuvent modifier l'expression de ces isoformes et être pathogènes en déséquilibrant l'épissage du transcrit majoritaire. Le RNAseq est une nouvelle technique d'exploration de l'ARN offrant une vue globale de l'épissage alternatif d'un gène donné et permettant de quantifier le taux d'expression de ses isoformes.

Ce travail a pour but de mieux quantifier les isoformes de transcrits physiologiques peu décrits dans la littérature, de gènes impliqués dans la prédisposition aux cancers digestifs: *MLH1*, *MSH2* et *MSH6*, pour le syndrome de Lynch et *CDH1*, pour le cancer de l'estomac.

Méthodes

Une approche par RNAseq sur un panel de 46 gènes de prédisposition aux cancers a été réalisée pour décrire l'épissage alternatif des gènes *MLH1* (NM_000249.3), *MSH2* (NM_000251.2), *MSH6* (NM_000179.2) et *CDH1* (NM_004360.3). Au total, 12 lignées lymphoblastoïdes traitées à la puromycine ont été utilisées. Nous avons rapporté les événements d'épissage présents à plus de 0,1% chez plus de 33% des lignées négatives pour le gène étudié.

Résultats

Nous avons mis en évidence 18 transcrits alternatifs du gène *MLH1* avec un taux d'expression variant de 0.26% à 18%. Trois principales isoformes ont été retrouvées: r.117_121del ($\Delta 2p$) à 10% et deux non connues $\Delta 15$ (p.Ser556Argfs*14) et $\Delta 17$ (p.Glu633_Glu663del) respectivement à 18% et 12%. Nous avons décrit 6 transcrits alternatifs du gène *MSH2* dont une nouvelle isoforme entraînant un saut en phase de l'exon 5, retrouvée à 9.3% et deux exons cryptiques réalisant des rétentions décalant le cadre de lecture dans l'intron 6 (r.1076_1077ins1077-5658_1077-5547) à 0.8% et dans l'intron 9 (r.1510_1511ins1510+1126_1510+1258) à 0.35%. Sur le gène *MSH6*, nous avons retrouvé un nouveau transcrit avec une perte en phase des 1566 dernières bases de l'exon 4 (r.1607_3172del) à un taux de 0.23%. Deux exons cryptiques hors phase ont été également mis en évidence: r.627_628ins628-494_628-407 sur l'intron 3 à 0.44% et r.3172_3173ins3173-249_3173-149 sur l'intron 4 à 1%. Pour le gène *CDH1*, six isoformes ont été retrouvées dont le saut connu de l'exon 11 à 28.5% et un nouvel exon cryptique hors phase sur l'intron 2 à 2.64% (r.163_164ins163+19588_163+19682).

Conclusion

Ces isoformes identifiées sont en cours de confirmation par des techniques ciblées (RT-PCR et PCR digitale). Pour compléter cette description, l'étude de ces événements d'épissage sera également faite sur d'autres tissus (fibroblaste, côlon et estomac). Il reste à étudier l'impact potentiel de certains variants à proximité des jonctions d'épissage y compris dans les régions non codantes.

#20432 : La surdité au Maroc : Aspects génomique et bioinformatique**Auteurs :**

Khawla EL FIZAZI (1), Laila BOUGUENOUGH (1), Mohamed RIDAL (2), Karim OULDIM (1)

1. Génétique médicale et oncogénétique , Faculté de médecine et de pharmacie de Fes, Fes, Maroc
2. Oto-rhino-laryngologie CHU HASSAN II Fes, Faculté de médecine et de pharmacie de Fes, Fes, Maroc

Mots clefs : Génomique –Bioinformatique – Surdité génétique

Résumé :

La surdité est un état pathologique caractérisé par une perte partielle ou totale uni ou bilatérale du sens de l'ouïe. Elle constitue le déficit sensoriel le plus fréquent. Elle affecte environ 1 sur 500 nouveau-nés. Environ 130 000 cas de déficiences auditives et 630 cas de surdité congénitale sont détectés chaque année au Maroc.

Actuellement, l'origine génétique est incriminée dans 50-60 % des cas. 20% des surdités génétiques sont **syndromiques** c'est-à-dire associées à d'autres signes et 80 % sont **isolées (Non syndromiques)**

L'analyse génétique chez un sujet atteint d'une surdité, sera un outil important pour la santé publique. Elle permettra d'améliorer considérablement la qualité du conseil génétique sollicité par les parents et de répondre avec précision à de nombreuses questions sur le caractère héréditaire de la surdité, les risques pour les enfants à venir et l'évolution de la surdité. Elle permettra également de contrôler et prendre en charge précocement des patients qui ont des risques à développer quelques pathologies associées à la déficience auditive (surdités syndromiques).

Actuellement, les méthodes de séquençage à haut débit sont porteuses de grands espoirs en terme d'innovations médicales notamment dans le diagnostic moléculaire des surdités d'origine génétique. Un panel de 100 gènes possiblement impliqués être testé.

Notre objectif principal est d'explorer de nouvelles bases moléculaires pouvant expliquer la survenue de la surdité chez la population Marocaine en employant le séquençage de nouvelle génération. Par la suite on va illustrer l'intérêt des outils bioinformatiques pour l'analyse des données générées par le séquençage de nouvelle génération.

#20179 : Histoire naturelle du syndrome KBG par une approche orientée par les données fournies par un entrepôt de données de santé.**Auteurs :**

Marlene Rio (1), Giulia Barcia (1), Sophie Rondeau (1), Antoine Neuraz (2), Vincent Benoit (3), Arnold Munnich (1), Sandrine Marlin (1), Jeanne Amiel (4), Stanislas Lyonnet (1), Genevieve Baujat (1), Valerie Cormier-Daire (1), Nicolas Garcelon (3)

1. service de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
2. Département d'informatique médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
3. Plateforme Data Science, Institut Imagine, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
4. service de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France

Mots clefs : KBG; entrepôt de données;

Résumé :

Le syndrome KBG, décrit pour la première fois en 1975, est un syndrome qui associe un trouble du neurodéveloppement à de grandes incisives, une dysmorphie faciale distinctive, un retard statural. Le gène impliqué dans ce syndrome a été identifié en 2011 et à ce jour près de 200 patients ont été rapportés dans la littérature médicale. Toutefois la description du phénotype est parfois succincte, et l'histoire naturelle et l'évolutivité mal décrites. Nous nous proposons d'utiliser l'entrepôt de données de santé de l'hôpital Necker et le logiciel d'exploitation développé par l'institut Imagine (Dr Warehouse) pour étudier l'histoire naturelle du syndrome KBG. En effet, l'utilisation d'entrepôts de données de santé peut être utile pour enrichir la description phénotypique car il permet de rassembler en une seule interface les données de différents systèmes d'information (comptes rendus médicaux, compte rendus d'imagerie, courriers, résultats biologiques...). Dr Warehouse permet de réaliser une recherche textuelle sur l'ensemble de ces documents hospitaliers contenus dans l'entrepôt. Cette étude rétrospective longitudinale inclut 20 patients suivis à l'hôpital Necker Enfants Malades avec confirmation moléculaire. La cohorte étudiée comprend 8 patients de sexe masculin et 12 de sexe féminin, dont 7 adultes, le patient le plus âgé ayant 57 ans. À partir des données textuelles de l'entrepôt de données, un algorithme de traitement automatique du langage extrait automatiquement [NG1] les phénotypes des patients. Un PheWAS (Phenome Wide Association) est réalisé sur ces phénotypes afin de visualiser les plus pertinents et de repérer d'éventuelles associations phénotypiques non référencées par OMIM ou ORPHADATA. Les photographies des patients sont également analysées.

#19967 : Profil cytogénétique classique et moléculaire des LLC chez les patients marocains.**Auteurs :**

hasna hamdaoui (1), Aziza Belkhatat (2), oumaïma Benlarroubia (3), hind Dehbi (4), Fatima Chegdani (5)

1. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital cheikh khalifa, faculté des sciences Ain Chock, université Hassan II, Casablanca, casablanca, Maroc
2. Pôle cytogénétique, Laboratoire National de référence, Casablanca, Maroc
3. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital cheikh khalifa, casablanca, Maroc
4. laboratoire de génétique médicale CHU casablanca, laboratoire de pathologie cytologie moléculaire, faculté de médecine de casablanca, université Hassan II, casablanca, Maroc
5. , Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc

Mots clefs : FISH, LLC, del 17p, del 13q, del 11q, trisomie 12

Résumé :**Introduction :**

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est caractérisée par une infiltration sanguine et médullaire faite d'une population monoclonale de lymphocytes B matures exprimant les marqueurs CD5+/CD19+. C'est une pathologie du sujet âgé rarement avant 40 ans, et touche souvent l'homme plus que la femme. Le diagnostic est évoqué sur l'hémogramme et la lymphocytose excessive, confirmé par l'immunophénotype et la cytogénétique.

En effet le profil chromosomique des LLC est très particulier caractérisé par des déséquilibres génétiques multiples et récurrents affectant principalement et par ordre de fréquence décroissante les régions 13q, 11q, 12q, 17p et 6q, ce qui permet d'établir le diagnostic le suivi des malades et le pronostic.

Patients et méthodes :

Nous rapportons dans ce travail une étude prospective réalisée de juin 2016 à Décembre 2018, intéressant 45 patients. Nous avons réalisé un caryotype standard sur une culture cellulaire de 72h en présence des mitogènes : l'interleukine IL2 et DSP30. Il a été complété par l'analyse moléculaire FISH à la recherche de la délétion 11q, la délétion 17p, la délétion 13q et la trisomie 12, en utilisant le panel des sondes Abbott Molecular suivant : LSI p53/LSI ATM Spectrum Orange/ Green LSI D13 S3 19/LSI 13 q 34/ CEP 12, Spectrum Orange/ Aqua/ Green IVD/CE Approved.

Résultats :

Dans notre étude l'âge des patients variait de 11 à 76 ans avec un âge moyen de 60 ans avec une prédominance masculine : 25(57%) hommes et 19(43%) femmes.

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.

23 caryotypes seulement ont été réalisés, dont 15 (65%) montrant la présence d'anomalies chromosomiques clonales, réparties comme suit : 5 cas montrent la présence de la délétion 11q, 5 cas avec une trisomie 12, délétion 17p dans 3 cas et del 13q dans 3 cas.

Tandis que 29 FISH ont été réalisés parmi lesquelles 19 (65%) ont révélés la présence des aberrations chromosomiques suivantes : la délétion du bras court du chromosome 17 (del17p) identifiée chez 11 patients (38% des cas). La délétion du bras long du chromosome 11 (del 11q) a été retrouvée chez 6 patients (20% des cas). La délétion du bras long du chromosome 13 (del13q) est retrouvée chez 5 patients (17% des cas) et la trisomie 12 est observée chez 2 patients (6% des cas). Deux autres translocations réciproques ont été retrouvées chez deux patients : la t(3;15)(p21;q14) et la t(13;16)(q13;q24).

Cependant nos résultats rejoignent ceux décrits dans la littérature sauf pour la del17p qui s'est retrouvée l'anomalie la plus fréquente.

Conclusion :

Dans notre série, la cytogénétique a permis de révéler la présence des anomalies chromosomiques dans 87% des cas, de classer les patients dans des groupes pronostiques différents, et d'orienter la prise en charge thérapeutique.

#19857 : Evaluation des apports du calcul par GPU pour l'analyse bioinformatique de données de séquençage à haut débit de génomes.

Auteurs :

Yannis Duffourd (1, 2), Emilie Tisserant (1, 2), Garret Philippine (1, 3), Antonio Vitobello (1, 4), Laurence Faivre (1, 4), Christel Thauvin-Robinet (1, 5)

1. , U1231 GAD, Inserm – University of Burgundy-Franche Comté, DIJON, France

2. , Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France

3. , Laboratoire Cerba, St Ouen L'aumone, France

4. , Centre de Référence maladies rares « Anomalies du développement et syndromes malformatifs », centre de génétique, FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France

5. , Centre de Référence maladies rares « Déficience Intellectuelle de causes rares », FHU-TRANSLAD, Dijon University Hospital, DIJON, France

Mots clefs : bioinformatique, calcul, genome, séquençage à haut-débit, logiciel

Résumé :

Le séquençage de génome (GS) est en train de s'imposer progressivement comme le standard des outils diagnostiques dans le cadre des maladies génétiques rares. Devant la masse extraordinaire de données générées par de telles expériences, l'analyse bioinformatique des données est coûteuse en terme de ressources de calcul, et reste longue avec un matériel standard. Un génome entier peut être analysé sur une plateforme de calcul classique en quelques dizaines d'heures. Bien que ce délai soit habituellement raisonnable, il peut constituer un obstacle à la bonne réalisation de l'examen dans des contextes d'urgence ou de débit important.

Il existe des solutions alternatives utilisant des matériels informatiques innovants, qui proposent des temps d'analyse beaucoup plus courts. Parmi ces solutions, figure un type de processeur permettant le traitement de grosses quantités de données, ainsi qu'une parallélisation massive : il s'agit du GPU (Graphical Processing Unit) équipant les matériels conçus à l'origine pour réaliser des opérations informatiques graphiques. Ces puces contiennent en effet plusieurs milliers de coeurs de calcul, alors qu'un processeur "classique" ne présente que quelques coeurs (jusqu'à 256 coeurs).

Ainsi, nous avons choisi de mesurer l'efficacité de ces approches en testant différents outils permettant d'utiliser les GPU dans le traitement de données de GS. Les outils utilisés sont issus soit de la littérature scientifique (Barracuda, Arioc, Cushaw, pyPaSWAS, BGSA, MaxSSmap, Balsa) soit des solutions industrielles (Parabricks). Ces solutions ont été testées sur 10 échantillons de GS séquencés à une profondeur moyenne de 30x sur des plateformes de séquençage de type HiSeq X Ten ou NovaSeq 6000.

Les performances obtenues via les softs académiques ont été assez décevantes, menant pour la plupart à une exécution lente ou dans beaucoup de cas à aucun résultat.

La solution industrielle testée a permis d'obtenir des résultats très encourageants en terme de performance et de qualité des résultats. En effet, les résultats montrent une exécution accélérée de l'analyse bioinformatique consistant en : alignement, tri des alignements, marquage des duplicats PCR, et appels des variations. Ces étapes sont réalisées en moyenne en 19 heures pour un échantillon sur 1 CPU de 16 coeurs. Les

performances sur 4 GPU de type Volta V100 sont en moyenne de 1,2 heures pour un échantillon. Les résultats obtenus par les 2 méthodes sont également très proches.

Ainsi, les solutions informatiques innovantes utilisant les GPUs semblent apporter un gain non-négligeable en terme de performance, sans sacrifier la qualité du résultat obtenu. Dans un contexte d'accélération du débit des séquenceurs, il est nécessaire d'accélérer les analyses bioinformatiques reliées. Même si un effort de développement semble être nécessaire pour produire des solutions logicielles académiques fiables et performantes, ces approches semblent devenir peu à peu incontournables.

Pièce jointe : GPU_YD.v2.doc

#20048 : La déficience en DNAJC3 provoque un diabète précoce, des manifestations neurodégénératives et induit la voie mitochondriale de l'apoptose.

Auteurs :

Maria Lytrivi (1, 2), valérie senée (3, 4), Paraskevi Salpea (1), anne philippi (3, 4), Baroj Abdulkarim (5), anne degavre (3, 4), Pratibha Singh (1), Céline Derbois (6), doris Lechner (6), Mariana Igoillo-Esteve (1), Cristina Cosentino (1), Lorella Marselli (7), Piero Marchetti (7), jean-françois deleuze (6), Décio L Eizirik (1), Marc Nicolino (8), Annabelle Chaussenot (9, 10), Cécile Julier (3, 4), Miriam Cnop (1, 2)

1. ULB Center for Diabetes Research, Medical Faculty, Université Libre de Bruxelles, bruxelles, Belgique
2. Division of Endocrinology, Erasmus Hospital, Université Libre de Bruxelles, bruxelles, Belgique
3. INSERM UMR-S958, Université de Paris, Faculté de Médecine Paris-Diderot, paris, France
4. INSERM U1016, CNRS UMR-8104, Institut Cochin, Université de Paris, paris, France
5. ULB Center for Diabetes Research, Medical Faculty, Université Libre de Bruxelles, bruxelles, Belgique
6. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, Commissariat à l'Energie Atomique, Université Paris-Saclay, evry, France
7. Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Pisa, pise, Italie
8. Division of Pediatric Endocrinology, Lyon 1 University, Lyon, France
9. IRCAN, UMR CNRS 7284/INSERM U1081/UNS, School of Medicine, Nice Sophia-Antipolis University, nice, France
10. Department of Medical Genetics, Nice Teaching Hospital, National Centre for Mitochondrial Diseases, nice, France

Mots clefs : diabète, mutation perte de fonction, cellule beta, apoptose

Résumé :

Une petite proportion des cas de diabète a un déterminisme monogénique, par opposition au déterminisme essentiellement multifactoriel de cette maladie. L'identification et l'étude de ces formes monogéniques et de leurs gènes permettent de mieux comprendre les mécanismes moléculaires altérés dans le diabète. Ainsi, plusieurs formes de diabète monogénique sont causées par des mutations de gènes impliqués dans la réponse au stress du réticulum endoplasmique (RE), comme *EIF2AK3/PERK*, *PPP1R15B* et *EIF2S3*. La dérégulation de cette voie a été impliquée tant dans des diabètes monogéniques que multifactoriels. DNAJC3, aussi appelé P58^{IPK}, est un des acteurs clés dans la régulation de cette voie, en interagissant avec la kinase du facteur d'initiation de la traduction eIF2 α dans le RE (PERK/EIF2AK3), et en l'inhibant. Chez l'homme, des mutations du gène *DNAJC3* ont été rapportées chez des patients présentant un diabète précoce et une neuro-dégénérescence multi-systémique. De même, les souris knockout pour *Dnajc3* ont des îlots pancréatiques de taille réduite et de morphologie anormale, une apoptose accrue des cellules β pancréatiques et elles développent du diabète.

Nous avons identifié des nouvelles mutations perte de fonction du gène *DNAJC3* chez deux patients non apparentés, présentant tous les deux un diabète précoce et des manifestations neurodégénératives, ainsi qu'une petite taille, une hypothyroïdie et une dysmorphie faciale. Le premier patient est hétérozygote composite pour une mutation au niveau du codon de la méthionine initiateur conduisant à l'absence de la protéine (c.1A > G, p.M1V=p.0) et pour une mutation non-sens entraînant la production d'une protéine tronquée avec perte d'une partie des répétitions tétratricopeptidiques et du domaine d'homologie des chaperons moléculaires DnaJ (c.1036C > T, p.R346X). Le second patient est homozygote pour une mutation non-sens conduisant également à la production d'une protéine tronquée de son domaine d'homologie des chaperons moléculaires DnaJ (c.1177C > T, p.R393X). En plus des caractéristiques phénotypiques déjà connues pour ce syndrome, nos patients présentaient tous deux une microcéphalie, des malformations osseuses et une voix nasonnée, ce qui élargit le spectre clinique de ce syndrome. De plus, les parents d'une des familles avaient une glycémie à jeun élevée (pré-diabète) et l'histoire familiale des deux familles suggèrent que les porteurs hétérozygotes de mutations *DNAJC3* pourraient avoir un risque accru de diabète à l'âge adulte. Nous avons montré que le déficit en *DNAJC3* conduit à l'activation de la protéine pro-apoptotique Bim et de la voie mitochondriale de l'apoptose, ce qui entraîne la perte des cellules β pancréatiques. Cette forme monogénique de diabète souligne donc l'importance de la régulation fine de la voie de signalisation PERK dans la survie des cellules β chez l'homme, et plus généralement l'intérêt de l'étude des gènes impliqués dans la réponse au stress du RE dans le diabète.

Pièce jointe : résumé DNAJC3_V2.CJ.docx

#20510 : Amyotrophie Spinale Proximale : du conseil génétique au diagnostic prénatal. A propos d'un cas particulier**Auteurs :**

Yasmine EL AYEYB (1), HACHENI Faten (2), SOYAH Nejla (3), Dorra H'MIDA (4), ALI SAAD (4), MOEZ GRIBAA (4)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Service de Gynécologie Obstétrique, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie., Tunis, Tunisie
3. Service de Pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie., Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie., Tunis, Tunisie
4. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie., sousse, Tunisie

Mots clefs : ASP DPN

Résumé :

Les amyotrophies spinales proximales (ASP) forment un groupe de maladies neuromusculaires caractérisées par une faiblesse musculaire progressive due à la dégénérescence et la perte des motoneurons situés au niveau de cornes antérieures de la moelle épinière et des noyaux du tronc cérébral. Dans 98% des cas environ, l'ASP est due à une délétion homozygote de l'exon 7 qui peut être associée à une délétion de l'exon 8 du gène *SMN1* (5q12.2-q13.3) codant pour la protéine de survie du motoneurone (SMN).

Nous rapportons dans ce travail, l'histoire d'un couple non apparenté dont le 1^{er} enfant était atteint d'ASP diagnostiquée dans le laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines au CHU Farhat Hached de Sousse – Tunisie.

Le diagnostic de la maladie de l'enfant et le statut des parents a été réalisé par MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Un diagnostic prénatal a été réalisé pour chaque grossesse ultérieure.

Le cas index présentait une délétion homozygote de l'exon 7 du gène *SMN1*. Le Père était hétérozygote pour la délétion et la mère ne présentait pas de délétion de l'exon 7 du gène *SMN1*. Le couple a bénéficié de deux diagnostics prénataux. Le premier avait montré deux copies de l'exon 7 du gène *SMN1*. Le deuxième était aussi objectivé la présence de 3 copies du gène *SMN1*.

En comparant le statut des parents à celui des fœtus, nous avons conclu que la mère aurait transmis à ce fœtus deux copies du gène et la troisième copie provenait du père.

Compte tenu du statut parental pour l'exon 7 du gène *SMN1*, et des différents modes de transmission, la mère serait porteuse de ses 2 copies en cis sur un seul chromosome.

Ce genre de situation démontre la complexité d'un conseil génétique dans l'amyotrophie spinale et la nécessité de proposer un diagnostic prénatal même si l'un des parents paraît génétiquement homozygote normal.

#20571 : Exemple de ciliopathie: le syndrome acro-calleux chez 5 patients Tunisiens

Auteurs :

Héla SASSI (1), Mediha TRABELSI (2), Faouzi MAAZOU (3), Sana SKOURI (3), Asma BOUAZIZ (4), Catherine DZIRI (5), Ridha M'RAD (6)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires , hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires , Hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie
3. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie
4. Service de pédiatrie , Hôpital Ben Arous, Tunis, Tunisie
5. Service de médecine physique, Institut Kassab d'orthopédie, Tunis, Tunisie
6. Service des maladies congénitales et héréditaires , Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Ciliopathie, Syndrome acro-calleux, Agénésie, Corps calleux, Retard psychomoteur, Polydactylie

Résumé :**Introduction:**

Le syndrome acro-calleux (ACS, OMIM 200990) est une maladie rare se transmettant selon le mode autosomique récessif. L'ACS est lié à des mutations du gène *KIF7* codant pour la protéine KIF7 qui régule au sein du cil primaire la voie de signalisation Sonic hedgehog (SHH). Cette dernière est essentielle au développement embryonnaire dont celui du cerveau et des extrémités. L'ACS fait partie du spectre hétérogène des ciliopathies associant un retard psychomoteur, une agénésie ou hypoplasie du corps calleux (CC), une polydactylie pré-axiale aux membres inférieurs et post-axiale aux membres supérieurs et une dysmorphie faciale évocatrice.

Le but de ce travail est de souligner les caractéristiques phénotypiques de l'ACS à travers des observations cliniques tunisiennes.

Patients et méthodes:

Etude clinique et para-clinique de 5 patients tunisiens suivis au service des maladies congénitales et héréditaires de l'hôpital Charles Nicolle de Tunis depuis 1990 pour ACS.

Résultats:

Notre série comportait 4 garçons et une fille. Le motif de consultation était une polydactylie (1/5), un syndrome malformatif (1/5) ou un retard psychomoteur associé à une dysmorphie faciale (3/5). L'âge moyen à la première consultation était de 2 ans. La consanguinité était notée dans 2/5 cas. L'enquête génétique trouvait une polydactylie familiale (1/5) et 2 interruptions médicales de grossesse pour anencéphalie (1/5). Un retard psychomoteur, une épilepsie et un trouble du spectre de l'autisme ont été rapportés dans (4/5), (1/5) et (1/5) respectivement.

Les signes cliniques en faveur de l'ACS étaient une dysmorphie faciale évocatrice (5/5) associant une macrocéphalie (3/5), une fontanelle antérieure large (1/5), un front bombé (4/5), un hypertélorisme (3/5), des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors (5/5) et un nez court avec une racine déprimée (4/5) et une polydactylie (5/5) à type de: hexadactylie bilatérale (4/5) et unilatérale (1/5) des mains et une hexadactylie des pieds (3/5). Le reste de l'examen physique a révélé une syndactylie des orteils (4/5), une hyperreflexie (3/5), une hernie inguinale (2/5), une hernie de la ligne blanche (1/5) et une cryptorchidie (2/5).

L'agénésie du CC était constante, totale (3/5) ou partielle (2/5), associée à une dilatation du système ventriculaire (3/5), une agénésie vermiennienne inférieure (1/5) et une atrophie corticale (2/5). L'examen ophtalmologique avait conclu à une atrophie optique bilatérale (1/5).

Un diagnostic prénatal échographique, proposé pour 2 grossesses, était revenu normal. L'issue de ces grossesses avait abouti à 2 enfants sains.

Conclusion

Le diagnostic de l'ACS est basé sur l'association d'un retard psychomoteur, une déficience intellectuelle, une macrocéphalie, une dysmorphie faciale caractéristique, une polydactylie et une agénésie du CC. L'étude moléculaire permet de confirmer le diagnostic et de proposer un diagnostic prénatal. A défaut, la surveillance échographique fœtale reste la meilleure alternative.

#20021 : Optimal strategies for linking disease-associated SNPs to genes

Auteurs :

Steven Gazal (1), Omer Weissbrod (2), Joseph Nasser (3), Farhad Hormozdiari (1), Charles Fulco (3), Jesse Engreitz (3), Alkes Price (1)

1. -, Harvard School of Public Health / Broad Institute, Boston, Etats-Unis

2. -, Harvard School of Public Health / Broad Institute, Boston, Etats-Unis

3. -, Broad Institute, Cambridge, Etats-Unis

Résumé :

Although genome-wide association studies (GWAS) have identified thousands of disease-associated common SNPs, these SNPs generally do not implicate the underlying genes. Many strategies have recently been developed to systematically link regulatory SNPs to the genes that they regulate, but it is currently unclear which of these strategies should be prioritized in studies of human diseases.

We developed a framework for evaluating and combining different strategies for linking SNPs to genes, using polygenic analyses of disease heritability. For a given SNP-gene linking strategy, we define its disease sensitivity as the proportion of heritability that is linked to all genes, and its disease specificity based on the relative heritability enrichment of SNPs linked to an enriched gene-set (e.g. high-pLI genes) vs. linked to all genes, compared to the (gold-standard) coding SNP-gene linking strategy.

We applied our framework to GWAS data from 12 autoimmune diseases and blood cell traits (average $N=345K$), evaluating SNP-gene linking strategies incorporating functional annotations in blood. We determined that SNP-gene linking strategies based on 100kb windows around each gene, closest TSS, or promoter-capture Hi-C achieve high sensitivity but poor specificity (~ 0.1), whereas strategies based on exons, promoters, fine-mapped eQTL, activity-by-contact (ABC), or Roadmap enhancer-gene linking achieve high specificity but low sensitivity (~ 0.1). Notably, our combined strategy achieves both high sensitivity (~ 0.5) and specificity (~ 0.5).

Our results highlight the benefits of combining different strategies for linking SNPs to genes, but caution that a large proportion of disease heritability cannot be linked to genes using available functional data, motivating further development of functional assays.

Pièce jointe : ICQG2019_Gazal.docx

#20262 : Identification de variants faux-sens les plus délétères du gène *PIWIL1* et leur impact sur la structure, la stabilité, la flexibilité et la dimension du domaine PAZ : Etude in silico

Auteurs :

Zouhair ELKARHAT (1, 2), Boubker NASSER (2), 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 Settât, Settât, Maroc

Mots clefs : Analyse in silico, Infertilité masculine, Gène *PIWIL1*, Domaine PAZ, Simulation de la Dynamique Moléculaire

Résumé :

La protéine *PIWIL1* est une endoribonucléase qui joue un rôle central dans les cellules germinales postnatales en réprimant les éléments transposables et en empêchant leur mobilisation, ce qui est essentiel pour l'intégrité de la lignée germinale. Le but de la présente étude est d'identifier les variants faux sens les plus délétères du gène *PIWIL1* et d'évaluer leur impact sur la structure et la fonction du domaine PAZ de la protéine *PIWIL1*. Ainsi, nous avons prédit les effets fonctionnels de tous ces variants en utilisant huit outils bio-informatiques, analysé le niveau de conservation des acides aminés avec le serveur Consurf et comparé leur impact sur la structure tridimensionnelle du domaine PAZ avec YASARA viewer. Pour une étude plus approfondie, nous avons aussi comparé le degré de la stabilité, la flexibilité et la dimension du domaine PAZ de la protéine native et du domaine PAZ des protéines mutées après une simulation de la dynamique moléculaire par le logiciel Gromacs. Ainsi, nous avons identifié que 18 variants faux sens du gène *PIWIL1* ont été prédit comme délétères par tous les outils de prédictions que nous avons utilisés (R146C, L150P, T194M, K272N, G305S, Y317C, Y517C), avec trois variants (G305S, Y317C, Y346C) sont localisés dans la région codante du domaine PAZ et ont un impact sur sa stabilité, sa flexibilité et sur sa dimension. La présente étude a montré pour la première fois les variants faux sens les plus délétères du gène *PIWIL1*. La présence de ces variants peut affecter le processus de répression des éléments transposables et par conséquent l'intégrité de l'ADN dans la lignée germinale mâle.

Pièce jointe : Résumé.docx

#20325 : Le projet PARCOURARE : une augmentation phénotypique systématique pour les patients atteints de maladies rares

Auteurs :

Anne-Sophie Jannot (1, 2), Claude Messiaen (3), Khatim Ahlem (3), Romain Vassilieff (3), Arnaud Sandrin (3)

1. Service d'informatique médicale, AP-HP.Centre / HEGP, Paris, France
2. , Université de Paris, Paris, France
3. Banque Nationale de données Maladies Rares, DSI-WIND, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : Système National des Données de Santé; Parcours de soins; Entrepôts de Données

Résumé :

Contexte : La Banque Nationale de Données Maladies Rares (BNDMR) est un instrument national d'épidémiologie et de santé publique au service des maladies rares. La collecte des données du Set de Données Minimum (SDM) est faite par les centres maladies rares labellisés, soit dans le dossier patient informatisé (DPI) de l'hôpital (mode connecté), soit dans l'application web BaMaRa (mode autonome). Ces données sont ensuite pseudonymisées avant d'être reversées dans l'entrepôt BNDMR. Le projet PARCOURARE vise à apparier les données de la BNDMR avec celles du Système National de Données de Santé pour décrire le parcours de soins des patients et obtenir des informations phénotypiques denses sur ces patients.

Méthodes : PARCOURARE vise à identifier les catégories de soins spécifiques (médicaments, actes et comorbidités spécifiques de chaque maladie, fréquence des consultations et hospitalisation) associées à chaque maladie rare de façon systématique sans hypothèse a priori. Une fois cette liste établie pour chaque maladie, un parcours de soins type sera établi pour chaque maladie. Compte-tenu de la très grande dimension des données de soin du fait à la fois des milliers de concepts disponibles mais aussi du caractère temporel de ces données, des techniques d'analyse de grande dimension seront appliquées.

Résultats attendus : PARCOURARE permettra d'obtenir de façon systématique pour chaque individu une représentation phénotypique dense de la gravité de la maladie via les consommations de soins spécifiques liée à cette maladie. Les caractéristiques du parcours de soin d'un individu modifiées par la maladie pourront être mises en relation avec ses informations génétiques afin de mieux comprendre la relation phénotype-génotype.

Conclusion : Ce projet offre des perspectives importantes pour la découverte de variants modificateurs des maladies génétiques et pour mieux comprendre la complexité de la relation phénotype-génotype.

Ce projet bénéficie de l'accompagnement du Health Data Hub dont nous remercions les membres.

#20007 : Test de sensibilité au kuan: à propos de 28 patients phénylcétonuriques.

Auteurs :

Meriem DJEDDOU (1), Nadia GAGI (1), Mounira BOUTANA (1), Hamida GHANEM (1), Maha ABBACI (1), Lyece YARGUI (1)

1. , CHU Mustapha Alger, alger, Algérie

Mots clefs : Phénylcétonurie, Phe, PAH, BH₄, sensibilité, répondeur, Kuvan

Résumé :

La restriction alimentaire en Phe observée chez les phénylcétonuriques peut prévenir les lésions cérébrales irréversibles dues à l'hyperphénylalaninémie HPA et l'installation du retard mental chez les patients traités précocement. Cependant, ce régime strict restreint en Phe est très difficile à maintenir à long terme, en particulier pour les adolescents et les adultes. Un analogue structural du BH₄, cofacteur de la phénylalanine hydroxylase PAH, est disponible sous forme de dichlorhydrate de saproptérine (Kuvan® BioMarin) approuvé comme traitement de l'HPA chez les patients présentant des déficiences en PAH ou en BH₄. Le test de sensibilité a été réalisé chez nos patients de tout âge confondu, La durée de l'épreuve est estimée jusqu'à 48 heures si réponse rapide ou un essai allant jusqu'à une semaine est recommandé si réponse tardive.

une série de 28 patients atteints de PCU, âgés entre 8 mois et 19 ans, recevant une dose quotidienne de 20 mg/kg/ jour de Kuvan administré, en milieu hospitalier, et ont un taux de Phe initial > 80 mg/l. Des déterminations sanguines de la Phe avant l'épreuve puis 2 , 6, 12, 24 et 48 heures avec l'option d'une continuation supplémentaire jusqu'au 7ème jour si nécessaire. La norme de réponse la plus largement acceptée est la réduction de 30% de la Phe, mais un degré de réponse plus faible pourrait également être considéré cliniquement significatif chez certaines personnes.

02 patients ont interrompu le test à cause des effets indésirables du médicament, 08 patients ont répondu à moins de 24h. nous avons observé pour 09 patients une réponse tardive entre 4 jours et 2 semaines, 11 patients restants sont classés comme non répondeurs au kuan. Nous avons ensuite comparé ses résultats aux valeurs initiales de Phe et l'âge au moment du diagnostic de ses patients chez les répondeurs aigus/chroniques et les non-répondeurs au Kuvan. Les prédictors de la réponse au Kuvan, tant aiguë que chronique, avaient la Phe de base comprise entre 10-40 mg/l contre une moyenne plus élevée de 80-105mg/l de Phe de base chez les non-répondeurs. En revanche, L'apport en Phe avait tendance à être plus élevé (18 ± 20 mg/kg/24h) chez les patients répondeurs au Kuvan que chez les non-répondants (15 ± 11 mg/kg/24h). L'âge moyen des répondeurs au moment du diagnostic était compris entre 3 jours et 6 mois, contrairement aux non-répondeurs ou ils dépassaient 2.5 ans. Nous concluons que le succès de cette nouvelle option thérapeutique dépend de la bonne sélection des patients PCU incluant le bon suivi et la précocité de l'âge du diagnostic, qui peuvent prédire une probabilité accrue de la réponse au Kuvan, mais les mécanismes de réponse in vivo restent énigmatiques et qui relève aussi de l'analyse du génotype.

#20236 : Interprétation par approches combinées de variants faux-sens dans un « gène à VOUS », le gène HUWE1 responsable de déficience intellectuelle liée à l'X**Auteurs :**

Benjamin Durand (1), Sana Karoui (1), Claire Feger (1), Quentin Marxer (2), Julie Thompson (3), Bénédicte Gerard (1), Amélie Piton (1, 2), Jean-Louis Mandel (2)

1. Laboratoires de diagnostic génétique, Institut de génétique médicale d'Alsace (IGMA), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, Illkirch-Graffenstaden, Strasbourg, France
3. Université de Strasbourg, Dept Comp Sci, ICube, UMR 7357, CNRS, Strasbourg, France

Mots clefs : HUWE1, déficience intellectuelle liée à l'X, variants faux-sens, VOUS, inactivation de l'X, analyses bioinformatiques.

Résumé :

Introduction : La déficience intellectuelle (DI) liée à l'X constitue une entité très hétérogène sur le plan génétique avec plus d'une centaine de gènes identifiés. Elle représente 5 à 10% des DI chez les patients de sexe masculin. L'interprétation des variants de ces gènes chez des patients avec DI, notamment faux-sens non présents chez des mâles dans gnomAD, est particulièrement difficile tant sur plan biologique que clinique, car le plus souvent hérités d'une mère saine. C'est le cas du gène *HUWE1* dont la séquence codante est très grande (4374 acides aminés) et qui est donc une cible importante de variations. L'absence de variants tronquants de ce gène dans gnomAD indique une intolérance à la perte de fonction, mais on observe des variants faux-sens rares, classés le plus souvent (52 sur 94 dans la base ClinVar) en variants de signification inconnue (variant of unknown significance, VOUS).

Méthodes : Nous avons recueilli tous les variants faux-sens ou pouvant affecter l'épissage retrouvés dans *HUWE1*, en testant par panels ciblés de gènes de DI (275, 450 puis 520 gènes) plus de 1000 proposants (dont 30% de femmes) adressés dans le cadre d'une DI. L'analyse de ces variants est basée sur le recueil des scores bioinformatiques, leur présence dans les bases de données (ClinVar, gnomAD, HGMD), l'étude de la conservation des acides aminés (alignements), l'analyse du biais d'inactivation de l'X chez les femmes hétérozygotes (proposantes ou mères transmettrices) et si possible une étude de la ségrégation du variant (analyse des grands-parents maternels et frères ou sœurs des proposants). Ces données sont confrontées aux données cliniques des patients.

Résultats : Notre cohorte se compose de 17 patients (12 garçons et 5 filles) non apparentés, présentant une DI sporadique ou très rarement familiale, syndromique ou isolée et porteurs de variants (17 faux-sens et 1 variant susceptible d'affecter l'épissage, dont 3 *de novo* et 15 hérités, un patient étant porteur de 2 variants) dans le gène *HUWE1*, classés initialement en VOUS. La majorité de ces variants sont prédits pathogènes par les outils de prédictions bio-informatiques et non rapportés dans les bases de données. L'étude de l'inactivation de l'X a montré la présence d'un biais d'inactivation significatif chez 3 proposantes dont 2 ont des variants *de novo* et chez 4 mères transmettrices asymptomatiques. En particulier, une mutation *de novo* Leu4157Val affectant le domaine HECT (conservé jusqu'à la levure) a été retrouvée dans deux patientes (notre cohorte et Moortgat et al. 2018) présentant toutes deux un biais extrême d'inactivation.

Conclusion : L'ensemble de ces données nous a permis de rediscuter la pathogénicité de certains de ces variants et de les reclasser. Les méthodes d'analyses utilisées pourraient être appliquées à d'autres gènes liés à l'X.

Pièce jointe : Abstract_Huwe1_Assises2020_VF.docx

#20595 : Spectre des surdités syndromiques en tunisie

Auteurs :

Rahma Mkaouar (1), MEZZI Nessrine (2), Lilia Romdhane (2), Zied Riahi (2)

1. , Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique-Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

2. , Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique-Institut Pasteur de Tunis, TUNIS, Tunisie

Mots clefs : spectre, Tunisie, surdités syndromiques, diagnostic génétique, NGS

Résumé :

La surdité est le déficit neurosensoriel le plus fréquent dans le monde touchant les enfants et les adultes. Sa prévalence a été estimée à 1/1000 nouveau-nés. La surdité d'origine génétique compte pour 50-75% des cas de surdité congénitale. La surdité génétique peut être isolée (SI) ou syndromique (SS) lorsqu'elle associée à d'autres pathologies. Des études antérieures menées en Tunisie ont révélé que la SS est fréquente dans notre population.

Le présent travail a pour objectif de déterminer le spectre ainsi que les étiologies moléculaires des SS en Tunisie.

En plus de la fouille bibliographique, des données cliniques et paracliniques ont été collectées au sein des centres de référence sur la Surdité en Tunisie.

Notre étude menée pendant 12 ans a permis de colliger plus de 600 familles atteintes de surdité ; il s'agit de la plus large cohorte jamais rapportée en Tunisie ou dans la région Maghrébine. Cent vingt-deux cas de SS ont été identifiés correspondant à 12 syndromes et 12 comorbidités découvertes fortuitement. Le Syndrome de Waardenburg (SW) est le plus fréquent dans notre cohorte. Douze mutations au niveau des gènes *PAX3* et *SOX10* ont été identifiées chez 12 patients. Pour un cas diagnostiqué au début comme SW, nous avons trouvé une mutation *PAX3* impliquée dans un syndrome ultra-rare, Craniofacial-Hand-Deafness Syndrome dont le tableau clinique est similaire au SW. Pour 5 cas familiaux cliniquement diagnostiqués comme SI, se sont révélés atteints d'une maladie ultra-rare, l'Alpha-mannosidose suite à l'identification d'une mutation au niveau du gène *MAN2B1*.

En conclusion, notre étude a montré la forte hétérogénéité clinique et génétique du spectre des SS en Tunisie. La conception d'une puce de s qu n age NGS cib e spécifique à la population tunisienne permettrait de faciliter l'identification de l'étiologie moléculaire et d'établir un diagnostic clinique plus précis.

Pièce jointe : résumé assises 2019.docx

#20420 : Etude descriptive des manifestations dermatologiques des autres RASopathies au cours de la neurofibromatose de type 1

Auteurs :

Laurie MONITOR (1), Laurie MONITOR (1), Edem ALLADO (2), Dominique VIDAUD (3), Bruno LEHEUP (4), Jean-Luc SCHMUTZ (1), Anne-Claire BURSZTEJN (1)

1. Dermatologie, CHRU Nancy, VANDOEUVRE LES NANCY, France
2. Rhumatologie, CHRU Nancy, VANDOEUVRE LES NANCY, France
3. Génétique et Biologie moléculaire, Cochin, PARIS, France
4. Génétique clinique, CHRU Nancy, VANDOEUVRE LES NANCY, France

Mots clefs : Neurofibromatose de type 1, RASopathie, phénotype

Résumé :

Introduction. La neurofibromatose de type 1 (NF1) est une maladie génétique fréquente (incidence : 1/3500) qui possède une expressivité variable. Elle fait partie d'un ensemble d'affections génétiques regroupées sous le terme de RASopathies (syndrome cardiofaciocutané CFC, syndrome de Costello, syndrome LEOPARD, syndrome de Léger, syndrome de Noonan), présentant toutes avec une fréquence et une intensité variable les signes suivants : dysmorphie faciale, retard de croissance, déficience intellectuelle, malformation cardiaque, manifestations dermatologiques et parfois prédisposition aux tumeurs solides ou hémopathies. Puisque sont décrites des formes de NF1 associées au phénotype du syndrome de Noonan, et puisque les voies de signalisation sont communes pour la NF1, le syndrome de Noonan et les autres RASopathies, il est licite de s'interroger sur l'existence de NF1 associée à un phénotype d'une autre RASopathie.

Objectifs. Etudier la prévalence des signes dermatologiques des autres RASopathies au cours de la NF1. Comparer les fréquences des manifestations dermatologiques en fonction de la mutation et de la sévérité de la maladie.

Méthodes. Cette étude prospective descriptive et monocentrique observait les manifestations dermatologiques présentes chez les patients atteints de NF1 consultant en Dermatologie au CHRU de Nancy au cours d'un examen clinique standardisé.

Résultats. En un an, 105 patients étaient inclus. Une mutation du gène *NF1* était identifiée chez 59 patients dont 78% étaient des mutations tronquantes. Une forme sévère de NF1 était constatée chez 61 patients (58,1%). On notait une hyperpigmentation généralisée, une xérose et une hyperlaxité cutanée dans respectivement 19%, 19%, et 7,6% des cas. Une dysmorphie Noonan était constatée dans 15,2% des cas. La tendance aux hématomes, le prurit cutané et l'hyperhidrose étaient rapportés dans respectivement 13,3%, 20% et 9,5% des cas. Il était observé des anomalies palmo-plantaires (plis palmo-plantaires profonds, peau épaissie ou fripée) dans 51,4% des cas et une peau d'aspect « velouré » dans 14,3% des cas. Aucune différence significative n'a été mise en évidence en fonction de la présence d'une mutation tronquante ou du caractère sévère de la NF1.

Conclusion. Cette étude met en lumière des particularités phénotypiques, notamment palmo-plantaires, qui pourraient donner des arguments supplémentaires pour le diagnostic clinique précoce de NF1.

Pièce jointe : Abstract assises génétiques.docx

#20120 : Profil biochimique de 145 tyrosinémiques diagnostiqués et suivis dans notre laboratoire

Auteurs :

Nadia GAGI (1), MERIEM DJEDDOU (1), MANEL REZKI (1), LAMIA BENZIADA (1), Lyèce YARGUI (1)

1. , CHU Mustapha d'Alger, Alger, France

Mots clefs : La tyrosinémie hépatorenale, tyrosinémie héréditaire de type I (THI), Fumaryl Acétoacétate Hydrolase (FAH), Succinylacétone (SA).

Résumé :

La tyrosinémie héréditaire de type I (THI, OMIM 276700) est une erreur innée du métabolisme de transmission autosomique récessive qui affecte principalement le foie, les reins et les nerfs périphériques. Le défaut principal a été attribué à la dernière enzyme de la voie catabolique de la tyrosine : fumarylacétoacétate hydrolase (FAH : E.C. 3.7.1.2). Un diagnostic précoce et un traitement opportun offrent un meilleur pronostic pour les patients tyrosinémiques. Ce traitement nécessiterait une administration de 2- (2-nitro-4-trifluorométhylbenzoyl) -1,3-cyclohexanedione (NTBC, Orfadin®), et un régime pauvre en phénylalanine et en tyrosine mais parfois la transplantation hépatique s'avère nécessaire.

Depuis plusieurs années, notre laboratoire effectue le diagnostic et le suivi biologique de la THI de tout le territoire national. Dans ce rapport, nous résumons le phénotype biochimique de 145 nourrissons atteints de THI, en nous concentrant sur les résultats de laboratoire. Les 145 nourrissons (69 garçons et 76 filles) provenaient de 133 familles différentes. L'âge du début des premiers symptômes de la maladie variait d'une semaine à sept mois. Quarante-sept patients sont décédés quelques mois après que le diagnostic a été établi et quatre-vingt-dix-huit sont suivis après un traitement par NTBC et un régime de restriction.

Une concentration élevée de succinylacétone dans les urines, une hypertyrosinémie et un taux élevé d'a-fœtoprotéine étaient les indicateurs les plus courants au moment du diagnostic. L'analyse d'urine n'a révélé aucune protéinurie, aucune cétonurie mais parfois une glycosurie. Les tests au galactose et au chlorure ferrique étaient négatifs. Des réactions positives avec le 2,4-dinitrophénylhydrazine et le cyanure-nitroprussiate ont été observées à l'occasion. Seuls onze échantillons d'urine présentaient une odeur particulière. Tous les patients présentaient une hyperbilirubinémie (bilirubine directe et indirecte) et une détérioration de la fonction hépatique (élévation de l'ASAT, de l'ALAT et légère augmentation de la PAL et de la GGT). Une augmentation des taux plasmatiques de ferritine et de b2-microglobuline a été observée chez vingt-quatre et cinq nourrissons respectivement. Cependant, les concentrations plasmatiques de glucose, cholestérol total, triglycérides, albumine et des protéines étaient normales ou légèrement diminuées. La THI n'a pas affecté les taux sériques de créatinine, urée, calcium, phosphore et d'ammoniac dans le sang.

Pièce jointe : Profil biochimique de 145 tyrosinémiques diagnostiqués et suivis dans notre laboratoire.docx

#20384 : Déficit en RBCK1 : une forme rare de myopathie à corps de polyglucosan avec ou sans atteinte cardiaque

Auteurs :

François PETIT (1), Lucie GUYANT-MARECHAL (2), Annie LAQUERRIERE (3), Guillaume BASSEZ (4), Frédéric PARISOT (1), Clara BARTHELEMY (5), Pascal LAFORET (6)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
2. Service de neurophysiologie, Hôpital Charles Nicolle, ROUEN, France
3. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Charles Nicolle, ROUEN, France
4. Service de neuromyologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
5. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Bécclère, CLAMART, France
6. Service de neurologie, Hôpital Raymond Poincaré, GARCHES, France

Mots clefs : RBCK1, corps de polyglucosan, myopathie, cardiopathie

Résumé :

Les myopathies à corps de polyglucosan sont des maladies musculaires rares caractérisées par l'accumulation intracytoplasmique de glycogène de structure anormale. Trois déficits peuvent être à l'origine de ce phénotype : enzyme branchante (*GBE1*, 3p12.2), glycogénine (*GYG1*, 3q24) et RBCK1 (*RBCK1*, 20p13). Très peu de cas de déficit en RBCK1 associant *a minima* une faiblesse musculaire et une cardiopathie et pour certains cas un déficit immunitaire ont été publiés.

Nous rapportons ici deux nouveaux patients présentant un déficit en *RBCK1* avec deux nouvelles mutations.

Cas 1

Il s'agit d'un patient adulte, avec des parents consanguins, suivi depuis l'âge de 20 ans pour une myopathie à corps de polyglucosan à la biopsie et sans déficit immunitaire qui avait débuté à l'adolescence. L'atteinte musculaire était distale et proximale aux membres inférieurs associée à un ptosis. Il a eu une greffe cardiaque à 19 ans pour cardiopathie dilatée. Un frère était décédé à l'âge de 20 ans d'une cardiopathie dilatée. Après avoir éliminé une glycogénose de type IV et un déficit en glycogénine (pas de mutation dans *GBE1* et *GYG1*), *RBCK1* a été séquencé et a permis de mettre en évidence une petite délétion à l'état homozygote c.497delG déjà rapportée. L'étude parentale a permis de confirmer le caractère homozygote vrai de la délétion. L'évolution a été marquée des complications liées à la greffe cardiaque et le patient est décédé à 40 ans d'une infection pulmonaire.

Cas 2

Il s'agit d'une patiente de 57 ans présentant une faiblesse motrice lentement progressive, proximale, devenant sévère, des membres supérieurs et inférieurs avec myalgies. Les CK étaient à 3N sans épisode de myolyse. Elle présentait également un trouble respiratoire restrictif, une stéatose hépatique dans un contexte d'obésité sévère (classe III, IMC ≥ 40 kg/m²) mais pas de cardiopathie ni de déficit immunitaire (pas d'anomalie leucocytaire, pas de syndrome inflammatoire biologique). La biopsie musculaire montrait une surcharge en glycogène compatible avec des corps de polyglucosan. Les glycogénoses de type II (maladie de Pompe), de type V (maladie de McArdle) et de type VII (maladie de Tarui) avaient été écartées. Une analyse par WES (whole exome sequencing) a permis de mettre en évidence deux nouveaux variants faux-sens dans le gène *RBCK1* : c.305G>A (p.Gly102Glu) et c.880C>T (p.Arg294Cys), confirmés par Sanger. Les analyses *in silico* prédisent un effet délétère de ces deux variants.

Le déficit en RBCK1 reste une affection rare. L'atteinte musculaire squelettique semble toujours présente alors que l'atteinte immunitaire semble plus rare. Pour la première fois, nous rapportons un cas de déficit en RBCK1 sans atteinte cardiaque chez une patiente présentant 2 mutations faux-sens. Les autres cas précédemment rapportés avec cardiopathie associaient tous au moins une mutation créant un codon stop prématuré, suggérant que ce type d'anomalie génétique pourrait être un facteur de risque majeur pour l'atteinte cardiaque.

#20010 : Stratégie diagnostique des Mucopolysaccharidoses au Laboratoire

Auteurs :

Aziz AMRANE (1), Meriem DJEDDOU (1), Meriem DJEDDOU (1), Amine MASSEN (1), Lyece YARGUI (1)

1. , CHU Mustapha Alger, alger, Algérie

Mots clefs : MPS, screening, acide héxuronique, électrophorèse, bande, DS, HS, KS.

Résumé :

Les mucopolysaccharidoses (MPS) sont des maladies de surcharge lysosomale causées par un déficit enzymatique, aboutissant à une accumulation intralysosomale de glycosaminoglycanes (GAG) anciennement appelés mucopolysaccharides acides ainsi que leur excrétion urinaire accrue. L'hétérogénéité clinico-biologique des mucopolysaccharidoses rend leur diagnostic difficile :11 types et sous types, de sévérité variable, ont été individualisés en fonction du déficit enzymatique.

Population et méthode

Sur une cohorte de 288 enfants reçus depuis janvier 2015, sur tout le territoire national, ont bénéficié d'un screening urinaire des MPS avec une évaluation qualitative et quantitative des MPS urinaires : les tests d'orientation par précipitation au chlorure de cetylpyridinium (CPC) et coloration au bleu 1-9 de diméthylméthylène (DMM-Bleu), suivi de la quantification de l'acide héxuronique dont les résultats sont rapportés à la créatinine urinaire et tiennent compte de l'âge du patient. L'électrophorèse sur gel d'acétate de cellulose en tampon d'acétate de baryum 0,04 M permet de révéler des bandes colorées par le DMM-Bleu à 0,02 %. L'association des données cliniques à nos résultats nous a permis de nous orienter vers le type de la mucopolysaccharidose.

Résultats et discussion

56 patients sont prédictes d'une MPS avec un moyen d'âge de 1.35 an, 84 % des patients sont issus d'un mariage consanguin. Les tests d'orientation urinaire sont positifs, la quantification de l'acide héxuronique est revenu entre 3 à 5 fois la normale dans 93 %, l'électrophorèse des MPS a montré chez 24 patients deux bandes : Héparane et Dermatan sulfate (HS et DS) faisant évoquer MPS type I ou II selon le sexe, 09 patients avec (DS) pour MPS VI, bande HS chez 6 patients dont la clinique est associée à la MPS III, bande Kératane sulfate (KS) chez 4 patients suggérant une MPS IVB, Le reste des patients, à savoir 15 patients ont révélé des bandes de nature indéterminée. Le diagnostic de certitude, pour chaque type de MPS, a été confirmé par le dosage de l'activité enzymatique spécifique de chaque MPS dans des laboratoires privés étrangers.

Le screening urinaire est d'une orientation précise afin de nous orienter vers un type précis de MPS.

#19993 : Prévalence des porteurs hétérozygotes pour des variants impliqués dans neuf pathologies autosomiques récessives dans la population Réunionnaise : Etude pilote en vue d'une proposition de dépistage préconceptionnel génétique sur l'Ile de La Réunion

Auteurs :

Caroline DEILLER (1), Fanny FERROUL (1), Patrick MUNIER (1), Frédérique PAYET (1), Sylvie BERG (1), Paul GUEGUEN (1), Bérénice DORAY (1)

1. Service de génétique, CHU de La Réunion, Saint Denis de La Réunion, France

Mots clefs : Dépistage préconceptionnel, Conseil génétique, Effet fondateur, Maladies autosomiques récessives, île de La Réunion

Résumé :

Avec l'essor des tests génétiques, de nouvelles méthodes de diagnostic et de dépistage émergent. L'une d'elle, le dépistage préconceptionnel (DPC) génétique, permet aux couples sains de connaître leur statut génétique pour des pathologies autosomiques récessives ciblées avant une grossesse. Ce DPC, s'il est proposé en cas d'antécédent familial ou de consanguinité n'est actuellement pas autorisé en France pour la population générale. L'objectif de notre étude est de déterminer la fréquence des hétérozygotes pour neuf maladies causées à La Réunion, pour des mutations identifiées, récurrentes et pour certaines spécifiques de la population Réunionnaise du fait d'un effet fondateur. Ces pathologies, sélectionnées après concertation pluridisciplinaire, sont les suivantes : la mucoviscidose (*CFTR*, NM_000492.3), le syndrome RAVINE (*SLC7A2*, NM_001008539.3), le syndrome Salt & Pepper (*ST3GAL5*, NM_003896.3), la protéinose alvéolaire pulmonaire (*MARS*, NM_004990.3), le syndrome Larsen de La Réunion (*B4GALT7*, NM_007255.2), l'amyotrophie spinale infantile (*SMN1*, NM_000344.3), le syndrome de Cockayne (*ERCC6*, NM_000124.3), la leucodystrophie métachromatique (*ARSA*, NM_001085425.2), l'alpha-mannosidose (*MAN2B1*, NM_000528.3).

Population et méthodes

Dans une cohorte de 587 individus représentative de la population Réunionnaise, nous avons réalisé une étude ciblée de mutations récurrentes dans ces gènes. Une approche moléculaire par PCR spécifique d'allèle fluorescente a été utilisée pour le criblage de la mutation du syndrome RAVINE, de cinq mutations de *CFTR* (p.Phe508del, c.366T>A, c.2988+1G>A, c.1624G>T, del17a-18) et d'une mutation de *ST3GAL5* (c.740G>A) et *MAN2B1* (c.2165+1G>A). Les mutations de *B4GALT7* (c.808C>T), *MARS* (c.1177G>A) et *ARSA* (c.737G>A) ont été criblés par approche TaqMan. Les délétions exoniques d'*ERCC6* (délétion de l'exon 1) et *SMN1* (délétion de l'exon 7) ont été étudiées par QFM PCR.

Résultats préliminaires

Vingt-sept individus sont porteurs d'une mutation dans un des précédents gènes. Neuf individus portent une mutation du gène *CFTR* dont le plus fréquent est p.Phe508del. Un échantillon était hétérozygote pour *ST3GAL5*, trois pour *SLC7A2*, six pour *MARS* et six autres pour *B4GALT7*. Après revue de la littérature, à partir des chiffres d'incidence décrits et l'application de la loi de Hardy-Weinberg, la fréquence des hétérozygotes a été estimée pour chaque pathologie. Nous avons ensuite comparé cette fréquence estimée à nos résultats de criblage : la fréquence des hétérozygotes varie entre 0,2% et 2% selon la pathologie étudiée.

Conclusion

Notre étude révèle une fréquence significative des hétérozygotes pour l'ensemble des mutations étudiées avec une fréquence des porteurs de la plupart des maladies étudiées plus importante que celle rapportée dans la littérature. Elle argumente en faveur de la mise en place d'un DPC spécifique à La Réunion en cas d'évolution de la législation.

Pièce jointe : Résumé Poster Assises Tours 2020.docx

#20463 : Achondroplasie, étude rétrospective d'une série mono-centrique de 78 cas consécutifs, Analyse du parcours diagnostique.

Auteurs :

Genevieve Baujat (1), Roxana Borghese (2), Pascale Sonigo (3), Joana Bengoa (2), Caroline Michot (4), Tania Attié-Bitach (5), Séverine Bacrot (2), Jean-Pierre Bernard (6), Bettina Bessieres (5), Millischer Anne-Elodie (3), Sophie Rondeau (7), Beatrice Childs (8), Philippe Roth (6), Laurent Salomon (6), Yves Ville (6), Jean-Paul Bonnefont (9), Julie Steffann (2), Valérie Cormier-Daire (4)

1. Département de Génétique Clinique, Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
2. Service de Génétique Moléculaire,, Hôpital Necker, Paris, France
3. Département d'Imagerie Pédiatrique,, Hôpital Necker, Paris, France
4. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
5. Unité Fonctionnelle d'embryofœtopathologie,, Hôpital Necker, Paris, France
6. Département d'Obstétrique,, Hôpital Necker, Paris, France
7. Département de Génétique,, Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, Paris, France
8. Département de Génétique Clinique, Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Hôpital Necker, Paris, France
9. Département de Génétique, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine,, Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, Paris, France

Mots clefs : achondroplasie, diagnostic prénatal, FGFR3, imagerie prénatale, accompagnement

Résumé :

En France, le diagnostic d'achondroplasie (ACH) est souvent évoqué en fin de grossesse, conférant des difficultés importantes pour les couples et professionnels impliqués. L'identification de cette affection a bénéficié ces dernières années des progrès réalisés en imagerie prénatale (échographie 2D et 3D, scanner osseux fœtal avec reconstruction 3D et dose minimale d'irradiation) et du développement des outils moléculaires par techniques invasive et non-invasive, permettant un diagnostic prénatal (DPN) plus rapide et fiable.

L'objectif est de décrire le parcours diagnostique chez 78 cas d'ACH ayant consulté dans le Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles entre 2008 et 2018. Le déroulement de la grossesse, l'âge au diagnostic, les procédures utilisées, en imagerie (échographie, scanner 3D osseux) et en moléculaire (mutation spécifique de *FGFR3* sur liquide amniotique et plus récemment sur ADN fœtal circulant dans le sang maternel), ainsi que le devenir de la grossesse (interruption médicale de grossesse (IMG) ou grossesse menée à terme) ont été analysés de façon rétrospective.

Le diagnostic a été confirmé pendant la grossesse pour 52 cas (67%), à un terme moyen de 30 semaines d'aménorrhée (SA). Pour les 26 cas (33%) diagnostiqués en postnatal, tous ont eu la confirmation en période néonatale sauf un enfant diagnostiqué à l'âge de 2 mois. Parmi les 52 cas diagnostiqués en prénatal, 9 fœtus avaient au moins un parent ACH : 4 ont été diagnostiqués à 12 SA après DPN sur prélèvement des villosités chorales, menant à une IMG pour les 4 ; 5 ont été diagnostiqués par échographie de diagnostic à un terme moyen de 26 SA, avec une grossesse ensuite menée à terme.

Pour les 43 cas prénataux de novo, l'échographie de dépistage à 22 SA était dite normale dans 80 % des cas. Les premiers symptômes, notés entre 24 et 35 SA, étaient des os longs courts (100%), avec macrocéphalie (83%). Le diagnostic a été confirmé par le scanner osseux pour 22/22 cas où il a été réalisé (52%) et/ ou par DPN moléculaire sur amniocentèse (43%). Il n'y a eu qu'1 confirmation par méthode non-invasive dans cette étude rétrospective.

Le DPN a conduit à une IMG pour 14 cas (34%) à un terme moyen de 32 SA. La grossesse a été menée à terme pour 66% des fœtus prénataux de novo. La comparaison des deux sous-groupes "nés" et "IMG" ne montre pas de différence significative hormis le terme de confirmation diagnostique (31 SA / 29 SA).

En conclusion, cette analyse confirme le diagnostic fréquent (2/3) mais tardif de l'ACH en prénatal pour les formes de novo. L'indication des outils diagnostiques appropriés en fonction du terme et du souhait des parents est important pour diminuer le temps d'errance diagnostique, et leur accompagnement soutenu par des équipes de référence pour une information adaptée est d'autant plus nécessaire pour apprivoiser ce cadre diagnostique délicat dont les conséquences et la prise en charge postnatales sont aujourd'hui mieux maîtrisées.

#19876 : Recherche d'anomalies d'empreinte des gènes *DLK1* et *MKRN3* par analyse de l'index de méthylation de l'ADN dans une cohorte de filles présentant une puberté précoce

Auteurs :

Virginie STEUNOU (1), Ana PINHEIRO MACHADO CANTON (2), Irène NETCHINE (3), Ana Claudia LATRONICO (2), Marie-Laure SOBRIER (4)

1. UMRS-938, Centre de Recherche Saint-Antoine, Paris, France
2. Laboratoire d'hormonologie et de Génétique Moléculaire, Faculté de Médecine de l'Université de Sao Paulo, Sao Paulo, Brésil
3. , UMRS_938, Paris, France
4. , UMRS_938, PARIS, France

Mots clefs : Puberté centrale précoce/Empreinte génomique/Méthylation

Résumé :

Contexte : Une perte d'empreinte génomique a été décrite dans plusieurs pathologies chez l'homme. Des causes monogéniques de puberté centrale précoce (CPP) ont été identifiées dans des familles avec des mutations perte de fonction dans deux gènes soumis à empreinte et d'expression paternelle : *MKRN3* (Makorin zinc finger 3) et *DLK1* (Delta Like 1 homolog). Par contre, aucun défaut de la méthylation des centres d'empreinte n'a été décrit à ce jour pour des patients avec CPP.

Dans une cohorte de filles présentant une CPP, l'index de méthylation (IM) des régions méthylées de façon différentielle (DMR) de *MKRN3* et *DLK1* sera étudiée.

Méthode : 115 filles présentant une CPP (107 cas sporadiques, 8 cas familiaux) ont été sélectionnées pour l'étude. L'IRM de la région hypothalamo-hypophysaire est normale pour toutes. Leur ADN a été extrait de leucocytes et la présence de variants pathogéniques dans les séquences codantes de *MKRN3* et *DLK1* a été exclus par séquençage direct. L'ADN a alors été traité par bisulfite pour une analyse de l'IM allèle spécifique par PCR quantitative en temps réel dans les DMR de *MKRN3* (*MKRN3*-TSS-DMR) et de *DLK1*-*MEG3* (IG-DMR). Les IM obtenus ont été comparés à ceux d'ADN contrôles : 50 adultes, 15 filles prépubères et 18 filles pubères.

Résultats : L'âge moyen de puberté des patientes incluses est de 6,1+/-1,9 ans. Une hypométhylation au locus *DLK1*-*MEG3* IG-DMR a été identifiée chez deux patientes (cas sporadiques I et II). Cette hypométhylation entraîne une absence d'expression de l'allèle paternel *DLK1*. Ces deux fillettes ont été adressées au service d'endocrinologie pédiatrique parce qu'elles présentaient des signes de puberté précoce ; mais au cours de leur suivi, de façon intéressante, d'autres éléments cliniques ont été découverts : nées petites pour l'âge gestationnel, surpoids ou obésité et diabète de type 2 précoce pour la patiente II. L'analyse de SNP par puce a été réalisée pour la patiente I et a permis d'identifier une disomie uniparentale partielle du chromosome 14 (upd(14)). La patiente II a un profil de puce SNP normal orientant la cause de l'hypométhylation vers une épimutation. Chez toutes les autres patientes l'index de méthylation de *DLK1*-*MEG3* IG-DMR moyen est de 49+/-1,5%. Chez toutes les patientes celui pour *MKRN3* TSS-DMR est de 49+/-5%. D'autre part, dans le groupe étudié, il n'y a pas de corrélation significative entre l'âge de la puberté et 1) IM pour *MKRN3* TSS-DMR (p=0,69) et IM pour *DLK1*-*MEG3* IG-DMR (p=0,45).

En conclusion, il n'y a pas de défaut de méthylation dans la région soumise à empreinte de *MKRN3* identifiée dans la cohorte étudiée. Une hypométhylation dans le DMR de *DLK1*-*MEG3*, région soumise à empreinte, a été identifiée chez deux patientes présentant une CPP et des signes cliniques du syndrome de Temple.

#19992 : La trisomie 18 ou syndrome d'Edwards (étude descriptive au CHU de Casablanca et revue de littérature)

Auteurs :

Fatima Zahra OUTTALEB (1), Fatima Zahra OUTTALEB (1), Nadia SERBATI (1), Ghizlane JABRANE (1), Hind DEHBI (2)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Casablanca, Maroc

2. Laboratoire de Génétique Médicale, Laboratoire de Pathologie cellulaire et Moléculaire, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Université Hassan II, Casablanca, Maroc

Mots clefs : trisomie 18, dysmorphie faciale, diagnostic prénatal.

Résumé :

Introduction :

La trisomie 18 est une aberration chromosomique, dû à la présence d'un chromosome 18 surnuméraire. Les nourrissons atteints de trisomie 18 ont un taux de mortalité élevé, secondaire aux malformations létales associées à ce syndrome.

L'objectif de cette étude est de décrire les caractéristiques cliniques et cytogénétiques de ces patients, ainsi que l'intérêt du conseil génétique.

Patients et méthodes :

C'est une étude descriptive transversale réalisée sur une période de 5 ans, allant de juillet 2015 à avril 2019. L'étude a concerné les patients suivis au service de génétique médicale du CHU Ibn Rochd de Casablanca et présentant des anomalies évoquant la trisomie 18, et confirmé par étude cytogénétique.

Résultats :

Il s'agit de 5 patients atteints du syndrome d'Edwards, suspectés cliniquement, puis confirmé à l'étude cytogénétique, avec une prédominance féminine ; 3 filles et 2 garçons. (sex-ratio = 0,67). L'âge moyen au moment du diagnostic était de $37,40 \pm 23,98$ jours (9 jours - 2 mois).

La trisomie 18 a été évoqué cliniquement dans deux cas devant une dysmorphie faciale et un syndrome malformatif évocateurs de l'anomalie chromosomique, alors que deux patientes étaient hospitalisées en unité de soins intensifs pour insuffisance cardiaque décompensée, sur cardiopathie congénitale, et un patient a présenté une détresse respiratoire néonatale sur syndrome polymalformatif, au moment du diagnostic.

L'étude cytogénétique réalisée a confirmée le diagnostic de trisomie 18 libre et homogène chez les cinq patients, puis un conseil génétique a été réalisé.

Discussion :

La prévalence de la trisomie 18 est variable. Au niveau mondial, on estime la prévalence 1/6000 naissances vivantes, les plus touchées étant celles du sexe féminin.

Le diagnostic de trisomie 18 peut être suspecté à la naissance chez un nouveau-né présentant une dysmorphie crânio-faciale caractéristique, et une position du « suppliant » des bras, mains avec des doigts en flexion permanente, l'index chevauchant le 3^{ème} doigt, l'auriculaire chevauchant le 4^{ème} doigt. Il existe plusieurs malformations associées à la trisomie 18. Le syndrome est également évoqué en anténatal en cas de présence d'anomalies à l'échographie obstétricale. Par ailleurs, la survie est faible et seul un nouveau-né sur 10 atteint la première année de vie.

Pièce jointe : 2A T18.docx

#20025 : Ajustements locus-spécifiques des critères de classification des variants de séquence de l'ACMG-AMP : propositions pour le gène *MEN1*, issues du travail collaboratif national du groupe TENGEN pour la base UMD-MEN1.**Auteurs :**

Pauline ROMANET (1), Marie-Françoise Odou (2), Marie-odile North (3), Lucie Coppin (4), Alexaandru Saveanu (1), Amira Mohamed (5), Céline Guien (6), Morgane PERTUIT (7), alain Calender (8), Eric Pasmant (3), Françoise Borson-chazot (9), Pierre Goudet (10), Christophe Beroud (11), Nicolas Lévy (12), Sophie Giraud (13), Anne BARLIER (1)

1. INSERM, MMG, Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital La Conception, , Aix Marseille Univ, Marseille, France
2. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Lille, Lille, France
3. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin , Paris, France
4. UMR-S 1172 - JPARC - Jean-Pierre Aubert Research Center, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Lille, France
5. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, marseille, France
6. INSERM MMG UMR 1251 Bioinformatic Team, Aix Marseille Univ, Marseille, France
7. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, Marseille, France
8. Service de génétique Moléculaire et Clinique, Hôpital E. Herriot, Lyon, France
9. Service d'endocrinologie, Hospices civils de Lyon - Hôpital Louis Pradel, Lyon, France
10. Department of Endocrine Surgery and INSERM, U866, Epidemiology and Clinical Research in Digestive Oncology Team, University Hospital of Dijon, Dijon, France
11. INSERM MMG UMR 1251 Département de Génétique, Hôpital la Timone Enfants, Aix Marseille Université, 13344, Marseille, France, Marseille, France
12. INSERM MMG UMR 1251 Département de Génétique, Hôpital la Timone Enfants, Aix Marseille Univ, Marseille, France
13. Service de génétique Moléculaire et Clinique, Hôpital E. Herriot, Lyon, France

Mots clefs : ACMG-AMP, variant de signification inconnue, *MEN1*, classification

Résumé :

Depuis 2003, le groupe TENGEN, réseau des laboratoires experts dans le diagnostic moléculaire des tumeurs neuroendocrines rares, est missionné par l'INCa pour améliorer le diagnostic des maladies en harmonisant les pratiques et approfondissant les critères de diagnostic et de classification des variants moléculaires. Ainsi depuis plus de 10 ans, les membres du groupe TENGEN collectent les données clinico-biologiques des patients testés pour le gène *MEN1* et classent collégialement les variants au cours de réunions biannuelles. Ce travail a permis la mise en ligne d'une base de données de 370 variants du gène *MEN1*, identifiés chez 1676 patients français, et interprétés de façon consensuelle : la base UMD-MEN1 (<http://www.umd.be/MEN1/>).

Les mutations inactivatrices du gène suppresseur de tumeur *MEN1* sont responsables d'une maladie héréditaire rare la néoplasie endocrinienne multiple de type 1 (NEM1). La NEM1 est une maladie à pénétrance tardive mais complète, qui se caractérise par l'association de plusieurs lésions du système endocrines : hyperparathyroïdie (90-95%), tumeurs neuroendocrines digestives (30-70%), adénomes hypophysaires (30-40%), parfois associées à des lésions dites mineures : adénomes surrénaliens, tumeurs carcinoïdes bronchiques, thymomes, méningiome. L'exploitation des données de la base UMD-MEN1 nous a permis de mieux caractériser la maladie et les variants de ce gène présents dans la population française. Parmi les variants (probablement) pathogènes 20% sont des variants faux sens, dont la classification peut être extrêmement difficile.

Nous avons comparé l'interprétation par le groupe TENGEN des 122 variants faux-sens du *MEN1*, recensés dans la base UMD-MEN1, aux recommandations de l'ACMG-AMP. 59,8 % des variant ont été qualifiées de variantes (probablement) pathogènes par TENGEN contre seulement 28,7 % selon les recommandations de l'ACMG-AMP. Dans les faits, 53,4 % (39/73) des variants (probablement) pathogènes de TENGEN seraient déclassifiés en variant de signification inconnue (VSI) en utilisant les recommandations de l'ACMG-AMP, affectant la prise en charge clinique des patients et leurs familles. Vingt et un de ces VSI « ACMG-AMP » ont été trouvés chez des patients atteints d'une NEM1 cliniquement authentique.

Nous avons analysé les causes des discordances afin de proposer des ajustements à la grille ACMG-AMP pour l'interprétation des variants faux-sens de *MEN1*. Ces propositions fusionnent les deux systèmes de classification et sont d'un intérêt pratique particulier, puisque le gène *MEN1* est inclus dans la liste des gènes recommandés pour le rapport des données secondaires pour le séquençage des exomes/ génomes clinique (ACMG et SFMPF).

Pièce jointe : RomanetMEN1 UMD Assises 2020 04102019.docx

#19941 : Anomalies du gène BCAP31 Description clinique et radiologique de 16 nouveaux patients de 13 familles

Auteurs :

Sandra Whalen (1), Renee Carroll (2), Marie Shaw (2), Odile Boespflug Tanguy (3), Cyril Mignot (4), Thierry Billette de Villemeur (5), Sandra Chantot-Bastaraud (6), Delphine Héron (7), Cécile Cieuta-Walti (8, 9), Jan Liebelt (10), Frances Elmslie (11), Patrick Yap (12), Jane A Hurst (13), Elisabeth Forsythe (13), Brian Kirmse (14), Jillian Ozmore (15), Olga calabrese (16), Alessandro Mauro Spinelli (16), Antonella Pini (17), Anne Claude Tabet (18), Jonathan Levy (18), Agnes Guet (19), Manoëlle Kossorotoff (20), Benjamin Kamien (21), Jenny Morton (22), Annick Raas-Rothschild (23), Anne McCabe (22), Laurent Villard (24), Jozef Gecz (2)

1. UF de génétique clinique, CRMR Anomalies du développement et syndromes malformatifs, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Adelaide Medical School, The University of Adelaide, South Australia, Adelaide, Australie
3. Service de neuropédiatrie et maladies métaboliques, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. UF de génétique clinique, Centre de Référence Maladies Rares Déficiences intellectuelles de causes rares, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Sorbonne Université, service de neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, APHP.SU, INSERM U1141, Paris, France
6. Département de génétique médicale, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
7. Département de génétique, Centre de Référence Maladies Rares Déficiences intellectuelles de causes rares, APHP, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
8. , Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
9. CIUSS de l'Estrie, CHUS Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada
10. South Australian Clinical Genetics Service, Women's and Children's Hospital, Adelaide, Australie
11. South West Thames Regional Genetics Service, St George's University Hospitals, London, Royaume Uni
12. Genetic Health Service New Zealand (Northern Hub), Auckland City Hospital, Auckland, Nouvelle-Zélande
13. Department of Clinical Genetics, Great Ormond Street Hospital For Children NHS Foundation Trust, London, Royaume Uni
14. Department of Pediatrics, Division of Medical Genetics, University of Mississippi Medical Center, Jackson, MS, Etats-Unis
15. Medical Genetics, Dartmouth-Hitchcock medical center, Lebanon, New Hampshire, Etats-Unis
16. Medical Genetics Unit, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italie
17. Child Neurology Unit, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche, Bologna, Italie
18. UF de Cytogénétique, Département de génétique, APHP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
19. Service de Néonatalogie et Pédiatrie, APHP, Hôpital Louis-Mourier, Colombes, France
20. Département de neurologie pédiatrique, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris, France
21. Genetic Services of Western Australia, King Edward Memorial Hospital, Subiaco, Australie
22. Clinical Genetics Unit, Women's Hospital, Edgbaston, Birmingham, Royaume Uni
23. Institute for Rare diseases, Edmond and Lily Safra Children Hospital, Tel-Hashomer, Israël
24. Département de génétique médicale, AP-HM, Hôpital d'enfants La Timone, Marseille, France

Mots clefs : BCAP31, déficience intellectuelle, dystonie, anomalies de la substance blanche, surdité

Résumé :

Les mutations du gène *BCAP31* situé sur le chromosome X ont été décrites en 2013 et sont responsables d'une déficience intellectuelle sévère associée à une dystonie et une surdité. Un décès prématuré est fréquent. Des anomalies de la substance blanche sont retrouvées sur l'IRM cérébrale. Dans la littérature, 11 patients de 6 familles, tous masculins, ont été décrits. Dans tous les cas, les variations génomiques étaient héritées à l'exception d'une survenue *de novo*.

De plus, 9 patients ont été décrits avec une délétion chromosomique de petite taille incluant *BCAP31* et *ABCD1* (gène de l'adrénoleucodystrophie) et/ou *SLC6A8* (gène du transporteur cérébral de la créatine).

Le phénotype des patients délétés *BCAP31* et *SLC6A8* (2/9) est proche des patients avec une variation de *BCAP31* seul, dont l'atteinte neurologique est plus sévère que lors d'une anomalie isolée de *SLC6A8*.

La sévérité du phénotype neurologique des patients délétés *BCAP31* et *ABCD1* (7/9) est aussi dominée par la délétion de *BCAP31*. Mais chez ces patients, tous décédés avant 1 an, une atteinte hépatique cholestatique sévère et constante est également présente, et non décrite à ce jour dans les anomalies isolées de *BCAP31* ou *ABCD1*. Une cytolysé hépatique modérée a été décrite chez 3 patients avec anomalie isolée de *BCAP31*. L'hypothèse d'un effet synergique de la délétion de ces 2 gènes est avancée pour expliquer l'atteinte hépatique.

Nous rapportons 17 nouveaux patients de 14 familles ayant une anomalie du gène *BCAP31* (15 garçons et 2 filles) : 11 familles avec une mutation ou délétion intragénique et 3 familles avec un microremaniement chromosomique responsable d'une délétion complète de *BCAP31*, associée à une délétion de *SLC6A8* et/ou *ABCD1*. Tous les patients sauf un sont en vie, soit une mortalité qui semble moins élevée que les patients déjà décrits.

Le tableau clinique de ces patients associe, comme précédemment décrit, une déficience intellectuelle profonde (moins sévère chez les 2 filles et un garçon), une dystonie et/ou chorée, une surdité (9/13). L'épilepsie est peu fréquente (5/16). Des difficultés alimentaires sévères sont quasi constantes. Une cytolysé hépatique modérée est décrite chez 8/11 patients.

Un garçon délété *BCAP31* et *SLC6A8* a présenté un épisode unique d'insuffisance hépatique suite à une prise de Dépakine. Une fille délétée *BCAP31* et *ABCD1*, présente une atteinte hépatique sévère. Un garçon délété *BCAP31* et *ABCD1*, qui présente le tableau neurologique sévère attendu, n'a pas l'atteinte hépatique sévère décrite dans ce type de délétion (légère cytolysé hépatique à 10 mois).

A l'IRM cérébrale, des anomalies des noyaux gris et de la fosse postérieure semblent s'associer aux anomalies de la substance blanche.

Nous rapportons également 11 femmes conductrices symptomatiques (7/11 familles) avec une surdité (6/12) ou une épilepsie (2/12).

Des études fonctionnelles sur fibroblastes sont en cours pour une femme symptomatique (déficience intellectuelle) portant une mutation faux-sens.

#20243 : Syndrome BNAR (Nez Bifide avec ou sans anomalie Anorectale et Rénale) : une nouvelle famille et comparaison avec le syndrome MOTA**Auteurs :**

Elise Brischoux-Boucher (1), Fowzan Alkuraya (2), Céline Gronier (3), François Nobili (4), Lionel Van Maldergem (1)

1. Centre de génétique humaine, CHRU St Jacques, Besançon, Besançon, France
2. Saudi Diagnostic Laboratories,, King Faisal Specialist Hospital and Research Centre, Riyadh , Arabie saoudite
3. Unité de cardiologie congénitale, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
4. Néphrologie pédiatrique, CHRU Minjoz, Besançon, Besançon, France

Mots clefs : *FREM1*, BNAR syndrome, bifid nose, anorectal anomalies, renal anomalies

Résumé :

FREM1-related autosomal recessive disorders include Manitoba oculotrichoanal (MOTA) syndrome and bifid nose with or without anorectal and renal anomalies (BNAR) syndrome. It is a very rare group of disorders with only a few cases reported so far. To date, the authors are aware of nine published individuals presenting as BNAR syndrome (Al-Gazali, 2002; Alazami, 2009). All of them belong to three consanguineous families of Egyptian, Afghani, and Pakistani ancestry. We report here two additional cases in siblings born to Turkish consanguineous parents. Both have the characteristic facial appearance with a bifid nose, unilateral renal agenesis in one of them, and no anorectal anomalies. Interestingly, one of them, a boy has a hitherto unreported congenital heart disease, namely Ebstein malformation, and mild intellectual disability. A homozygous *FREM1* exons 18-30 deletion has been identified in brother and sister. As a conclusion, we do a comparison between clinical features of BNAR and MOTA syndromes.

#19937 : Deciphering the genetic etiology of pediatric cancers through an integrative gene network approach

Auteurs :

Clara SAVARY (1), Artem KIM (1), Alexandra LESPAGNOL (2), Virginie GANDEMEER (3), Isabelle PELLIER (4), Charlotte ANDRIEU (5, 6), Gilles PAGÈS (7, 8), Marie-Dominique GALIBERT (2, 3), Yuna BLUM (9), Marie de TAYRAC (1, 5)

1. Genetics of Development Related Pathologies Team, Univ Rennes, IGDR (Institut de génétique et développement de Rennes) - CNRS UMR 6290, Rennes, France
2. Somatic Cancer Genetics Department, Pontchaillou Hospital, CHU de Rennes, Rennes, France
3. Gene Expression and Oncology Team, Univ Rennes, IGDR (Institut de génétique et développement de Rennes) - CNRS UMR 6290, Rennes, France
4. Pediatric Immuno-Hemato-Oncology Unit, Angers University Hospital, Angers, France
5. Molecular Genetic and Genomic Department, Pontchaillou Hospital, CHU de Rennes, Rennes, France
6. Chemistry Oncogenesis Stress Signaling (COSS) Laboratory - INSERM U1242, Centre de Lutte Contre le Cancer (CLCC) Eugène Marquis, Rennes, France
7. University of Nice Sophia Antipolis, Centre Antoine Lacassagne, RCAN (Institute for Research on Cancer and Aging of Nice) - CNRS UMR 7284, INSERM U1081, Nice, France
8. Biomedical Department, Centre Scientifique de Monaco - CSM, Monaco, Monaco
9. Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT), Ligue Nationale Contre le Cancer, Paris, France

Mots clefs : gene network, systems biology, pediatric cancers, genetic etiology, pan-cancer analysis, gene expression

Résumé :

Introduction: Cancer is the leading cause of disease-related mortality in children beyond fourteen years of life. Major advances have been made in onco-pediatric research but additional studies are needed to further elucidate the genetic etiology of pediatric cancers.

Materials and Methods: Our work aims at improving the understanding of pediatric cancer pathogenesis by analyzing the pan-cancer transcriptome data provided by the Treehouse Childhood Cancer Initiative. We constructed a gene co-expression network and performed a deep multi-layer examination of modules gathering genes functionally related to pediatric cancers.

Results: Pediatric cancer genes were regrouped in 6 modules enriched in biological processes specific to various cancer histotypes. Interestingly, developmental pathways representative of the cellular lineage of the tumors were found among the enriched processes, consistent with a link between organogenesis and tumorigenesis in childhood cancers. Childhood cancer predisposition genes were significantly enriched in one particular module associated with common oncogenic processes, such as DNA repair and cell cycle regulation. In this module, we revealed an over-representation of clinically actionable genes, as well as in two other modules tightly related to leukemogenesis. The driver genes of pediatric acute leukemias were co-expressed in one module related to epigenetic and post-transcriptional processes, suggesting a critical role of these pathways in the progression of hematologic malignancies. Topological analyses highlighted that many of the key regulators of these cancer-histotype specific modules correspond to known pediatric cancer predisposition genes (e.g. *PHOX2B*, *PAX5*).

Conclusion: This integrative pan-cancer study offers detailed information about the genes and modules associated with childhood tumors and provides a deeper understanding of the genetic architecture of pediatric cancers.

#20395 : Association de mutation de novo de WHSC1 à un pseudo-syndrome de Silver-Russell : un important diagnostic différentiel**Auteurs :**

Camille Engel (1), Elise Brischoux-Boucher (1), Aurélie Comte (2), Guillaume Smits (3), Mathilde Nizon (4), Emeline Roy (5), Lionel Van Maldergem (1)

1. Centre de génétique humaine, CHU de Besançon, Besançon, France
2. Service de Pédiatrie, CHU de Besançon, Besançon, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Erasme, Bruxelles, Belgique
4. Service de Génétique, Necker, Paris, France
5. Service de Pédiatrie, Necker, Paris, France

Mots clefs : Wolf-Hirschhorn syndrome region, WHSC1, failure to thrive, language delay, feeding difficulties, Silver-Russell syndrome

Résumé :

Wolf-Hirschhorn syndrome (WHS), first described in 1961, is a well-known 4p- terminal microdeletion syndrome that includes developmental delay and a distinctive "Greek Warrior Helmet" facial appearance. The gene(s) that account for the neurodevelopmental component in WHS critical region is (are) still matter to debate: *WHSC1* and *WHSC2* are strong candidates. Recently, a specific phenotype associated with *WHSC1* truncating mutations has been reported in a small number of patients. It includes severe pre- and post-natal failure to thrive and an eating disorder, similar in many respects to what it observed in Silver-Russell syndrome, and, importantly, absence WHS dysmorphia. Mild intellectual disability, hypotonia, microcephaly and a moderately distinctive facial appearance, without epilepsy are observed. We report here an additional patient who had a history of intrauterine growth retardation and feeding difficulties from birth with growth deficiency requiring gastrostomia. Silver-Russell syndrome was first considered, however 11p15 methylation profile was normal, as was array-CGH. In addition, language delay and impaired social interactions were noted, along with a small head, dental anomalies and micrognathia. Radiological investigations, including cerebral MRI, EEG and skeletal radiographs, were normal. Mendelian genes sequencing identified an heterozygous *de novo* c.1798C>T (p.Arg600*) *WHSC1* mutation (G. Smits, Brussels). Interestingly, the phenotype of our patient is very similar to seven patients among the 20 patients described sofar. We suggest that *WHSC1* mutations cause a syndrome combining intellectual disability, an eating disorder and failure to thrive, that resembles Silver-Russell syndrome.

Pièce jointe : WHS like abstract.docx

#19965 : Premières observations de délétion 18q (18q22) : à propos de 3 cas de Casablanca

Auteurs :

hasna hamdaoui (1), Fatima Chegdani (2), oumaima Benlarroubia (3), nabila chekhlabi (4), hind Dehbi (5)

1. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital cheikh khalifa, faculté des sciences Ain Chock, université Hassan II , Casablanca, casablanca, Maroc
2. , Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc
3. laboratoire national de référence, Casablanca, Hopital cheikh khalifa, casablanca, Maroc
4. hopital cheikh khalifa; casablanca, universite mohamed 6 des sciences de la sante, casablanca, Maroc
5. laboratoire de genetique medicale CHU casablanca, laboratoire de pathologie cytologie moleculaire, faculte de medecine de casablanca, universite Hassan II, casablanca, Maroc

Mots clefs : syndrome del(18q), caryotype

Résumé :

Introduction :

Le syndrome du chromosome 18q est un trouble chromosomique rare dans lequel il y a une délétion d'une partie du bras long (q) du chromosome 18, observe dans 1 naissance sur 40.000, il est caractérisé par la petite taille, l'hypotonie, le retard mental, une déficience auditive, les malformations des mains et des pieds.

Matériel et méthodes :

Nous rapportons 3 cas, 1 du laboratoire national de référence et 2 de CHU Casablanca. Le caryotype constitutionnel a été réalisé à partir de sang périphérique selon la technique standard avec RHG banding.

Résultats :

Il s'agit de 3 enfants adresses pour :

- Cas 1 : Un garçon âgé de 3 ans et 4 mois, dernier d'une fratrie de 2, sans notion de consanguinité qui présente une dysmorphie, un retard de langage, un retard psychomoteur, avec des pieds plats, un palais ogival, et pli palmaire unique gauche.

Son bilan montre un examen ORL normal, une tomодensitométrie cérébrale normale sauf la sinusite, une échographie abdominale normale, un bilan thyroïdien (T3, T4, TSH) normal.

Le caryotype présent une délétion du bras long du chromosome 18 (18q22), le caryotype des parents était normal.

- Cas 2 : Une fille de 3 ans, premier enfant d'un mariage non consanguin, avec comme antécédent une luxation congénitale des hanches traitée à l'âge de 12 mois. L'examen clinique signale un retard de langage, et une dysmorphie faciale.

Le caryotype montre une délétion 18q, (del(18) (q22qter)), le caryotype des parents n'a pas été réalisé.

- Cas 3 : Une fille, âgée de 14 mois, issu d'un mariage consanguin. Elle présente un retard staturopondéral à 3 déviations standard, un retard des acquisitions psychomotrices avec un syndrome polymalformatif on note un faciès déformé : hypertélorisme, nez aplati, oreilles bas implantés, une fente labio palatine opérée il y a 4 mois, une cardiopathie congénitale, une atrophie corticale, une épilepsie sévère, nystagmus horizontal avec vice de réfraction.

Son bilan biologique a été normal ainsi que les bilans hépatiques et rénaux normaux, seul le caryotype qui présente une délétion 18q (46,XY,del (18q22)).

Conclusion :

L'étude chromosomique lors de ces syndromes est indispensable pour le diagnostic et la caractérisation de plusieurs pathologies.

#20402 : Association des gènes glutathion S-transférases avec la prédisposition à la leucémie myéloïde aiguë (LAM) chez des sujets Maroc

Auteurs :

Oum kaltoum AIT BOUJMIA (1), Hind Dehbi (2), Hossam Hilal el idrissi (1), Mouna Lamchahab (3)

1. , Laboratory of Cellular and Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Pharmacy of Casablanca, University Hassan II, Casablanca, Morocco, Casablanca, Maroc
2. , Laboratory of Cellular and Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Pharmacy of Casablanca, University Hassan II, Casablanca, Maroc
3. , Department of Onco-Hematology, Ibn Rochd University Hospital, Casablanca, Morocco, Casablanca, Maroc

Mots clefs : Glutathions S-transférases, Leucémie myéloïde aiguë, prédisposition

Résumé :

Introduction : La leucémie myéloïde *aiguë* est une maladie complexe et multifactorielle résultant d'*interactions entre* des facteurs de risque génétiques et environnementaux. L'objectif de notre étude était d'évaluer l'impact des polymorphismes du gène *glutathion S-transférase (GSTT1, GSTM1 et GSTP1)* sur la *susceptibilité à la leucémie aiguë myéloïde* dans un échantillon de la population Marocaine. Les glutathions S-transférases (GST) enzymes de détoxification polymorphes impliquées dans le métabolisme de nombreuses substances précancérogènes. Récemment, plusieurs études ont mis en évidence l'implication de certains variants alléliques de la GST dans le développement de plusieurs maladies surtout les cancéreuses.

Patients et méthodes : Notre étude cas-témoin a porté sur 192 patients atteints de LAM et 210 témoins sains. Les profils génotypiques de la GSTT1 et GSTM1 ont été déterminés en utilisant la technique de PCR multiplexe avec comme contrôle interne le gène BCL2. La PCR-Rflp (Restriction fragment long) a été utilisée pour identifier la GSTP1.

Résultats :

Nos résultats ont montré que le génotype nul de GSTT1 était significativement associé au risque de développement de la LAM (OR: 2.12, CI: 1.37-3.29, ??? = 0.0007). Cependant, aucune association significative n'a été observée entre le génotype GSTM1 nul et GSTP1 et le risque de LAM ($P > 0.05$). Une association statistiquement significative a été retrouvée entre certaines combinaisons des trois polymorphismes du gène GST et le risque de développement de la maladie.

Conclusion : Les résultats de notre étude suggèrent une forte association entre le génotype nul de GSTT1 et certaines combinaisons des trois gènes avec le risque de survenue de LAM au Maroc

#20527 : Cancer du sein et résistance aux anthracyclines.

Auteurs :

Abir Arfaoui (1, 2), Hayet DOUIK (3, 1), Arij BEN CHAABEN (2), Fethi GUÉMIRA (2), Maher Kharrrat (1)

1. Laboratoire de Génétique Humaine, LR99ES10, Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis EL Manar, Tunis, Tunisie
2. Service de Biologie Clinique, Institut Salah Azaiz, Tunis, Tunisie
3. Service de Biologie Clinique, Institut Salah Azaiz, Carthage, Tunisie

Mots clefs : cancer du sein; anthracyclines; p53; mdm2

Résumé :

L'usage de la chimiothérapie demeure une alternative quasi-systématique dans le traitement du cancer du sein, favorisant la baisse du taux de mortalité des patientes. C'est ainsi que les anthracyclines sont d'un grand apport en oncologie médicale, en effet ces inhibiteurs de topoisomérase II sont largement utilisés dans les protocoles de chimiothérapie anti-cancéreuse grâce notamment à leurs propriétés pro-apoptotiques. Cependant, certaines patientes se trouvent en échec thérapeutique, suite à une résistance aux anthracyclines. L'objectif de notre étude est d'estimer la proportion de femmes résistantes à ce type de chimiothérapie puis de chercher les causes de cette résistance en étudiant plus particulièrement les SNP72 Arg/Pro du gène *p53* et SNP344T/A du gène *mdm2*. Notre étude a porté sur 400 patientes atteintes d'un cancer du sein de type carcinome canalaire infiltrant traitées par chimiothérapie à base d'anthracyclines. Le génotypage des patientes a été effectué par PCR en temps réel basée sur la méthodologie « TaqMan ». Les fréquences génotypiques et alléliques obtenues ont été analysées par test de Chi2 au seuil de 5%. Nos résultats ont montré que 25% des patientes présentaient une résistance à la chimiothérapie (n=95) et que cette chimiorésistance dépendait de la taille tumorale, de l'envahissement ganglionnaire et de la présence de métastases à distance ($p < 1\%$), par contre elle ne serait pas associée aux polymorphismes SNP72Arg/Pro du gène *p53* et SNP344T/A du gène *mdm2*.

#20434 : Caractérisation génétique du diabète MODY dans une population tunisienne par la nouvelle approche NGS

Auteurs :

amal Guesmi (1), Rosa Martinez (2), Ana Belan de Hoz (2), sabrine oueslati (3), rahma mahjoub (1), manel zouaoui (1), Malek Dabboussi (3), Chaima Kassmi (3), Emna Hawet (4), Ines Kammoun (4), Luis Castaño (2), amina bibi (5)

1. laboratoire de biologie clinique, Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire de Tunis, tunis, Tunisie
2. , Institut de recherche en santé Biocruces Bizkaia , CIBERDEM, Bilbao, Espagne
3. Laboratoire de biologie clinique, Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire de Tunis, Tunis, Tunisie
4. Service d'endocrinologie et de diabétologie , Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire de Tunis, Tunis, Tunisie
5. laboratoire de biologie clinique, institut de nutrition de tunis, tunis, Tunisie

Mots clefs : Diabètes monogéniques, diabète MODY, diagnostic, NGS,

Résumé :

Introduction : Le diabète de type MODY (maturity onset diabetes of the young) est classé parmi les diabètes monogéniques qui constituent un groupe d'affections de transmission autosomique dominante. Il est caractérisé par une hétérogénéité génétique et clinique importante. Les critères de diagnostic pour un MODY sont : une transmission autosomique dominante avec 2 à 3 générations atteintes, un diabète apparaissant avant l'âge de 25-30 ans et une origine monogénique entraînant une dysfonction de la cellule beta.

Le diagnostic du MODY repose essentiellement sur l'analyse moléculaire permettant, par ailleurs, le sous typage. Actuellement, 14 gènes impliqués dans l'apparition de cette maladie ont été identifiés. Ils ont permis de classer les MODY en différents sous-groupes. En Tunisie, peu d'études se sont intéressées à ce type de diabète.

L'objectif de notre étude était la recherche de mutations associées au MODY dans un groupe de patients Tunisiens.

Patients et Méthodes : 10 patients ayant une histoire clinique évocatrice de MODY ont été analysés par la méthode NGS sur analyseur **Ion Torrent PGM et Ion S5**. L'approche NGS repose sur trois étapes: la première est une étape d'enrichissement ou de préparation d'une librairie par PCR-multiplex des 12 gènes d'intérêt (*HNF4A*, *GCK*, *HNF1A*, *PDX1*, *HNF1B*, *NEUROD1*, *KLF11*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *ABCC8* et *KCNJ11*) suivie d'une quantification des fragments amplifiés par PCR quantitative. La 2^{ème} étape consiste au séquençage proprement dit. Enfin, la 3^{ème} étape de *base-calling* correspond à la transformation des données brutes en données de séquences.

Résultats : Après analyse bioinformatique, deux mutations et un polymorphisme ont été identifiés chez les 10 patients. La première mutation p.Ala161Thr a été identifiée au niveau du gène *HNF1A* chez un patient âgé de 33 ans. Cette mutation responsable de MODY3 est déjà décrite dans la banque de données HGMD (The Human Gene Mutation Database). Par ailleurs, la 2^{ème} mutation p.Gln255Ter a été identifiée au niveau du gène *HNF4A* chez un autre patient de 25 ans. D'après le HGMD, cette mutation est responsable de MODY1. Le variant p.Ile463Val, au niveau du gène *HNF4A*, a été identifié chez 8 patients. Ce variant est déjà décrit, d'après HGMD, comme un polymorphisme associé au DTII.

Conclusion : Contrairement aux données de la littérature rapportant les MODY 2 et 3 comme étant les plus fréquents dans les populations caucasiennes, nos résultats ne reflètent pas à l'heure actuelle cette distribution et incitent à la recherche de gènes candidats pouvant expliquer les formes de MODY dans la population Tunisienne. L'approche NGS se prête parfaitement à ce type de diagnostic et permettrait d'optimiser le diagnostic des patients ayant un MODY, souvent classés, à tort, comme diabète de type 1 ou 2. Elle fournira ainsi une prise en charge adéquate au patient et aura pour conséquence une réduction du coût du traitement tout en évitant au maximum les complications dégénératives.

Pièce jointe : VF.resumé Amal Assise 2020.doc

#20343 : A propos d'un cas d'insensibilité partielle aux androgènes résolu par séquençage nouvelle génération : « Prenez garde aux mosaïques »

Auteurs :

Lilia LADDADA (1), Sylvie BEAUDOIN (2), Alexis PROUST (3), Bruno FRANCOU (3, 4), Anne GUIOCHON-MANTEL (3, 4), Jacques YOUNG (5, 4), Jérôme BOULIGAND (3, 4), Claire BOUVATTIER (6)

1. Plateforme d'expertise maladies rares Paris-Sud (APHP), Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Le Kremlin Bicêtre, France
2. Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades (APHP), PARIS, France
3. Service de Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique, Hormonologie, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, APHP, Le Kremlin Bicêtre., Hôpitaux Universitaires Paris Sud., LE KREMLIN BICETRE, France
4. 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
5. 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
6. Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpitaux Universitaires Paris Sud (APHP), Le Kremlin Bicêtre, France

Mots clefs : Génétique Moléculaire, NGS, AR, Mosaïque, Insensibilité partielle, Errance Diagnostique.

Résumé :

Contexte: Sortie de l'errance diagnostique pour un patient de 16 ans suspect d'insensibilité partielle aux androgènes. Analyse par NGS d'une large cohorte de patients atteints d'anomalies de la différenciation sexuelle (Analyse par NGS chez 290 patients entre 2015 et 2018).

Présentation clinique du patient: Né avec des organes génitaux atypiques, bourgeon 10 mm, orifice urinaire unique à sa base, bourrelets hypoplasiques et lisses, pas de gonade palpée. Parents originaires du même village du Niger. Caryotype 46,XY. Testostérone, AMH, FSH et LH normaux pendant la minipuberté. Pas de dérivés Müllériens à l'échographie. Analyses des gènes AR et SRD5A2 en 2003 réalisées par Séquençage Sanger rendues normales. Le patient est resté sans diagnostic pendant plus de 15 ans. Apparition d'une gynécomastie à la puberté.

Méthodes: Séquençage de nouvelle génération (NGS, exome de ciblé 83 gènes) associé à un nouvel outil bioinformatique permettant l'établissement accéléré de relations génotype phénotype (PythieVar). Classement des variants selon les recommandations ACMG2015.

Résultats: L'analyse NGS a permis de mettre en évidence une mutation faux-sens (Ser815Ile) probablement pathogène (classe 4) du gène AR (NM_000044.6). La répartition des allèles identifiées par NGS (52 allèles mutés vs 35 allèles sauvages) suggère un profil en mosaïque alors que les autres variants sur l'X sont hémizygotes. L'analyse de la couverture confirme le ratio XY et valide le caryotype 46,XY.

Conclusion: Résolution par NGS d'un dossier de résistance partielle aux androgènes chez un patient PAIS dans l'errance diagnostique depuis plus de 15 ans. Ces résultats confirment encore la supériorité du NGS/Sanger tout en soulignant l'importance de rechercher les mosaïques.

#19872 : Utilisation compatissante d'everolimus dans le traitement d'une épilepsie réfractaire secondaire à une mutation en mosaïque de mTor**Auteurs :**

Nawale HADOUIRI (1), Veronique Darmency (2), Laurent GUIBAUD (3), alexis Arzimanoglou (4), Arthur Sorlin (5), Virginie Carmignac (6), Jean-Baptiste Rivière (7), Caroline Racine (1), Frédéric Huet (2), Maxime Luu (8), Marc Bardou (8), Pierre Vabres (9), Laurence Faivre (10)

1. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France
2. Service de Neurophysiologie Clinique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France
3. Radiologie Pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfant (HFME), CHU Bron France, Lyon, France
4. Service d'épileptologie clinique, des troubles du sommeil et de neurologie fonctionnelle de l'enfant, HCL - GH Est, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, Lyon, France
5. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est et Génétique des Anomalies du Développement, UMR1231, Université de Bourgogne, Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France
6. Génétique des Anomalies du Développement, UMR1231, Université de Bourgogne, Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France
7. Génétique des Anomalies du Développement, UMR1231, Université de Bourgogne et Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France
8. Centre d'Investigation Clinique Plurithématique, Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France
9. Génétique des Anomalies du Développement, UMR1231, Université de Bourgogne; Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD) et Centre de Référence des maladies rares de la peau et des muqueuses d'origine génétique (MAGEC), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France
10. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, Génétique des Anomalies du Développement, UMR1231, Université de Bourgogne et Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, Dijon, France

Mots clefs : MTOR, mutation mTOR en mosaïque, everolimus, épilepsie, traitement dans les maladies rares

Résumé :

Introduction : Le gène *MTOR* code pour la cible fonctionnelle de la rapamycine (mTOR), un composant central de la voie de signalisation PI3K-AKT-mTOR. Ce gène a pu être associé à divers phénotypes neurocutanés suivant le tissu porteur d'une variation en mosaïque.

Matériel et méthodes : Nous rapportons ici le cas d'une patiente de 12 ans présentant une Hypomélanose d'Ito (HI) avec hémihypertrophie corporelle, hémimégalencéphalie, malvoyance et maladie épileptique réfractaire évolutive, ayant mené à la mise en évidence d'une mutation en mosaïque du gène *MTOR* (p.Glu2419Lys) par séquençage de l'exome en profondeur sur biopsie cutanée en zone atteinte dans 41% des cellules analysées. L'analyse des fibroblastes dermiques avait montré une suractivation de la voie de signalisation mTOR. Devant une aggravation de son épilepsie et la présence d'une régression des acquisitions, un traitement compassionnel par everolimus a été proposé après validation par le comité d'éthique de l'établissement. Le traitement a été instauré à une dose initiale de 5 mg/jour puis augmenté progressivement pour atteindre 12,5 mg/jour. Un suivi régulier a été effectué tout au long de la prise d'everolimus, associant une évaluation de la tolérance clinique par un suivi neuropédiatrique, une surveillance des dosages sanguins d'everolimus, et une évaluation de l'efficacité thérapeutique par EEG de 24h et évaluation neuropsychologique avec les échelles de Tremblay et Nisonger. Une évaluation de la qualité de vie a été menée avec l'échelle USQOLCE.

Résultats : Malgré 5 mois de traitement et des cibles de dosages sanguins d'everolimus atteintes, aucune efficacité clinique n'a été observée, avec une absence de diminution de la fréquence des crises (120 crises/mois et 130 crises/mois respectivement avant et après 5 mois de traitement), une non-modification du tracé EEG en per et post période thérapeutique par rapport aux EEG pré-everolimus, une dégradation du fonctionnement cognitif global (score de Tremblay de 167/407 et de 121/407 respectivement avant et après 5 mois de traitement) et une stabilité de la qualité de vie. Une IRM cérébrale post traitement everolimus a été réalisée, montrant une possible dysplasie corticale frontale qui n'avait pas été retenue lors de l'IRM cérébrale antérieure.

Conclusion : Le traitement par everolimus n'a pas apporté de bénéfice clinique chez cette patiente. La sévérité et l'état avancé de l'épilepsie réfractaire mais aussi la présence d'une possible dysplasie corticale précédemment non diagnostiquée pourraient expliquer cet échec thérapeutique malgré un bon rationnel physiopathologique. D'autres études sont nécessaires avant de tirer des conclusions formelles.

#20483 : Étude clinique et génétique de l'autisme syndromique : à propos de 200 cas

Auteurs :

Héla Sassi (1), Houweyda Jilani (1), Meriem Hamza (2), Syrine Hizem (1), Yasmina Elaribi (1), Imen Rejeb (1), Nesrine Ben Mabrouk (2), Dominique Vidaud (3), Bergmann Carsten (4), Cyrine Drissi (5), Jamel Chelly (6), Ahlem Belhadj (2), Lamia Ben Jemaa (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, Tunis, Tunisie
2. Service de pédopsychiatrie, Hôpital Mongi Slim, Tunis, Tunisie
3. Service de génétique et biologie moléculaire, CHU Paris Centre-Hôpital Cochin, Paris, France
4. Laboratoire de génétique humaine, Institut Bioscientia pour le diagnostic médical, Ingelheim am Rhein, Allemagne
5. Service de Radiologie, Institut de Neurologie, Tunis, Tunisie
6. Laboratoire de diagnostic génétique, CHU de Strasbourg - Hôpital Civil, Strasbourg, France

Mots clefs : autisme, syndrome, cytogénétique, hybridation génomique comparative, biologie moléculaire, séquençage de nouvelle génération

Résumé :**Introduction :**

Les troubles du spectre de l'autisme (TSA) sont un trouble neuro-développemental définis selon la 5^{ème} édition du Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM-5) dans deux dimensions symptomatiques: les déficits persistants de la communication et des interactions sociales; le caractère restreint et répétitif des comportements, des intérêts ou des activités. On distingue « TSA non syndromique » et « TSA syndromique » qui associe des signes morphologiques aidant à l'identification de syndromes génétiques. Ce dernier représente 5% des TSA. A notre connaissance, l'étude des TSA syndromiques n'a pas été réalisée En Tunisie.

L'objectif de ce travail était de décrire le profil clinique et génétique des TSA syndromiques, d'établir leurs différentes étiologies et d'en déduire un arbre décisionnel.

Méthodes :

Nous avons mené une étude descriptive sur des patients suivis pour TSA syndromique au service des Maladies Congénitales et Héréditaires de l'Hôpital Mongi Slim (Janvier 2012 - décembre 2018).

Résultats :

Nous avons colligé 200 patients avec un âge moyen de 5 ans et un sexe ratio de 3,34. Le principal motif de consultation était un TSA associé à une dysmorphie faciale (68%). Les comorbidités étaient réparties ainsi: une déficience intellectuelle (67,8%), une épilepsie (11,5%) et une anomalie cérébrale (10%). L'étude génétique a confirmé le diagnostic chez 19 patients. Le caryotype standard a révélé une délétion terminale du bras long du chromosome 11. L'étude par cytogénétique moléculaire chez 24 patients a trouvé 7 anomalies dont 2 cas de délétion 7q11.23 et 2 cas de délétion 22q11. L'étude moléculaire a conclu à 3 cas de syndrome de l'X fragile, 2 cas de syndrome de Prader Willi, un cas de syndrome de Smith-Lemli-Opitz, un cas de syndrome de Rett, un cas de syndrome de Bardet-Biedl, un cas familial de syndrome de Cohen et un cas de neurofibromatose de type 1. En cas de non disponibilité d'analyse génétique, l'étude clinique a retenu 11 cas répondant à un syndrome particulier.

Conclusion :

Les différentes techniques de génétique nous ont permis de retenir un diagnostic génétique dans 9,5% des cas, caractérisant le spectre génétique des TSA syndromiques. L'identification de ces syndromes a permis une prise en charge adaptée et un conseil génétique adéquat.

#19950 : Diagnostic anténatal au deuxième trimestre d'un syndrome polymalformatif sévère lié à un variant tronquant de TRAPPC12**Auteurs :**

Sara Cabet (1), Mona Massoud (2), Béatrice Nadaud (3), Audrey Labalme (4), Damien Sanlaville (4, 5), Laurent Guibaud (1, 6), Gaetan Lesca (4, 5), Audrey Putoux (4, 5)

1. Service d'Imagerie pédiatrique et fœtale, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. équipe GENDEV, CRNL, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
6. Centre de compétence des malformations vasculaires superficielles, filière FAVA-Multi et Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Mots clefs : retard de croissance intra-utérin, syndrome polymalformatif, TRAPPC12, malformations cérébrales, imagerie anténatale

Résumé :

Le complexe protéique TRAPP, qui joue un rôle central dans le transport vésiculaire intracellulaire, est composé de différentes sous-unités parmi lesquelles TRAPPC12, récemment impliquée en pathologie humaine. C'est en 2017 que Milev et al. ont rapporté pour la première fois trois variants pathogènes de *TRAPPC12* chez des enfants issus de deux familles différentes présentant une encéphalopathie progressive sévère ayant débuté dans l'enfance, avec microcéphalie et spasticité marquée sans malformation associée. Aucune autre description de variant pathogène de *TRAPPC12* n'a été publiée à ce jour.

Nous rapportons un nouveau variant tronquant homozygote de *TRAPPC12* chez un fœtus de 22 SA issu d'une union consanguine présentant un syndrome polymalformatif et décrivons pour la première fois les anomalies anténatales associées. L'échographie réalisée au deuxième trimestre de grossesse a mis en évidence un retard de croissance intra-utérin, un immobilisme fœtal, une hernie diaphragmatique et des malformations cérébrales parmi lesquelles une atrésie de l'aqueduc de Sylvius, une hypoplasie cérébelleuse et une microcéphalie. Ces données ont été confirmées par l'examen foetopathologique qui a révélé un dysmorphie faciale et une hypoplasie extrême des faisceaux pyramidaux expliquant l'immobilisme fœtal. Des anomalies des extrémités ont également été mises en évidence par l'exploration radiographique. Le diagnostic génétique a été fait par séquençage d'exome et a révélé le variant tronquant p.(Phe381Cysfs*64) dans l'exon 3 de *TRAPPC12* à l'état homozygote.

Notre travail élargit donc le spectre phénotypique des variants pathogènes de *TRAPPC12* en décrivant, pour la première fois, les données anténatales de la forme clinique la plus sévère du spectre.

Pièce jointe : Assises de Génétique 2020_TRAPPC12_Lyon.docx

#20137 : Chromoanagenesis, spéciation et évolution

Auteurs :

Franck Pellestor (1), Vincent Gatinois (1)

1. Génétique Chromosomique, CHU Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Chromoanagenesis, chromothripsis, chromoanasyntesis, spéciation, évolution, modèle ponctualiste.

Résumé :

Le domaine de la Cytogénétique tumorale et constitutionnelle a été bouleversé par la mise en évidence de nouveaux types de réarrangement complexe et massif du génome, que sont le chromothripsis, le chromanasyntesis et le chromoplexy.

Ces mécanismes, regroupés sous l'appellation « chromoanagenesis », se caractérisent par la multitude des remaniements qu'ils font subir à la cellule au cours d'un seul événement cellulaire, pour aboutir à la formation d'un ou de plusieurs chromosomes fortement remaniés.

Plusieurs caractéristiques confèrent une signature particulière à chacun de ces phénomènes, permettant de les distinguer des réarrangements chromosomiques complexes « classiques ».

L'existence de tels phénomènes cataclysmiques au sein d'une cellule suscite de nombreuses interrogations quant à leur formation et à leur impact sur le fonctionnement cellulaire. Ces mécanismes témoignent de la complexité insoupçonnée des phénomènes de restructuration chromosomique.

Au delà du contexte physiopathologique, la découverte des phénomènes de chromoanagenesis relance la discussion sur le rôle des remaniements chromosomiques dans les processus de spéciation au cours de l'évolution.

Les mécanismes de formation et de diffusion de ces phénomènes sont en accord avec plusieurs modèles de macro-évolution biologique dans lesquels de longues périodes d'équilibre sont ponctuées par de brèves périodes de changements importants.

Plusieurs exemples touchant diverses espèces de mammifères mais aussi l'Homme, illustrent l'impact des phénomènes de chromoanagenesis sur les processus de spéciation, et la notion de réarrangements évolutifs comme vecteur d'acquisition de nouvelles fonctions. Ainsi, les processus de chromoanagenesis réintroduisent le concept de la co-existence des modèles d'évolution gradualiste et ponctualiste.

Pièce jointe : Résumé Pellestor-Gatinois - Assises Tours 2020.docx

#20590 : Diagnostic génétique des encéphalopathies épileptiques : apport du séquençage à haut débit

Auteurs :

Giulia Barcia (1), Gobin Stéphanie (1), Zahra Assouline (1), Nicole Chemaly (2), mélodie aubart (3), Marlène Rio (1), Marie Hully (3), claire bar (4), Christine Barnerias (2), Nadia Bahi-Buisson (2), Isabelle Desguerre (2), Jean-Paul Bonnefont (1), Julie Steffann (1), Rima Nabbout (2)

1. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
4. Neuropédiatrie, Hopital Necker - enfants Malades, Paris, France, paris, France

Mots clefs : encéphalopathies épileptiques, NGS, panel

Résumé :

Les encéphalopathies épileptiques (EE) constituent un groupe de pathologies cliniquement et génétiquement hétérogènes, où l'activité épileptique contribue à l'atteinte cognitive, sensorielle et motrice. L'identification des bases génétiques et physiopathologiques des EE a significativement évolué lors des dernières années grâce à l'introduction du séquençage à haut débit.

Un panel de séquençage à haut débit ciblé de 151 gènes impliqués dans les épilepsies de l'enfant a été appliqué à 300 patients. L'âge moyen au début des crises était de 9 mois (1 jour-7 ans). Des variants pathogènes ou probablement pathogènes ont été identifiés dans le 36% avec une majorité de variants survenus de novo, la détection de larges délétions ou duplications exoniques chez 10 patients, l'identification de 3 variants en mosaïque (taux de 8-15%).

Avec un rendement global de 36%, le NGS ciblé est une stratégie efficace pour le diagnostic moléculaire des épilepsies de l'enfant. Le rendement diagnostique est plus élevé chez les patients atteints d'encéphalopathies épileptiques néonatales (51%), d'épilepsie avec crises focales migrantes du nourrisson (84%), de syndrome de Dravet (80%). Un phénotypage électroclinique précis est indispensable afin d'orienter l'analyse moléculaire selon la suspicion clinique et pour l'interprétation des résultats.

Chez les patients atteints d'EE, un diagnostic moléculaire peut permettre une orientation du traitement pharmacologique.

Les résultats obtenus dans cette cohorte ont permis la réalisation d'un diagnostic prénatal pour 10 familles.

#20522 : Le syndrome de Wiedemann-Steiner : première observation Marocaine

Auteurs :

Fatimazzahra Bouzid (1, 2), KENZA DAFIR (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 : hypertrichose cubitale- wiedemann-steiner-mutation KMT2A

Résumé :

Le syndrome de Wiedemann-Steiner(OMIM 605130) appelé également hypertrichose cubitale est une maladie génétique rare dont le mode de transmission peut être autosomique dominant ou récessif lié à l'X .

C'est une forme particulière d'hypertrichose congénitale localisée caractérisée par une pilosité excessive au niveau de la face d'extension des coudes associée à une petite taille, une dysmorphie faciale un peu caractéristique , un retard de développement et un déficit intellectuel léger à modéré.

Le phénotype clinique est variable pouvant inclure une hypotonie musculaire, une persistance du canal artériel, de petites mains et de petits pieds, une hypertrichose au niveau du dos, des troubles du comportement et des convulsions.

La confirmation du diagnostic est moléculaire par la mise en évidence d'une mutation du gène *KMT2A*.

Nous rapportons dans ce travail la première observation Marocaine du syndrome de Wiedemann-Steiner colligée au CHU Mohammed Vi de Marrakech.

Il s'agit d'un enfant âgée de 10 ans non consanguine cadette d'une fratrie et qui présente sur le plan clinique un retard des acquisitions psychomotrices, une microcéphalie, un synophris, une microcornée droite , un philtrum court ainsi qu'une hypertrichose très marquée au niveau de la face cubitale des avant-bras.

A travers cette observation, nous soulignons l'intérêt d'évoquer le diagnostic de Wiedemann-Steiner devant l'association d'un retard des acquisitions et d'une hypertrichose cubitale.

Session de génétique clinique

#20068 : Mutations de NOTCH 2 dans le syndrome d'Alagille: profil clinique et biologique.

Auteurs :

Laure Garcin (1), Bruno Francou (2, 3), Delphine Ladarre (1), Alice Thébaud (1), Dalila Habes (1), Joseph Cohen (1), Florence Lacaille (4), Alain Lachaux (5), Alexandre Fabre (6), Didier Samuel (7), Alain Dabadie (8), Marianne Besnard (9), Valérie Canva (10), Jérôme Bouligand (2, 3), Catherine Guettier (11), Anne Guiochon-Mantel (2, 3), Emmanuel Jacquemin (1), Emmanuel Gonzales (1)

1. Hépatologie et transplantation hépatique pédiatriques, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
2. Génétique Pharmacogénétique et Hormonologie, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
3. UMR S 1185 Inserm et Faculté de Médecine Université Paris Sud Paris-Saclay, Inserm, Le Kremlin Bicêtre, France
4. Gastroentérologie-Hépatologie-Nutrition pédiatriques, Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, Paris, France
5. Gastroentérologie, hépatologie et nutrition pédiatriques, Hospices civils de Lyon, Bron, France
6. Pédiatrie multidisciplinaire, APHM - Hôpital de la Timone Enfants, Marseille, France
7. Hepato-Biliary Surgery and Liver Transplant Unit, APHP - Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France
8. Department of Pediatrics, CHU Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
9. Réanimation néonatale et Néonatalogie, Papeete - Centre Hospitalier de Polynésie Française, Papeete, France
10. Maladies de l'appareil digestif et nutrition, CHRU de Lille - Hôpital Claude Huriez, Lille, France
11. Anatomopathologie, APHP - Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France

Mots clefs : hepatologie, JAG1, NGS, Sanger, clinique

Résumé :

Contexte et objectif: Le syndrome d'Alagille (AGS), ou paucité des voies biliaires interlobulaires syndromique, est une maladie multisystémique due à des mutations d'un gène de la voie de signalisation *JAG / NOTCH2*.

Patients et méthodes: Nous avons examiné rétrospectivement tous les patients atteints d'AGS associé à des mutations de *NOTCH2* parmi la cohorte de patients avec AGS diagnostiqués et/ou suivis à l'hôpital de Bicêtre entre 1960 et 2016. Toutes les données cliniques, biologiques, radiologiques et anatomopathologiques ont été recueillies. Les analyses moléculaires comprenaient le séquençage direct de *JAG1* et *NOTCH2*, la recherche de délétion et des études *in silico*.

Résultats: nous avons identifié douze patients atteints d'AGS et présentant une mutation de *NOTCH2*. 11/12 patients avaient une hépatopathie, 9/11 avaient une dysmorphie faciale, 5/12 avaient une cardiopathie congénitale ou une anomalie des gros vaisseaux (hypoplasie de l'artère pulmonaire, sténose de la veine pulmonaire, dysplasie valvulaire pulmonaire ou tétralogie de Fallot), 3/12 avaient des anomalies oculaires et 1/11 des vertèbres en aile de papillon. Une atteinte rénale a été retrouvée dans 5/10 cas. Nous avons identifié 10 nouvelles mutations (frameshift n = 3, épissage n = 2, faux-sens n = 5, y compris une mutation faux-sens, identifiée chez 2 patients indépendants, pouvant également modifier l'épissage). Sur 7 familles étudiées, la mutation était héritée de la mère pour 4 patients et deux patients présentaient une mutation *de novo*. En incluant notre étude qui est la plus importante à ce jour et rapporte 12 cas, des mutations de *NOTCH2* ont été décrites chez 23 patients ayant un AGS. Comparativement aux patients atteints d'AGS avec mutation de *JAG1*, les patients avec mutations de *NOTCH2* présenteraient moins de cardiopathies congénitales, de faciès dysmorphiques et de vertèbres en aile de papillon. Plus important encore, l'atteinte rénale serait plus fréquente chez les patients ayant une mutation de *NOTCH2*. Nous confirmons ainsi la pénétrance incomplète et l'expressivité variable du syndrome d'Alagille dû à des mutations de *NOTCH2*.

Conclusion: le diagnostic moléculaire incluant l'étude de *NOTCH2* chez les patients ne présentant pas de mutation de *JAG1* est utile pour confirmer la suspicion clinique d'AGS et aidera à définir des phénotypes particuliers.

Pièce jointe : 2019_01_29_Notch2_abstract SFP_v3_AGM.doc

#20436 : La néoplasie endocrinienne multiple type 1: à propos de six patients Tunisiens

Auteurs :

Yosra Lajmi (1), Fatma Abdelhedi (1), Kawthar El Arbi (2), Ikhlal Ben Ayed (3), Nourhène Gharbi (3), Malek Bouassida (3), Mohamed Abid (2), Fatma Mnif (2), Hassen Kamoun (3)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Service d'Endocrinologie , Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Néoplasie Endocrinienne Multiple type 1, Tumeurs endocriniennes, gène suppresseur de tumeur MEN1, mutation inactivatrice.

Résumé :

La Néoplasie Endocrinienne Multiple type 1 (NEM1) est un syndrome héréditaire rare, de transmission autosomique dominante. Il est caractérisé par la survenue, chez un même patient ou chez des sujets apparentés d'une même famille, de tumeurs endocriniennes touchant essentiellement les parathyroïdes, le pancréas ou le duodénum et l'hypophyse. Sur le plan génétique, ce syndrome est dû à des mutations inactivatrices du gène suppresseur de tumeur *MEN1*. En Tunisie, peu d'études ont été réalisées sur ce syndrome, d'où l'intérêt de notre travail qui a pour but d'étudier les caractéristiques cliniques et génétiques chez 6 patients Tunisiens atteints de NEM1.

Il s'agit de 3 cas sporadiques et de 3 cas familiaux (2 sœurs et un frère). L'âge moyen à la première consultation était à 39,5 ans avec des extrêmes à 18 et 63 ans. Une prédominance féminine a été notée avec un sexe ration M/F à 0.33. Le motif de consultation était une hyperparathyroïdie primaire dans la majorité des cas. L'exploration a été complétée par une échographie cervicale associée à une scintigraphie parathyroïdienne, un bilan phosphocalcique, un bilan hormonal, une IRM hypophysaire et une échographie abdominale qui ont permis de poser le diagnostic clinique chez tous nos patients. L'étude moléculaire du gène *MEN1* est alors indiquée. Devant l'hétérogénéité génétique de cette pathologie et le nombre très élevé de mutations décrites dans la littérature, nous avons procédé au séquençage de tout le gène *MEN1* chez cinq patients (les 3 cas familiaux et 2 cas non apparentés). Les résultats du séquençage sont en cours.

Bien que le diagnostic de NEM1 puisse être posé sur un faisceau d'arguments cliniques, l'étude moléculaire reste indispensable pour confirmer le diagnostic et donner un conseil génétique adéquat. Le risque de récurrence est élevé, et est de 50% pour la descendance d'un individu atteint. Le diagnostic génétique permet également de planifier une surveillance et une prise en charge précoces chez les cas familiaux asymptomatiques porteurs de la mutation.

Pièce jointe : NEM1 À propos de six cas tunisiens abstract final.docx

#19998 : Maladie de Wilson : à propos d'un cas marocain et revue de littérature

Auteurs :

Fatima Zahra OUTTALEB (1), Ghizlane JABRANE (1), Sara BERRADA (1), Nadia SERBATI (1), Hind DEHBI (2)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Génétique Médicale, Laboratoire de Pathologie cellulaire et Moléculaire, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Université Hassan II, Casablanca, Maroc

Mots clefs : maladie de Wilson, syndrome dystonique, toxicose cuprique, transmission autosomique récessive.

Résumé :

Introduction: La maladie de Wilson est une toxicose cuprique autosomique récessive résultant d'une mutation du gène ATP7B situé sur le chromosome 13. Ce gène code pour une ATPase transporteuse du cuivre, localisée préférentiellement dans le foie, mais aussi dans le cerveau. Cette protéine a deux actions : l'incorporation du cuivre à l'apocéruloplasmine au sein de l'hépatocyte pour former la céruloplasmine qui est excrétée dans la circulation sanguine, et l'élimination physiologique du cuivre dans la bile et les selles. Les patients atteints peuvent présenter des formes hépatiques, neurologiques ou psychiatriques. L'intérêt de cette étude est d'analyser le profil clinique, para-clinique et évolutif de la maladie de Wilson, ainsi que l'intérêt de réaliser un conseil génétique.

Patient et méthodes : Nous rapportons l'observation d'un patient atteint de la maladie de Wilson, et suivi depuis 2016 au niveau du CHU Ibn Rochd de Casablanca.

Résultats : C'est un patient âgé de 17 ans au moment du diagnostic, deuxième d'une fratrie de cinq enfants, ayant comme antécédent une notion de consanguinité au 1^{er} degré, et qui présente un syndrome dystonique généralisé d'installation récente. Le patient a bénéficié d'un bilan étiologique, qui a retrouvé un taux bas de céruloplasmine sanguine à 0,03 g/l, et une cuprurie élevée à 431,8 µg/24h. Le diagnostic de maladie de Wilson a ainsi été retenu, et le patient a été mis sous D-Pénicillamine. Il est actuellement suivi au service de Génétique Médicale, et une étude de la mutation du gène ATP7B est en cours chez ce cas index. Par la suite sera réalisée une enquête familiale pour la recherche des homozygotes pré-symptomatiques, la maladie ne se déclarant généralement qu'à l'adolescence.

Conclusion : La maladie de Wilson est une affection grave, qui doit être évoquée devant toute hépatopathie d'étiologie indéterminée, ou devant tout mouvement anormal ou syndrome extrapyramidal survenant chez un sujet jeune. Le conseil génétique est nécessaire pour distinguer une forme homozygote pré-symptomatique et une forme hétérozygote complètement bénigne, afin de permettre une prise en charge précoce de ces patients.

#20044 : Aspects cliniques et moléculaires de l'arthrose précoce

Auteurs :

Aurélien FABRE (1), Valentin RUAULT (2), Kevin YAUY (3), Chloé ANGELI (4), Geneviève BAUJAT (5), Patricia BLACHET (6), Sylvestre CUINAT (7), Mélanie FRADIN (8), Bertrand ISIDOR (7), Didier LACOMBE (4), Sabine SIGAUDY (9), Isabelle TOUITOU (1), Julien VAN GILS (4), Marjolaine WILLEMS (2), David GENEVIEVE (2), Mouna BARAT-HOUARI (1)

1. LABORATOIRE DE GENETIQUE DES MALADIES RARES ET AUTOINFLAMMATOIRES, CHU DE MONTPELLIER, MONTPELLIER, France
2. Service de génétique médicale, CHU DE MONTPELLIER, MONTPELLIER, France
3. Service de Génétique Médicale et Clinique, CHU DE MONTPELLIER, MONTPELLIER, France
4. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux-GH Pellegrin, BORDEAUX, France
5. Service de Génétique Médicale et Clinique, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
6. Génétique Prénatale et Foetopathologie, CHU DE MONTPELLIER, MONTPELLIER, France
7. Service de génétique médicale, CHU DE NANTES, NANTES, France
8. Génétique clinique, CHU DE RENNES, RENNES, France
9. Unité de génétique clinique prénatale, CHU DE MARSEILLE LA TIMONE, MARSEILLE, France

Mots clefs : arthrose précoce, familiale, non syndromique, COL2A1, prothèse articulaire

Résumé :**Objectifs:**

L'arthrose est la pathologie articulaire la plus fréquente au monde. C'est une pathologie hétérogène qui touche des individus de tout âge. A l'inverse, l'arthrose précoce non syndromique est une affection très rare et principalement familiale. Des critères diagnostiques de l'arthrose précoce ont été définis par Aury-Landas et al. : preuve radiologique d'arthrose, IMC < 30, âge de début < 40 ans, ≥ 1 articulation atteinte et histoire familiale positive. Bien que le mode d'hérédité habituel de l'arthrose soit multifactoriel, les causes monogéniques sont prépondérantes dans l'arthrose précoce. De ce constat, nous avons étudié les causes monogéniques d'arthrose précoce non syndromiques chez les patients français.

Méthode:

Entre 2013 et 2019, les centres de référence et de compétence « MOC » ont adressés les patients diagnostiqués comme ayant une arthrose précoce isolée, en se basant sur des données cliniques et radiologiques. Nous avons effectué un séquençage NGS par panel de gènes afin de mettre en évidence une cause mendélienne de l'arthrose chez ces patients.

-

Résultats :

Nous avons collecté 45 cas index présentant une arthrose précoce, dont l'âge moyen des premières douleurs articulaires est de 19,2 ans (de 3 à 45 ans). Un variant pathogène a été mis en évidence chez près d'un tiers des patients (13/45), parmi lesquels 11 portaient un variant COL2A1, à l'état hétérozygote. Les deux autres patients portaient, pour l'un un variant ACAN, à l'état hétérozygote et, pour l'autre, un variant SLC26A2, à l'état homozygote. Suite aux analyses de ségrégation familiale, nous avons identifié 20 patients supplémentaires. Au total, parmi ces 33 patients porteurs d'au moins un variant pathogène et ayant eu un diagnostic d'arthrose précoce, l'âge moyen de prothèse articulaire est de 41 ans. Une majorité (85%) de ces patients de plus de 40 ans ont déjà eu au moins une chirurgie de prothèse articulaire. La hanche étant l'articulation la plus touchée.

Conclusion :

Le gène COL2A1 est le gène le plus souvent retrouvé dans l'arthrose précoce non syndromique. Cependant d'autres gènes pouvant être impliqués, nous recommandons une analyse moléculaire par panel de gènes, dès lors qu'un diagnostic radiologique est posé. En effet, un diagnostic précoce représente un gain de chance pour le patient en termes de prise en charge et de conseil génétique aux apparentés.

#20256 : Logiciel d'analyse et d'interprétation des contaminations materno-fœtales

Auteurs :

Kévin Merchadou (1), Théo Gauvrit (1), Mirna Marie-Joseph (1), Marie-Pierre Reboul (1), Laetitia Gaston (1), Virginie Raclet (1)

1. Génétique moléculaire, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : bioinformatique, logiciel, contamination materno-foetale

Résumé :

Dans le cadre d'un diagnostic prénatal, une étude de la contamination materno-fœtale et de la bonne identité des ADN doit être systématiquement effectuée sur l'ADN du fœtus et de ses parents (au minimum de la mère). Cette étude aura pour but de contrôler la bonne identité de l'ADN fœtal et l'absence de contamination du prélèvement fœtal par du tissu maternel.

Cette analyse est réalisée au CHU de Bordeaux avec le kit PowerPlex® 16 System (Promega) qui permet d'étudier chez le fœtus la transmission de 15 marqueurs microsatellites hautement polymorphes amplifiés par PCR et de l'amélogénine, un marqueur lié au sexe. Cette analyse repose sur le principe Mendélien que tout individu hérite d'un allèle de chacun de ses deux parents.

Nous vous présentons ici un logiciel open source, compatible Windows, permettant, à partir des résultats d'analyse du logiciel GeneMapper®, d'inférer l'état homozygote ou hétérozygote des marqueurs et de leur appliquer la formule adaptée afin de conclure sur la contamination ou non de l'échantillon. Le pourcentage de contamination est calculé grâce à deux formules issues de l'étude du chimérisme lors de greffes de cellules souches hématopoïétiques en fonction de l'état d'hétérozygotie ou d'homozygotie de chaque marqueur.

Ce logiciel prend en entrée le fichier .txt de l'analyse par GeneMapper® et présente l'ensemble des résultats dans une fenêtre unique. A partir du fichier d'entrée, il détermine, dans un premier temps, la concordance entre les échantillons parentaux et l'échantillon fœtal. S'il y a concordance, le logiciel analyse le profil de chaque marqueur microsatellite et conclut sur son informativité. Pour un marqueur informatif, l'analyse de contamination est alors réalisée. Si une contamination est détectée pour l'un des marqueurs, son pourcentage est calculé en appliquant la formule adéquate. Si le marqueur n'est pas informatif, le logiciel en spécifie la cause. Enfin, le logiciel propose une conclusion quant à la contamination de l'échantillon. Cette conclusion reste cependant modifiable par l'utilisateur. Toute action de l'utilisateur sera alors tracée dans le logiciel et dans un pdf généré par l'application récapitulant l'ensemble des informations de l'analyse et permettant l'importation des résultats dans notre logiciel de gestion de laboratoire.

En résumé, l'utilisation de ce logiciel permet de gagner du temps dans l'analyse et de visualiser sur une seule feuille l'ensemble des résultats : la vérification de la concordance des échantillons, la recherche de la contamination sur les 15 marqueurs ainsi que la conclusion finale de cette analyse. Finalement, il nous aide au quotidien dans notre activité diagnostique au sein du laboratoire.

Pièce jointe : contaminationFoetoMaternelle_VR_MPR.docx

#20525 : Intérêt de l'analyse des fractions alléliques mutées dans les mosaïques cutanées

Auteurs :

Adeline Prost (1), Virginie Carmignac (2, 3), Yannis Duffourd (4), Arthur Sorlin (5), Jehanne Martel (6), Thibaud Jouan (7), Martin Chevarin (8), Paul Kuentz (9, 10), Christophe Philippe (7), Laurence Faivre (11, 12), Pierre Vabres (5, 13)

1. Service de dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France
2. 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
3. centre de reference MAGEC Dijon Mosaïque, service de dermatologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France, Dijon, France
4. INSERM UMR1231 Euipe genetique des anomalies du développement, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
5. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, INSERM 1231, Université de Bourgogne-franche-comté, CHU Dijon, Dijon, France
6. Centre de référence MAGEC Mosaïque, CHU Dijon, Dijon, France
7. 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
8. 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
9. service de Génétique Biologique , CHRU Besançon, Besançon, France
10. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, INSERM UMR1231, Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
11. 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
12. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne et Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
13. centre de reference MAGEC Dijon Mosaïque, service de dermatologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : fraction allélique, génétique humaine, mutations somatiques

Résumé :

Le diagnostic génétique des mosaïques cutanées a bénéficié du séquençage de nouvelle génération qui a permis la détection de faibles taux de mutations dans les gènes des récepteurs tyrosine kinase, protéines G ou protéines des voies RAS-MAPK ou PI3K-MTOR dans des tissus atteints. Toutefois, ces fractions d'allèles variants (FAV) n'ont pas encore été étudiés systématiquement selon le type de lésion cutanée.

L'étude a porté rétrospectivement sur les patients recrutés dans le projet MUSTARD (*Mosaic Undiagnosed Skin Traits And Related Disorders*) ou adressés pour diagnostic génétique, et pour lesquels un séquençage ciblé en profondeur était positif - réalisé selon l'orientation clinique pour les gènes *PIK3CA*, *GNAQ/GNA11*, *MTOR*, *TEK*, *HRAS/KRAS*, ou *NRAS*. Les échantillons analysés provenaient de biopsies cutanées en zone atteinte ou chirurgie d'exérèse. Les FA ont été étudiées en fonction du gène muté et du type de lésion cutanée (vasculaire, pigmentaire, adipeuse, hypertrophique) à l'aide de test de Kruskal-Wallis.

229 échantillons ont été analysés. La distribution des FAV selon le gène muté et le type de lésion cutanée n'était pas répartie aléatoirement. Les FAV moyennes variaient entre 5,7% (*GNAQ/GNA11*) et 33,5% (*NRAS*). Certaines mutations n'étaient associées qu'à un seul type d'anomalie cutanée pour *MTOR* (hypopigmentation), *TEK* (malformation veineuse), *HRAS/KRAS* (naevus épidermique/sébacé), *NRAS* (naevus mélanocytaire congénital), alors que les mutations de *PIK3CA* et *GNAQ/GNA11* étaient associées respectivement à 9 types (vasculaires ou non pour *PIK3CA*) et 4 types (exclusivement vasculaires pour *GNA11/GNAQ*) de lésions. Pour *PIK3CA*, la répartition des FAV selon le type de lésion cutanée était variable. Leur moyenne dans les naevus épidermiques et sébacés, les hamartomes conjonctifs et les lipomes était plus élevée ($p < 0,0001$) que dans les lésions vasculaires. Pour les mutations de *GNAQ/GNA11*, les FAV variaient peu entre les divers types de malformations vasculaires. Au sein des malformations capillaires, les FAV moyennes des mutations *PIK3CA* (10,1%) étaient différentes de celles de *GNAQ/GNA11* (5,9%).

Il s'agit de la première étude comparant la distribution des FAV en fonction du gène et du type d'atteinte cutanée. La connaissance des valeurs usuelles des FAV selon le type de lésion est utile à l'interprétation de la pathogénicité des variants de signification inconnue, en particulier pour *PIK3CA*, *TEK* et *MTOR*, répartis sur l'ensemble de la séquence codante. Pour les autres gènes, les mutations sont limitées à des hot-spots. Ces différences de FAV peuvent refléter des différences physiopathologiques : elles peuvent résulter d'une simple différence de densité en cellules mutées, et aussi témoigner du mécanisme non-autonome au niveau cellulaire de formation des lésions en mosaïque, certaines cellules faiblement représentées, à faible FA (comme les cellules endothéliales/péricytes dans les malformations capillaires), agissant sur les autres cellules environnantes.

#20182 : Part de la génétique dans la toxicité du valproate de sodium : un modèle possible d'interaction gène-environnement, exemple de CACNA1A.

Auteurs :

Bertrand ISIDOR (1, 2), Marie VINCENT (1, 3), Benjamin COGNE (1, 3), Khalid ALFALLAJ (1)

1. Service de génétique médicale, CHU, NANTES, France
2. l'institut du thorax, INSERM, CNRS., UNIV Nantes., 44007 NANTES, France
3. l'institut du thorax, INSERM, CNRS., UNIV Nantes., NANTES, France

Mots clefs : CACNA1A, interaction gène-environnement, valproate de sodium.

Résumé :

INTRODUCTION : La prise de valproate de sodium pendant la grossesse est connue pour ses effets tératogènes et développementaux, notamment cognitifs et comportementaux chez l'homme et chez l'animal. Indépendamment, de nombreux gènes responsables d'épilepsie sont transmis selon le mode autosomique dominant et peuvent également être responsables de troubles neuro-développementaux avec une grande variabilité d'expression, même intrafamiliale. L'hypothèse d'un facteur environnemental associé susceptible de modifier l'expressivité est souvent évoquée, mais rarement établie.

METHODES : Nous rapportons l'observation d'une famille, dont la mère est atteinte d'épilepsie traitée par valproate de sodium. Elle a eu cinq grossesses, dont trois ont été interrompues pour spina bifida et malformations de membres. Elle a par ailleurs eu deux enfants, une fille en bonne santé et un garçon qui présente des difficultés importantes d'apprentissage, une épilepsie et un retard de langage attribués à la toxicité du valproate de sodium *in utero*. Lors de ces deux grossesses, cette femme était traitée avec la même dose de valproate de sodium (1250 mg par jour). Une analyse de l'exome a été réalisée chez le garçon à la recherche d'une autre explication à ses difficultés.

RESULTATS : L'exome a permis l'identification du variant (NM_023035.2) c.4042C > T p. (Leu1348Phe) à l'état hétérozygote dans le gène *CACNA1A* chez le cas index. Ce variant est absent de la base de données gnomAD, prédit délétère (score phred CADD v1.4 : 24) et situé sur un hot spot mutationnel. L'étude de ségrégation familiale a retrouvé ce variant chez la mère épileptique, tandis qu'il n'a pas été identifié chez la sœur asymptomatique. En l'absence d'étude fonctionnelle, ce variant est considéré pour le moment comme de signification inconnue.

CONCLUSION : Cette observation témoigne de l'importance des explorations génétiques pour les familles concernées par une toxicité suspectée du valproate de sodium, notamment lorsqu'une variabilité d'expression est constatée dans une fratrie. L'interprétation des variants est délicate dans ce contexte et nécessite de prendre en compte ceux potentiellement hérités de la mère atteinte d'épilepsie. Un potentiel effet additif de la cause génétique et de l'exposition *in utero* au valproate de sodium, dans un modèle d'interaction gène-environnement, reste à explorer.

Pièce jointe : to submet CACNA1A.doc

#19754 : Patient Ressource en oncogénétique : à propos d'une expérience

Auteurs :

Caroline KIENTZ (1), Manon CARROT BECLE (2), Fabienne PRIEUR (1), Marine LEBRUN (1), Marie MUDARD (3), Isabelle LAYES (3), Renaud TOURAINE (1)

1. GENETIQUE, CHU NORD SAINT ETIENNE, SAINT ETIENNE, France

2. GENETIQUE, HOPITAL NORD, SAINT ETIENNE, France

3. GENETIQUE, HOPITAL NORD, ST ETIENNE, France

Mots clefs : Patient ressource, BRCA1, BRCA2, oncogénétique, groupe de parole, sein, ovaire

Résumé :

Le Plan cancer 2014/2019 a initié une expérimentation qui vise à mesurer le rôle des anciens patients auprès des nouveaux entrants dans la maladie. Certains anciens patients ayant pris suffisamment de recul sur leur histoire ont fait le choix de devenir, à titre bénévole, « Patient Ressource » (PR). Ils partagent leur expérience de la pathologie et des soins liés à celle-ci dans différentes spécialités afin de permettre aux nouveaux patients de mieux comprendre et vivre avec leur maladie et ses conséquences.

En oncogénétique, dans le cadre d'une prédisposition génétique au cancer du sein et de l'ovaire, à notre connaissance, il n'existait aucun PR. Il en existe bien en oncologie mais la problématique est différente : il n'y a pas de décision de chirurgie prophylactique à prendre, et les patientes prédisposées au cancer du sein et de l'ovaire n'ont pas toutes été atteintes d'un cancer.

Notre expérience de plusieurs années de groupe de parole pour patientes porteuses d'une anomalie BRCA1/BRCA2 nous a permis d'identifier une problématique à part entière : la prise de décision concernant la mastectomie prophylactique. Le groupe de parole est idéal pour des patientes qui souhaitent partager leur expérience en groupe mais n'est pas adapté à celles qui ont besoin d'échanger dans un cadre plus restreint.

Une patiente, fidèle au groupe de parole, s'est portée volontaire pour être PR : porteuse d'une anomalie BRCA2 elle avait déjà l'expérience d'un cancer du sein, de la mastectomie prophylactique et de l'annexectomie. Très positive, elle avait pris une certaine distance avec son histoire personnelle. Avec l'aide et le soutien de La Ligue Contre le Cancer (comité Loire 42) nous avons expérimenté en 2019 le projet « Patient Ressource Oncogénétique ». La patiente a effectué une formation spécifique « Patient Ressource » et nous avons par ailleurs pris le soin de nous assurer de sa bonne compréhension de l'oncogénétique.

Notre PR a rencontré plusieurs patientes en entretiens individuels à raison d'une fois par mois, dans le respect du secret médical. Un débriefing était effectué avec elle par un membre de notre équipe avant et après chaque entretien. Un soutien psychologique a été mis à sa disposition.

Les patientes ayant sollicité notre PR ont été très satisfaites de l'entretien qui leur a permis de cheminer dans leur décision de chirurgie. Le fait d'obtenir des détails sur le vécu d'une autre patiente a contribué à diminuer l'anxiété de celles qui ont opté pour la mastectomie prophylactique. De notre point de vue cette étroite collaboration nous a permis d'appréhender un peu plus les besoins de nos patientes et d'admettre qu'en tant que professionnels nous avons aussi nos limites. Cette approche complémentaire, très positive, devrait être envisagée sur du long terme comme un outil d'aide à la décision concernant les chirurgies. Ce projet pilote permet de mettre en lumière des éléments nécessaires à la réussite de cette aide aux patients.

Pièce jointe : Document intention POSTER PATIENT RESSOURCE assises génétique 2020.doc

#20221 : Une « association de malfaiteurs » dans le globule rouge dévoilée par le séquençage haut-débit.

Auteurs :

Lamisse MANSOUR-HENDILI (1), Sihem TARFI (2), Bouchra BADAOU (3), Abdelrazak AISSAT (1), Christine GAMEIRO (4), Stéphane MOUTEREAU (5), Emmanuelle FAUBERT (4), Caroline MAKOWSKI (6), Claire BARRO (7), Frédéric GARBAN (6), Gonzalo DE LUNA (8), Véronique PICARD (9), Frédéric GALACTEROS (10), Benoît FUNALOT (1)

1. Département de génétique, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France
2. Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Henri Mondor - APHP, CRETEIL, France
3. Laboratoire d'hématologie, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France
4. Laboratoire de génétique, Hôpital Henri Mondor - APHP, CRETEIL, France
5. Laboratoire de Biochimie, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France
6. Service d'Hématologie, CHU de Grenoble, GRENOBLE, France
7. Laboratoire d'Hématologie, CHU de Grenoble, GRENOBLE, France
8. Unité des maladies génétiques du globule rouge, Hôpital Henri Mondor - APHP, CRETEIL, France
9. Laboratoire d'hématologie, APHP BICETRE, LE KREMLIN BICETRE, France
10. Centre de référence des syndromes drépanocytaires majeurs, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France

Mots clefs : association, variants, SHD, NGS, érythrocyte

Résumé :

Introduction : L'association du trait S à l'ovalocytose du sud-est asiatique (OSEA) a déjà été décrite dans la littérature mais reste rare. Nous rapportons ici l'association inédite d'un trait S, d'une Ovalocytose du sud-est-asiatique, d'une elliptocytose et d'une stomatocytose héréditaire déshydratée (DHSt) dans une famille originaire des Comores et dont le diagnostic a pu être posé grâce au séquençage haut débit (SHD).

Matériel et Méthodes : L'ADN a été extrait sur sang total par technique Flexigene (Qiagen). Le cas index, P36, a été exploré en SHD et ses apparentés, P36-1 et P36-2 en séquençage Sanger ciblé. Le SHD a été réalisé avec les kits KAPA et le kit Medexome (Roche Nimblegen) sur Nextseq500 (Illumina). L'analyse bioinformatique utilise un *pipeline* maison BWA/GATK *best practices* et le logiciel Seqnext (JSI). L'interprétation se fait via IVA (Ingenuity variant analyzer, Qiagen) et le logiciel Alamut (Interactive Biosoftware). Des tests phénotypiques du Globule rouge (GR) ont également été réalisés : test EMA, éktacytométrie, frottis, mesure d'activités des enzymes du GR, étude de l'hémoglobine, courbe de densité...

Résultats : P36 est une femme d'origine comorienne hétérozygote A/S ayant présenté un infarctus splénique lors d'un vol long-courrier. Elle est atteinte d'une anémie hémolytique normocytaire normochrome régénérative avec des anomalies morphologiques des GR discordantes avec le trait S. Le SHD a permis de montrer la coexistence chez cette patiente d'une OSEA, d'une stomatocytose héréditaire déshydratée (DHSt), d'une elliptocytose, d'un trait drépanocytaire et d'un variant *G6PD* type Matera A- à l'état hétérozygote. Cette association de variations est inédite. Sa fille, P36-1, présente le même génotype excepté le variant *G6PD* absent chez elle. Elle a une anémie hémolytique normocytaire, normochrome régénérative asymptomatique. L'éktacytométrie et le test EMA réalisés chez elle ont conclu à une OSEA. L'examen du frottis sanguin a montré des globules rouges ovo-stomatocytaires atypiques. Un autre apparenté, P36-2, souffrant d'une anémie hémolytique normochrome normocytaire, d'une rétinopathie et splénectomisé dans l'enfance porte aussi toutes les variations familiales à l'état hétérozygote excepté le variant *G6PD*.

Conclusions : L'analyse génétique a permis de montrer l'association de différentes maladies génétiques du globule rouge chez les membres de cette famille. Cette association rend délicate l'interprétation des tests phénotypiques. Elle a fait manquer le diagnostic de DHSt dans l'enfance chez un membre de la famille, qui a été splénectomisé (alors que la DHSt contre-indique la splénectomie du fait de la survenue possible de complications thrombotiques majeures). Une telle association n'a jamais été identifiée et son effet précis sur la membrane du GR ne peut être prédit.

#20171 : Spectre clinique et génotypique du syndrome de Lamb-Shaffer (SOX5)

Auteurs :

Christel Depienne (1), Boris Keren (2), Perrine Charles (2), Isabelle Marey (2), Anne-Claude Tabet (3), Jonathan Lévy (3), Laurence Perrin (4), Cyril Mignot (2), Andreas Hartmann (5), Caroline Schluth-Bolard (6), Gaetan Lesca (6), Caroline Nava (2), Pauline Monin (6), Sophie Dupuis-Girod (6), Alice Poisson (7), Salima El Chehadeh (8), Yves Alembik (9), Ange-Line Bruel (10), Daphné Lehalle (11), Sophie Nambot (12), Sébastien Moutton (12), Sylvie Odent (13), Sylvie Jaillard (14), Christèle Dubourg (15), Ashley Sigafoos (16), Patrick Blackburn (17), Abdul Haseeb (18), Kirsty McWalter (19), Shoji Ichikawa (20), Maria J Guillen Sacoto (21), Rhonda E Schnur (21), Zehua Zhu (21), Yvonne Hillhorst (22), Lucia Ortega (23), Elizabeth J Bhoj (24), Diane Masser-Frye (25), Kristin Lindstrom (26), Keri M Ramsey (27), Vinodh Narayanan (27), Emily Fassi (28), Marcia Willing (28), Trevor Cole (29), Claire G Salter (30), Rhoda Akilapa (31), Anthony Vandersteen (32), Natalie Canham (31), Patrick Rump (33), Erica H Gerkes (33), Jolien S Klein Wassink-Ruiter (33), Emilia Bijlsma (33), Mariëtte JV Hoffer (22), Marcelo Vargas (34), Florian Cherek (35), Christine Francannet (35), Jill A Rosenfeld (36), Keren Machol (37), Darryl A Scott (36), Gary D Clark (38), Carlos A Bacino (36), Xia Wang (36), Marta Bertoli (39), Simon Zwolinski (39), Rhys H Thomas (40), Ela Akay (40), Rebekah Bressi (41), Rossana Sanchez Russo (42), Myriam Srouf (43), Laura Russell (44), Anne-Marie E Goyette (45), Lucie Dupuis (46), Roberto Mendoza-Londono (46), Catherine Karimov (47), Maries Joseph (48), Mathilde Nizon (49), Benjamin Cogné (50), Alma Kuechler (51), Amélie Piton (52), Eric W Klee (17), Véronique Lefebvre (18)

1. Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen, Essen, Allemagne
2. Département de génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Service de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Centre National de Référence du Syndrome Gilles de la Tourette, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
7. GénoPsy, Reference Center for Diagnosis and Management of Genetic Psychiatric Disorders, Centre Hospitalier le Vinatier, Lyon, France
8. Service de Génétique, CHU de Haute-pierre, Strasbourg, France
9. Département de Génétique Médicale, CHU de Haute-pierre, Strasbourg, France
10. INSERM 1231 LNC, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
11. Service de Génétique, Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
12. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares «Anomalies du Développement de l'Interrégion Est», Hôpital d'Enfants, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
13. Service de génétique clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
14. UMR S 1085, Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, Irset, Rennes, France
15. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU de Rennes, Rennes, France
16. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Mayo Clinic, Rochester, Etats-Unis
17. Center for Individualized Medicine, Department of Health Science Research, and Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic, Rochester, Etats-Unis
18. Department of Surgery, Division of Orthopaedic Surgery, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
19. GeneDx, GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
20. Department of Clinical Diagnostic s, Ambry Genetics, Aliso Viejo, Etats-Unis
21. GeneDx, GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
22. Department of Clinical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-Bas
23. Cook Childrens Medical Center, Cook Childrens Medical Center, Fort Worth, Etats-Unis
24. Department of Clinical Genetics, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
25. Division of Genetics and Dysmorphology, Rady Children's Hospital San Diego, San Diego, Etats-Unis
26. Division of Genetics and Metabolism, Phoenix Children's Hospital, Phoenix, Etats-Unis
27. Translational Genomics Research Institute, Center for Rare Childhood Disorders, Phoenix, Etats-Unis
28. Division of Genetics and Genomic Medicine, Department of Pediatrics, Washington University School of Medicine, St. Louis, Etats-Unis
29. West Midlands Regional Genetics Service and Birmingham Health Partners, Birmingham Women's and Children's NHS Foundation Trust, Birmingham, Royaume Uni
30. RILD Wellcome Wolfson Centre, Royal Devon and Exeter NHS Foundation Trust, Exeter, Royaume Uni
31. North West Thames Regional Genetics Service, Northwick Park Hospital, London, Royaume Uni
32. IWK Health Centre, Dalhousie University, Halifax, Canada
33. Department of Genetics, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, Pays-Bas
34. Gillette Children's Specialty Healthcare, Gillette Children's Specialty Healthcare, St. Paul, Etats-Unis
35. Service de génétique clinique, Centre de Référence Maladies Rares «Anomalies du Développement et syndromes malformatifs du Sud-Est», CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
36. Department of Molecular & Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
37. Department of Molecular Physiology and Biophysics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
38. Pediatrics-Neurology, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
39. Northern Genetics Service, Newcastle upon Tyne NHS Foundation Trust, Newcastle upon Tyne, Royaume Uni
40. Department of Neurology, Royal Victoria Infirmary, Newcastle upon Tyne Hospitals NHS Foundation Trust, Newcastle upon Tyne, Royaume Uni
41. Division of Metabolic Disorders, Children's Hospital of Orange County, Orange, Etats-Unis
42. Department of Human Genetics, Emory University, Atlanta, Etats-Unis
43. Division of Pediatric Neurology, Department of Pediatrics, Montreal Children's Hospital, McGill University Health Center, Montreal, Canada
44. Division of Medical Genetics, Department of Specialized Medicine, McGill University, Montreal, Canada
45. Child Development Program, Department of Pediatrics, Montreal Children's Hospital, McGill University Health Center, Montreal, Canada
46. Division of Clinical and Metabolic Genetics, The Hospital for Sick Children and University of Toronto, Toronto, Canada
47. Children's hospital of Los Angeles, Children's hospital of Los Angeles, Los Angeles, Etats-Unis
48. Medical Genetics and Metabolism, Valley Children's Hospital, Madera, Etats-Unis
49. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, Etats-Unis

50. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France

51. Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen, Essen, Allemagne

52. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : déficience intellectuelle

Résumé :

Purpose

Lamb-Shaffer syndrome (LAMSHF) is a neurodevelopmental disorder described in just over two dozen patients with heterozygous genetic alterations involving *SOX5*, a gene encoding a transcription factor regulating cell fate and differentiation in neurogenesis and other discrete developmental processes. The genetic alterations described so far are mainly microdeletions. The present study was aimed at increasing our understanding of LAMSHF, its clinical and genetic spectrum, and the pathophysiological mechanisms involved.

Methods

Clinical and genetic data were collected through GeneMatcher and clinical or genetic networks for 41 novel patients harboring various types of *SOX5* alterations. Functional consequences of selected substitutions were investigated.

Results

Microdeletions and truncating variants occurred throughout *SOX5*. In contrast, most missense variants clustered in the pivotal SOX-specific high-mobility-group domain. The latter variants prevented *SOX5* from binding DNA and promoting transactivation in vitro, whereas missense variants located outside the high-mobility-group domain did not. Clinical manifestations and severity varied among patients. No clear genotype-phenotype correlations were found, except that missense variants outside the high-mobility-group domain were generally better tolerated.

Conclusions

This study extends the clinical and genetic spectrum associated with LAMSHF and consolidates evidence that *SOX5* haploinsufficiency leads to variable degrees of intellectual disability, language delay, and other clinical features.

#20354 : Le variant c.2477G>A de GRIA3 est associé à un phénotype reconnaissable comprenant une dysarthrie, un réflexe de sursaut exagéré et des mouvements choréo-myocloniques.

Auteurs :

Juliette PIARD (1), Hongjie Yuan (2), Daniel Amsellem (3), Mathieu Anheim (4), Matthieu Bereau (5), Lauren Buisson (3), Jameleddine Chelly (6), Nana Liu (2), Scott James Myers (2), Martine Raynaud (7), Philippe Richard (5), Stephen Traynelis (2), Lionel Van Maldergem (1), Thomas Wirth (8), Wenshu XiangWei (2), Yuchen Xu (2)

1. centre de génétique humaine, CHU, Besançon, France
2. Department of Pharmacology and Chemical Biology, Emory University School of Medicine, Atlanta, Etats-Unis
3. Service de pédiatrie, CHU, Besançon, France
4. Service de Neurologie, CHU, Starsbourg, France
5. Service de Neurologie, CHU, Besançon, France
6. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France
7. Service de Génétique, CHU, Tours, France
8. Service de Neurologie, CHU, Strasbourg, France

Mots clefs : GRIA3, hyperekplexie, chorée, myoclonies, récepteurs à AMPA

Résumé :

Les mutations hémizygotiques de *GRIA3*, qui code la sous-unité GluA3 du récepteur à AMPA, ont été rapportées chez des sujets de sexe masculin présentant divers troubles neuro-développementaux incluant une déficience intellectuelle (DI), des troubles du spectre autistique, des troubles du sommeil, une épilepsie et une hypotonie.

Nous avons évalué une grande famille caucasienne dans laquelle ségrège, selon un mode de transmission lié à l’X, un nouveau phénotype chez quatre apparentés de sexe masculin. Le tableau clinique est sensiblement identique chez chacun des patients atteints. Il comprend au premier plan un trouble du langage oral avec dysarthrie et une combinaison de mouvements anormaux incluant un réflexe de sursaut exagéré, des myoclonies et des mouvements choréiques généralisés.

Les analyses moléculaires réalisées (séquençage en panel et séquençage d’exome) ont identifié la variation faux-sens non décrite c.2477G>A; p.(Gly826Asp) de *GRIA3* chez les 4 sujets atteints et leurs mères asymptomatiques. Cette variation altère le quatrième domaine transmembranaire de la protéine. Les analyses fonctionnelles ont montré une diminution du courant de réponse induit par différents agonistes et une diminution de l’expression des récepteurs à la surface cellulaire dans les cellules mutantes en faveur d’un effet pathogène de la variation par un mécanisme perte de fonction.

Au total, nous décrivons une nouvelle mutation de *GRIA3*, associée à une combinaison spécifique de mouvements anormaux. Nous suggérons que les variations de *GRIA3* doivent être considérées dans le diagnostic différentiel de l’hyperekplexie et des syndromes choréo-myocloniques, notamment chez les patients présentant une DI et une dysarthrie. D’autres observations seront nécessaires pour déterminer si ce phénotype singulier observé dans notre famille correspond bien à une atteinte spécifique du 4^{ème} domaine transmembranaire de *GRIA3*.

Pièce jointe : résumé GRIA3 Assises.docx

#20245 : Détection de l'instabilité microsatellitaire par machine learning sur des données issue de NGS

Auteurs :

Charles Van Goethem (1), Frédéric Escudié (2), David Grand (2), Anna Vigier (2), Julie Vendrell (1), Pierre Brousset (2), Solène Evrard (2), Janick Salves (2), Jérôme Solassol (1)

1. Département de Pathologie et Oncobiologie, Laboratoire de biologie des tumeurs solides, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. Département de Pathologie, Institut Universitaire du Cancer Toulouse Oncopole, CHU Toulouse, Toulouse, France

Mots clefs : Bioinformatique, microsatellite, NGS, machine learning, cancérologie

Résumé :

L'instabilité microsatellitaire (MSI) est un marqueur moléculaire d'une déficience du système de réparation de l'ADN (MMR) et est utilisé à des fins diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques dans les cancers colorectaux et de l'endomètre.

Actuellement, la méthode de référence d'analyse des MSI effectuée dans les laboratoires est basée sur la distribution de la taille des fragments par PCR-multiplex à partir d'un échantillon tumoral.

En parallèle, le séquençage haut-débit (NGS) par amplicons est devenu une technique largement implantée pour la recherche de mutations ponctuelles somatiques.

Pour que cette technique, simple, précise et évolutive, puisse être utilisée pour la détection des MSI nous avons développé un outil basé sur le machine learning : MIAmS (Microsatellite Instability detection on NGS Amplicons Sequencing).

Ce dernier répond en tous points aux besoins spécifiques du processus de diagnostic :

- analyses par deux méthodes distinctes;
- interface conviviale pour l'analyse des résultats;
- gestion des logs;
- récupération des erreurs.

Etant basé sur du machine learning MIAmS se divise en deux workflow:

- apprentissage : création d'un modèle de distribution de tailles correspondant au statut stable et instable pour chaque locus;
- annotation : prédiction du statut à partir de deux méthodes de classification.

La première méthode utilise mSINGS qui se base sur la comparaison avec l'écart maximal par rapport à un modèle normal de distribution des pics.

La deuxième, fusionne les paires de lectures afin d'éliminer les fragments pouvant contenir des erreurs de type Indels lors du séquençage. Ensuite, elle classe les distributions de tailles de chaque locus selon les modèles stables et instables. Le classifieur utilisé par défaut est SVM (Support Vector Machine), sélectionné parmi 5 autres classifieurs de la librairie scikit-learn.

Afin d'évaluer les performances et la robustesse de la méthode, une cohorte de 143 échantillons, séquencés sur 6 loci contenant des microsatellites, a été élaborée par les laboratoires de Toulouse et de Montpellier.

Cette dernière a été divisée 50 fois de façon aléatoire en suivant la règle suivante :

- 60% des échantillons ont servi pour la création du modèle;
- 40% des échantillons ont servi pour la validation du modèle.

En utilisant la combinaison des deux classifieurs le taux d'erreurs est de 0% en moyenne (2 outliers sont compris entre 0 et 2%).

MIAmS semble donc être un outil performant pour prédire le statut MSI des échantillons tumoraux à partir de données issues de NGS. De plus, ses principales caractéristiques permettent une utilisation en routine dans le processus de diagnostic.

Pièce jointe : abstract_CVG_assises2020.docx

#20382 : Syndrome de Noonan récurrent à expressivité variable après la découverte d'une anasarque fœtale

Auteurs :

AMAURY BOLEIS (1), Georges HADDAD (2), Xavier FAVRE (3), Sophie BLESSON (4), Franck PERROTIN (1)

1. Service d'obstétrique et de médecine fœtale, CHU TOURS, TOURS, France
2. Maternité-Génétique, Centre hospitalier Simone Veil , Blois, France
3. CFEF, MOSAÏQUE SANTE , LA CHAUSSEE SAINT VICTOR, France
4. GENETIQUE MEDICALE, CHU TOURS, TOURS, France

Mots clefs : Anasarque, Noonan, récurrence familiale, Dysmorphie faciale, PTPN1, expressivité variable,

Résumé :

Observation

Patiente de 43 ans, G6P3, adressée à 32SA et 3 jours pour un tableau d'anasarque. Le principal antécédent du conjoint est la pose d'un drain thoracique à la naissance pour un chylothorax bilatéral.

Description des images

L'échographie diagnostique réalisée retrouve; une anasarque fœtale avec un œdème sous cutané majeur (Figure 1: reconstruction volumique avec triplan et rendu surfacique), un hydrothorax (figure 3: mode TUI) sans signe d'insuffisance cardiaque , une lame d'ascite (figure 2) ainsi qu'une hydrocèle (figure 4). Par ailleurs la vélocimétrie de l'ACM était normale (Figure 5). Sur le figure 6 on peut observer une corrélation anté et post natale de la dysmorphie auriculaire.

Prise en charge

Devant ce tableau échographique, une consultation de génétique est proposée. L'enquête familiale met en évidence une dysmorphie faciale chez le père ainsi que chez la fille aînée du couple (qui est également suivie pour une cardiopathie congénitale à type de sténose valvulaire pulmonaire. Une RASopathie (syndromes de Noonan, CFC et apparentés) de transmission autosomique dominante et à expressivité intrafamiliale variable est suspectée. Un prélèvement de LA est réalisé : Etude du caryotype fœtal normale; mise en route d'une étude moléculaire. Accouchement spontané, le nouveau-né décèdera à quelques heures de vie.

Conclusion

Confirmation post-natale d'une mutation hétérozygote liée au gène PTPN 11 compatible avec le diagnostic de syndrome de Noonan hérité du père.

Pièce jointe : Fig 1-6.pdf

#20241 : Aneuploïdies rares en diagnostic prénatal : A propos d'un cas de trisomie 2 en mosaïque

Auteurs :

Hela Bellil (1), Denise Molina Gomes (2), Thibaud Quibel (3), Sophie Roy (3), Marie Delcroix (2), François Vialard (2), Bérénice Hervé (2)

1. Fédération de Génétique, Chi de Poissy, Paris, France
2. Fédération de Génétique, Chi de Poissy, Poissy, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Chi de Poissy, Poissy, France

Mots clefs : Trisomie 2 en mosaïque, diagnostic prénatal, pseudomosaïcisme, amniocentèse

Résumé :

La trisomie 2 homogène est une anomalie chromosomique non viable responsable de 1 à 6% des fausses couches spontanées au premier trimestre et de 1,1% de tous les avortements spontanés. En mosaïque, elle est l'une des trisomies les plus fréquemment impliquées dans le pseudomosaïcisme avec une prévalence au niveau des prélèvements de villosités chorales estimée à 1 sur 2000. Sa mise en évidence au niveau du liquide amniotique est un phénomène très rare, dont la fréquence est estimée à 1/1.000.000. Le tableau clinique associe un retard de croissance intra-utérin, une microcéphalie, une hypoplasie hémifaciale, une dysmorphie faciale ainsi qu'une atteinte cardiaque, neurologique et pulmonaire. Jusqu'à présent, 20 cas ont été rapportés dans la littérature. Nous rapportons ici un nouveau cas de trisomie 2 en mosaïque mise en évidence sur une ponction de liquide amniotique chez une femme de 40 ans primigeste et sans antécédent particulier.

Au cours du 1^{er} trimestre de la grossesse, l'évaluation du risque global de la trisomie 21 a montré un risque élevé à 1/10. Une biopsie de trophoblastes a été réalisée à 13SA. L'analyse cytogénétique a montré un caryotype féminin déséquilibré avec présence d'une trisomie 2 à l'examen direct (73%) et à la culture (100%). Une mosaïque confinée au placenta a donc été fortement suspectée. Une échographie faite à 15SA a montré un retard de croissance intra-utérin avec une longueur fémorale à -4 Z-Score. Une amniocentèse pratiquée à 16 SA a confirmé la trisomie 2 en mosaïque avec un pourcentage estimé entre 20 et 30%. Au terme de ces résultats et après une consultation de conseil génétique, une interruption médicale de la grossesse était réalisée.

La trisomie 2 en mosaïque détectée au niveau du liquide amniotique est une aneuploïdie très rare. A travers cette observation, nous insistons sur l'importance de confirmer tout éventuel pseudomosaïcisme par la réalisation d'un caryotype fœtal.

#20063 : Identification par séquençage du génome entier d'une inversion de 140 Kb dans le locus GNAS impliquant NPELP1 et l'exon 1 du gène XLas dans une famille présentant une pseudohypoparathyroïdie de type 1b autosomique dominante (AD-PHP1b)

Auteurs :

Andreea Apetrei (1), Arnaud Molin (2), Cindy Colson (1), Hervé Mitre (1), Matthieu Decamp (1), Nadia Coudray (1), Marie-Laure Kottler (1), Nicolas Gruchy (1), Nicolas Richard (1)

1. Département de Génétique, Centre de Référence pour le Métabolisme Phosphocalcique, EA7450 BioTARGen, Université de Caen Normandie, CHU de Caen Normandie, CAEN, France

2. Département de Génétique, Centre de Référence pour le Métabolisme Phosphocalcique, EA7450 BioTARGen, Université de Caen Normandie, CHU de Caen Normandie, Caen, France

Mots clefs : Inversion,GNAS,WGS

Résumé :

Le locus *GNAS* code pour la sous-unité alpha de la protéine G stimulatrice (G_{α}) et des transcrits supplémentaires soumis à l’empreinte. La pseudohypoparathyroïdie de type 1b (PHP1b) est caractérisée par une résistance rénale à la PTH (et parfois une résistance modérée à la TSH), qui survient généralement en l'absence d'autres caractéristiques de l'ostéodystrophie héréditaire d'Albright. La PHP1b est causée par des modifications épigénétiques au niveau d'une ou plusieurs régions différenciellement méthylées (DMR) dans le locus *GNAS*. La cause génétique la plus fréquente de PHP1b autosomique dominante (AD-PHP1b) est la délétion du gène *STX16* sur l'allèle maternel, qui conduit à une perte isolée de la méthylation (LOM) du DMR A/B. D'autres mécanismes moléculaires plus rares sont décrits, en particulier des anomalies du nombre de copies (délétion/duplication) englobant un ou plusieurs DMR (NEPS55, NESPAS, *XLas*).

Nous avons étudié une famille avec deux membres atteints, le cas index et sa sœur, présentant un phénotype typique de PHP1b. Un séquençage Sanger et une analyse par MS-MLPA du locus *GNAS* ont été réalisés pour les deux enfants et leurs parents. Un séquençage du génome entier (WGS) a été réalisée pour le cas index: la préparation de la librairie a utilisé le kit NEBNext, le séquençage a été effectué sur une plateforme Illumina, les séquences ont été alignées au génome humain de référence GRCh38 et les données ont été traitées en utilisant le pipeline GATK. L'inversion a été confirmée par une analyse Sanger et par une analyse PCR de l'ADN génomique en utilisant des amorces conçues pour amplifier spécifiquement les deux points de cassure.

Le séquençage Sanger ne retrouvait pas de mutation dans le gène *GNAS*. L'analyse par MS-MLPA n'a pas été mis en évidence d'anomalies du nombre de copies dans le locus *GNAS* mais a révélé chez le cas index et sa sœur une LOM complète au DMR A/B, une LOM partielle au DMR *XLas* (25%) et une méthylation normale sur les autres DMRs AS et NESP. La méthylation était normale pour les parents. Le WGS a révélé une inversion paracentrique de 140 kb avec comme points de cassure en 5' : chr20: 58714222 (intron *NPELP1*) et en 3' chr20: 58854618 (exon 1 *XLas*). Ces points de cassure ont été confirmés par analyse Sanger pour les deux patients. Des amplicons ont été obtenus pour le cas index, sa sœur et sa mère, alors qu'aucun produit de PCR n'a été généré pour l'ADN du père.

Nous avons détecté dans une famille avec AD-PHP1b un nouveau réarrangement par WGS: une inversion en 20q13.3 qui inclut la région située entre *NPELP1* et *XLas*. À notre connaissance, une seule inversion a été décrite dans AD-PHP1b, qui comprenait l'intégralité du DMR A/B et du gène *GNAS*. Ces résultats font suspecter la présence d'un nouveau centre d'empreinte dans la région inversée. Des études complémentaires sont nécessaires pour vérifier cette hypothèse.

#19794 : COBLAnCE : la fin des inclusions et le suivi des patients

Auteurs :

Karine Groussard (1), Yves Allory (2), Julia Bonastre (3), Thierry Lebreton (4), François Radvanyi (5), Simone Benhamou (6)

1. Equipe Oncostat, INSERM U1018, Villejuif, France
2. service de pathologie, Institut Curie, Paris, France
3. Service biostatistique et épidémiologie, Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Service Urologie, Hôpital Foch, Suresnes, France
5. CNRS UMR144, Institut Curie, Paris, France
6. UMR946, INSERM, 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 récurrences, 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 récurrence ou de progression de la maladie.

COBLAnCE (COhorte for BLadder canCER) est une cohorte prospective de 1805 patients 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 à partir 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) qui ont clôturé leurs inclusions fin juin 2018 et qui assurent désormais le suivi des patients. Les patients constituant la cohorte sont majoritairement des hommes (83%), l'âge moyen au diagnostic est de 68 ans (SD : 11ans) et 63% des patients présentaient à l'inclusion une tumeur n'envahissant pas le muscle vésical. Chez ces patients, 23% ont jusqu'à présent développé au moins une récurrence et/ou progression de la maladie. Chez les patients atteints d'une tumeur invasive, 25% ont présenté une progression de la maladie. La biobanque qui a été constituée au moment de l'inclusion comporte l'ensemble des échantillons de sang, et des échantillons de tumeur et d'urine pour plus de 85% des patients. Les extractions moléculaires réalisées sur les échantillons ont conduit à l'obtention d'ADN et ARN pour respectivement plus de 90% et 70% des prélèvements. L'ensemble des dérivés moléculaires issus de ces échantillons biologiques sont de très bonne qualité et leur quantité permet d'envisager des analyses moléculaires mettant en œuvre les nouvelles technologies. La collecte de tumeurs lors des récurrences se poursuit et vient enrichir la collection de dérivés moléculaires établie à l'inclusion.

Ainsi 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

#19850 : Étude neuropsychologique chez 18 patients français atteints du syndrome de White-Sutton et porteurs de mutations dans le gène POGZ.**Auteurs :**

Aurore Garde (1, 2), Jenny Cornaton (1), Arthur Sorlin (1, 3), Sébastien Moutton (1, 2), Claire Nicolas (1), Christine Juif (1), David Geneviève (4), Laurence Perrin (5), Philippe Khau Van Kien (6), Thomas Smol (7), Catherine Vincent-Delorme (8), Bertrand Isidor (9), Benjamin Cogné (10), Alexandra Afenjar (11), Boris Keren (12), Christine Coubes (4), Fabienne Prieur (13), Annick Toutain (14), Yann Trouselet (4), Amandine Gonzalez (15), Charles Bouis (16), Solène Bourgouin (17), Stéphanie Lottiaux (18), Coralie Gonin-Olympiade (10), Kim Giraudat (19), Amélie Piton (20), Bénédicte Gerard (20), Sylvie Odent (21), Fanny Tessier (21), Solveig Heide (22), Anne-Claire Gelineau (22), Catherine Sarret (23), Ania Miret (23), Elise Shaefer (24), Ange-Line Bruel (2), Frederic Tran Mau-Them (2), Antonio Vitobello (2), Christophe Philippe (2), Christel Thauvin-Robinet (1, 2), Laurence Faivre (1, 3)

1. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, FHU TRANSLAD, CHU de Dijon, Dijon, France
2. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, CHU de Dijon, Dijon, France
4. Département de Génétique Médicale, Maladies rares et Médecine Personnalisée, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
5. AP-HP, Department of Genetics, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
7. Service de génétique clinique Guy Fontaine, CHRU de Lille-Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
8. Service de génétique clinique Guy Fontaine, CHU de Lille, Lille, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
10. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
11. APHP, Département de Génétique Médicale, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
12. APHP, Département de Génétique, Centre de Référence Déficience Intellectuelle de Causes Rares, GRC UPMC «Déficience Intellectuelle et Autisme», Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
13. Service de génétique médicale, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France
14. Service de Génétique Clinique, CHRU de Tours, Tours, France
15. Département de Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
16. , Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
17. Cabinet de Neuropsychologie, Pôle Médical de la Fontaine, Nîmes, France
18. , Institut médico éducatif (IME) Saint Hilaire, Saint Hilaire sur Helpe, France
19. APHP, Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
20. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
21. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
22. AP-HP, Département de Génétique, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris, France
23. Service de génétique médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
24. Service de génétique médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : POGZ, déficience intellectuelle

Résumé :

Introduction : Le syndrome de White-Sutton est une maladie neurodéveloppementale rare caractérisée par un retard de développement, une déficience intellectuelle (DI) et des troubles du comportement, secondaire à des variations pathogéniques du gène *POGZ*. Suite à l'expérience personnelle de 3 patients porteurs de variation pathogène du gène *POGZ* ne présentant que des troubles d'apprentissage avec exclusion de DI par les tests psychométriques, nous avons proposé de collecter des tests psychométriques réalisés dans la cohorte française *POGZ*. Le but de cette étude est de décrire le phénotype neurocognitif chez les patients porteurs de variations pathogènes du gène *POGZ*.

Patients et Méthodes : Basée sur une collaboration nationale à travers le réseau AnDDI-Rares, cette étude inclut 18 patients de 17 familles (âge médian de 11,8 ans au moment du recrutement) avec des variations pathogènes du gène *POGZ*. Les données cliniques, moléculaires et les tests neuropsychologiques ont été collectés dans les dossiers médicaux par les médecins référents.

Résultats : Dans notre cohorte, nous avons observé 16 variations du gène *POGZ*, incluant 7 indel, 4 non-sens, 2 variants d'épissage et 3 faux-sens. Tous les cas rapportés sont sporadiques à l'exception d'une famille qui suit une transmission autosomique dominante. Sur le plan clinique, nous pouvons retenir un retard de développement prédominant sur le langage (16/18), des anomalies à l'IRM cérébrale (5/18), des manifestations gastro-intestinales (7/18), une tendance au surpoids (10/18) et des troubles du comportement (13/18) incluant de l'anxiété chez 10 patients, des stéréotypies chez 6 patients, un comportement inapproprié chez 8 patients et un retrait social chez 6 patients. Parmi les 18 patients, 14 d'entre eux présentent une déficience intellectuelle : 7 avec DI légère, 4 avec DI modérée et 3 avec DI sévère. Les 4 patients restants ont des difficultés d'apprentissage et partagent un profil neurocognitif similaire, incluant un syndrome dysexécutif, des troubles d'attention, une lenteur et des difficultés dans la reconnaissance des affects. Des caractéristiques comportementales similaires ont été retrouvées chez tous les patients testés.

Conclusion : Cette étude révèle que le phénotype cognitif des patients porteurs de variations pathogènes du gène *POGZ* s'étend de difficultés d'apprentissage avec exclusion de DI à une déficience intellectuelle sévère. Des mêmes gènes peuvent être impliqués dans un large spectre de profils neurocognitifs, il faut donc se méfier avant d'éliminer une variation et prendre en compte la variabilité clinique inter-familiale et intra-familiale. Il pourrait également se discuter de l'apport des techniques de séquençage haut débit telles que l'exome pour les enfants présentant des difficultés d'apprentissage.

#20070 : Caractérisation moléculaire des pathologies neuromusculaires chez la population marocaine

Auteurs :

hanane sayel (1), Meriame Abassi (2), mohamed ahakoud (1), Oussama Kettani (2), BADERDDINE EL MAKHZEN (3), said trhanint (1), ihssane elotmani (1), sanae chaouki (4, 5), karim ouldim (1, 5), laila bouguenouch (1, 6)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, fes, Maroc
2. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, CHU-Fes, fes, Maroc
3. génétique médicale et d'oncogénétique, Centre hospitalier universitaire HASSAN II, fès, Maroc
4. service de pediatrie, CHU Hassan II, fes, Maroc
5. faculté de medecine et pharmacie, université my abdellah.fes, fes, Maroc
6. faculté de medecine et pharmacie , université my abdellah.fes, fes, Maroc

Mots clefs : pathologies neuromusculaires, DMD, LGMD2C, SMN, PCR - multiplexe, PCR - séquençage, PCR - RFLP

Résumé :

Les maladies neuromusculaires héréditaires regroupent une gamme de maladies manifestant par un dysfonctionnement musculaire, lié soit à une atteinte des fibres musculaires elles-mêmes, soit indirectement en raison d'une atteinte du motoneurone ou de la jonction neuromusculaire. Plusieurs formes existent, mais trois d'entre-elles sont les plus fréquemment retrouvées au Maroc :

- la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) : caractérisée par une dégénérescence musculaire, liée à des anomalies dans le gène DMD, localisé dans le chromosome X,
- la gamma-sarcoglycanopathie (LGMD2C) : caractérisée par une dégénérescence musculaire, liée à des anomalies dans le gène SGCG, localisé dans le chromosome 13,
- l'amyotrophie spinale infantile (ASI) : caractérisée par une dégénérescence des motoneurones α de la corne antérieure de la moelle épinière, liée à des anomalies dans le gène *SMN*, localisé dans le chromosome 5.

Ce travail représente une étude rétrospective, portée sur 52 cas marocains, diagnostiqués pour l'un de ces 3 types d'affections. Nous avons ainsi analysé pour chaque type, les aspects épidémiologiques, paracliniques et génétiques, ainsi de mettre en évidence des anomalies génétiques prises dans les gènes DMD, SGCG et SMN, en utilisant une approche de 3 techniques différentes de PCR ; PCR - multiplexe, PCR - séquençage et PCR - RFLP, respectivement. Il s'est révélé positif uniquement chez 19 cas (37 %) :

- 4 cas (33%) de DMD ont montré une délétion d'au moins un des exons du gène DMD, situés dans les régions mutationnelles chaudes, que nous avons ciblé,
- 7 cas de LGMD2C (50%), avaient la mutation « c.525delT » dans l'exon 6 du gène SGCG, dont 3 (22%) à l'état homozygote et 4 (28%) à l'état hétérozygote,
- et 8 cas d'ASI (30%), présentaient une délétion homozygote de l'exon 7 du gène SMN1.

En dehors de l'intérêt de la confirmation du diagnostic clinique chez le patient index, l'identification de la mutation permet de délivrer un conseil génétique adapté dans la famille, et une intégration potentielle du patient dans une meilleure prise en charge basée sur le diagnostic ainsi confirmé.

Pièce jointe : Caractérisation moléculaire des pathologies neuromusculaires chez la population marocaine.docx

#20328 : Utilisation de la technique minigène pour l'étude de variations d'épissage chez des patients atteints d'anomalies du développement**Auteurs :**

Anna Lokchine (1), Cyrille Berra (1), Jérôme Le Douce (2), Paul Rollier (3), Régis Bouvet (1), Florence Demurger (4), Mélanie Fradin (3), Sylvie Odent (3, 2), Laurent Pasquier (3), Véronique David (1, 2), Lénia Detivaud (1), Christèle Dubourg (1, 2)

1. Service de Génétique moléculaire et génomique, CHU Rennes, Rennes, France
2. CNRS UMR 6290 IGDR, Université Rennes 1, Rennes, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Rennes, Rennes, France
4. Service de Génétique Médicale, CHBA Vannes, Vannes, France

Mots clefs : minigène, épissage, anomalies du développement, exome médical, tests fonctionnels

Résumé :

Les anomalies du développement (AD) (dysmorphie, déficience intellectuelle, malformations) représentent un large groupe de pathologies pour lesquelles la diversité génétique et clinique est très importante. Malgré leur rareté individuelle, elles constituent un problème majeur de santé publique et sont observées chez 2 à 4% des naissances. A ce jour, plus de 4000 maladies ont été décrites. L'avènement des techniques de séquençage haut débit (SHD) a permis d'augmenter le rendement diagnostique chez ces patients. Bien qu'étant un outil très puissant, le séquençage haut débit pose la question de l'interprétation des variations identifiées. En effet malgré l'amélioration constante des pipelines bio-informatiques et des outils de prédiction *in-silico*, un certain nombre de variations sont définies comme variants de signification indéterminée (VSI). Pour établir l'éventuelle pathogénicité de ces VSI, la réalisation de tests fonctionnels est indispensable. Certains de ces VSI touchent potentiellement des sites d'épissage. La technique minigène permet d'objectiver *in vitro* l'impact de l'épissage de ces variants afin de prouver leur implication en physiopathologie. Ce travail a donc consisté à étudier par cette technique 8 variations potentiels d'épissage dans les gènes *SOX5*, *EFTUD2*, *EHMT1*, *THOC2*, *HUWE1*, *BBS9* et *ARID1B* identifiés chez 9 patients atteints d'anomalies du développement.

Matériel et méthode : Après interprétation des résultats d'exome médical, 9 variations prédites *in-silico* pour altérer l'épissage ont été sélectionnées pour être testées en minigène. La technique minigène consiste en l'insertion de la région d'intérêt porteuse de la variation (exon + parties introniques) dans une construction plasmidique contenant un gène artificiel. L'expression de cette construction au sein de cellules eucaryotes permet de déterminer l'impact du variant étudié sur l'épissage par analyse des ARN messagers. Le vecteur utilisé est un vecteur pCAS2 (fourni par Alexandra Martins, CHU Rouen)

Résultat : Sur les 8 variations étudiées par minigène, 7 ont montré une altération de l'épissage lors de l'étude des transcrits chimériques obtenus. Diverses anomalies ont été retrouvées : rétention intronique, saut d'exon, délétion de nucléotides de l'exon, apparition d'un codon stop. Trois sur huit variations étaient à l'origine de plusieurs transcrits anormaux.

Discussion : La technique minigène permet donc d'apporter des arguments supplémentaires pour impliquer des variations d'épissages comme étant responsables d'anomalies du développement. Face à la découverte massive de toutes ces nouvelles variations, l'utilisation en routine de tests fonctionnels de type minigène est devenue indispensable pour la classification des VSI.

#20141 : Nouveaux Variants du gène *TMEM67* identifiés chez une famille Vietnamiennne atteinte du Syndrome de Joubert : l'étude d'un cas**Auteurs :**

Minh-Tuan HUYNH (1), Thi Phuong Hoa Bui (1), Ngoc Tu Nguyen (2), Van Doan Ngo (3), Thi Thanh Ha Ly (1), Huy Duong Do (1), Thanh Liem Nguyen (4), Thuy Anh Le (1)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital international de Vinmec, Ha Noi, Viêt Nam
2. Département de Médecine Foetale, Hôpital international de Vinmec, Ha Noi, Viêt Nam
3. Département d'Imagerie Médicale, Hôpital international de Vinmec, Ha Noi, Viêt Nam
4. Institute de Recherche des Cellules Souches et de la Technologie, Hôpital international de Vinmec, Ha Noi, Viêt Nam

Mots clefs : Nouveau variant d'épissage *TMEM67*, syndrome de Joubert, spectre phénotypique *TMEM67*, séquençage d'exome

Résumé :**Nouveaux Variants du gène *TMEM67* identifiés chez une famille Vietnamiennne atteinte du Syndrome de Joubert : l'étude d'un cas**

Le syndrome de Joubert est une ciliopathie génétiquement hétérogène se caractérisant par une hypoplasie/agénésie du vermis cérébelleux (signe de la dent molaire), une hypotonie globale, un retard du développement, une ataxie associée à des mouvements oculaires anormaux et à des troubles du rythme respiratoire. A ce jour, 33 gènes sont connus responsables de syndrome de Joubert de transmission autosomique récessive. Des variations de séquence pathogènes du gène *TMEM67* sont associées à un spectre clinique très variable incluant le syndrome de Joubert avec atteinte hépatique, le syndrome de COACH, la polykystose rénale, la ciliopathie associée à la néphronophthisis et le syndrome de RHYNS. Nous présentons ici les deux premiers cas d'une famille Vietnamiennne non-consanguine, un fœtus et un enfant âgé de dix ans (cas probant) adressés pour un tableau clinique évoquant le syndrome de Joubert associant des images caractéristiques en IRM (dente molaire), une hypotonie néonatale, un retard psychomoteur sévère, une dysmorphie faciale, une ataxie, des troubles du rythme respiratoire et une apraxie oculomotrice. L'échographie anténatale à 26+6 SA a montré le signe de la dent molaire chez le fœtus. Par ailleurs, le diagnostic de paralysie cérébrale est posé chez le probant depuis l'âge de deux ans et aucun diagnostic moléculaire n'a pas été réalisé. Le séquençage d'exome a permis d'identifier deux variants c.725A > G p.Asn242Ser et c.313-3T > G p.Leu105Valfs*16 du gène *TMEM67* à l'état hétérozygote composite chez le probant et le fœtus, chaque variant est hérité d'un parent. Le nouveau variant d'épissage c.313-3T > G p.Leu105Valfs*16 cause une perte de quatre nucléotides de l'exon 03 entraînant un décalage du cadre de lecture qui aboutit à l'apparition d'un codon stop prématuré. En résumé, nous rapportons la première famille atteinte du syndrome de Joubert du Viet Nam et surlignons également l'importance des approches moléculaires afin de démêler les mécanismes sous-jacents impliqués dans des maladies génétiques humaines. Un diagnostic précoce pourrait contribuer à établir un conseil génétique précis avec l'évaluation du risque de récurrence, proposer également des options diagnostiques pour les futures grossesses aussi bien que la prise en charge thérapeutique.

Mots-clés : Nouveau variant d'épissage *TMEM67*, syndrome de Joubert, spectre phénotypique *TMEM67*, séquençage d'exome.

Pièce jointe : Joubert syndrome Vinmec.docx

#20280 : Lena, une solution de compression efficace et sans perte d'information pour stocker et transférer les fichiers FASTQ et BAM

Auteurs :

Guillaume Rizk (1), jennifer Del giudice (1)

1. Bioinformatique, Enancio, Cesson-Sévigné, France

Mots clefs : Compression, stockage, transfert, FASTQ, BAM

Résumé :

Avec l'objectif d'une médecine personnalisée, l'usage des séquenceurs ADN nouvelle génération s'est fortement intensifié ces dernières années. Les laboratoires sont passés du séquençage d'un panel réduit de gènes au séquençage de l'exome humain voire au séquençage du génome entier. Avec une évolution des volumes identique à celle des 5 dernières années, les publications scientifiques parlent de volumes pouvant atteindre 2 milliards de génomes humains à stocker d'ici 2025 au niveau mondial, soit 100 fois la quantité de données stockée actuellement par YouTube. Avec de tels volumes, les transferts et le stockage de ces données deviennent un frein à une médecine personnalisée pour tous.

A travers Lena, un logiciel de compression spécialisé dans la donnée génomique, Enancio présente une solution efficace aux problèmes de transfert de fichiers volumineux et aux problèmes de stockage.

Lena compresse à la fois les fichiers au format FASTQ et au format BAM tout en conservant l'intégrité de la donnée. En comparaison avec les logiciels de compression académiques et commerciaux, Lena est le seul logiciel combinant à la fois un taux de compression élevé, une grande vitesse de compression et décompression et un faible besoin en ressources informatiques. Versus le logiciel de compression le plus utilisé : Gzip, Lena permet : une compression jusqu'à 5 à 6 fois supérieure, une compression 3 fois plus rapide et une décompression 5 fois plus rapide. De plus les fichiers compressés peuvent directement être utilisés par les outils bioinformatiques en aval avec une décompression à la volée.

Lena compresse les 3 champs du format FASTQ : le nom des séquences, les séquences nucléotidiques et les scores de qualité. Pour la compression des séquences nucléotidiques, la compression se fait à partir d'un génome de référence. Un algorithme ultra-rapide d'alignement a été développé pour mettre en évidence les similarités et les différences avec le génome de référence. Lena encode les motifs semblables par leur position. Les différences sont encodées par une méthodologie *ad-hoc*.

Les bénéfices de Lena sont multiples pour les utilisateurs :

-il permet de transférer des fichiers FASTQZ jusqu'à 5 fois plus rapidement. Ainsi le téléversement vers une infrastructure cloud et le téléchargement de fichiers sont facilités. Pour se faire Lena exploite ses capacités à compresser et décompresser en streaming. Dès que les premières données sont compressées, celles-ci peuvent être transférées. A réception, elles peuvent être décompressées en FASTQZ si besoin, toujours en streaming.

-une diminution significative des coûts de stockage que ce soit pour un stockage cloud ou un stockage en local. Tout en incluant le coût de la licence ces économies peuvent aller jusqu'à 75 %.

-un impact positif sur l'environnement : en divisant par 5 le besoin en infrastructure de stockage, Lena réduit d'autant les besoins d'énergie pour refroidir les serveurs dédiés au stockage.

Pièce jointe : Soumission abstract assises génétiques 2020.docx

#20132 : Syndrome dystonie-surdité associé au variant p.Arg183Trp du gène ACTB : observation d'un nouveau cas et revue de la littérature**Auteurs :**

Silvestre Cuinat (1), Tiphaine Rouaud (2), Thomas Besnard (3), Benjamin Cogné (3), Philippe Bordure (4), Florent Espitalier (4), Martin Broly (1), Alain Verloes (5), Stéphane Bézieau (1), Vincent Procaccio (6), Sandra Mercier (3)

1. Génétique médicale, CHU Hôtel Dieu Nantes, NANTES, France
2. Neurologie, CHU Laennec Nantes, Nantes, France
3. Génétique médicale, CHU Hôtel Dieu Nantes, Nantes, France
4. ORL, CHU Hôtel Dieu Nantes, NANTES, France
5. Génétique médicale, APHP, Paris, France
6. Génétique médicale, CHU Angers, Angers, France

Mots clefs : dystonia, deafness, ACTB, beta-actin, Baraitser-Winter syndrome, cerebellar malformation

Résumé :

Les variations dans le gène *ACTB* sont généralement responsables du syndrome de Baraitser-Winter (BWS) caractérisé principalement par une déficience intellectuelle, une dysmorphie reconnaissable (hypertélorisme, ptosis, sourcils arqués, colobome, saillie de la métopique voire trigonocéphalie, pointe nasale large, macrostomie, parfois fente labiopalatine...) et des anomalies cérébrales (pachygyrie voire lissencéphalie, anomalies du corps calleux). Le variant faux-sens p.Arg183Trp, à l'état hétérozygote dans *ACTB*, est responsable d'un autre syndrome, distinct du BWS: le syndrome dystonie-surdité. Ce syndrome a été décrit chez 6 patients à ce jour et associe une surdité de perception sévère à profonde, congénitale ou infantile, ainsi qu'une dystonie de survenue plus tardive (entre 12 et 19 ans chez les précédents cas décrits). D'autres symptômes sont rapportés comme une fente labiopalatine, une cataracte, une achalasie, ou des anomalies osseuses. Nous rapportons le cas d'un nouveau patient, âgé de 31 ans, porteur du variant c.547C > T (p.Arg183Trp), de survenue *de novo*. Le patient présente une dysmorphie faciale (notamment un hypertélorisme), une surdité de perception congénitale profonde diagnostiquée à 18 mois, un retard psychomoteur (marche à 24 mois, premières phrases à 5 ans), des troubles psychiatriques apparus à l'âge de 22 ans, ainsi qu'une dystonie focale du membre supérieur gauche ayant débuté à l'âge de 30 ans secondairement généralisée, avec atteinte crânio-cervicale. L'IRM cérébrale met en évidence une hypoplasie du corps calleux, ainsi qu'une agénésie de la partie inférieure du vermis cérébelleux sur un cervelet hypotrophique, anomalie non décrite jusqu'alors dans ce syndrome. En conclusion, le syndrome dystonie-surdité est un syndrome très rare, cliniquement reconnaissable et lié à un variant faux-sens récurrent dans le gène *ACTB*. Nous élargissons ici le spectre phénotypique par la description d'anomalies cérébelleuses. Sur le plan physiopathologique, cette variation dans le gène *ACTB* altère la dynamique de l'actine et pourrait causer un dysfonctionnement mitochondrial et une augmentation du stress oxydatif comme cela a été montré dans la levure. Des études fonctionnelles sur fibroblastes sont en cours afin de rechercher ces anomalies chez le patient et d'envisager des pistes thérapeutiques.

Pièce jointe : final Abstract ACTB Assise_VF.docx

#20339 : Le RENOME : Un panel de séquençage ciblé pour les maladies rénales en diagnostic moléculaire

Auteurs :

CAROLE TOURNANT (1), VINCENT MORINIERE (2), Quentin MIGNAC (3), Corinne ANTIGNAC (4), Laurence HEIDET (5), Sylvain HANEIN (6)

1. Génétique moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. Génétique moléculaire, Centre de référence des Maladie Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA) , Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
3. Centre de référence des Maladie Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA), Inserm UMR-1163 , Hôpital Necker-Enfants Malades, Institut Imagine, PARIS, France
4. Service de génétique, Inserm UMR-1163, Hôpital Necker-Enfants Malades, Institut Imagine, Université de Paris, PARIS, France
5. Centre de référence des Maladie Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA), Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
6. Inserm UMR-1163, Institut Imagine, 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), néphropathies tubulo-interstitielles chroniques (NTIC), ainsi que celles dues à des anomalies du développement (AD) des reins et des voies urinaires (Congenital Abnormalities of the Kidney and Urinary Tract _CAKUT), ou des maladies rénales 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). Début 2017, nous avons décidé de créer un panel unique, appelé RENOME contenant plus de 220 gènes publiés et confirmés pour leur implication dans une pathologie rénale. Il a été découpé en 5 sous-panels: AD et NTIC (CAKUT_85 gènes), Glomérulopathies (FSGS_65 gènes), Syndrome d'Alport (ALP_3 gènes), Dysgénésie Tubulaire Rénale (DYS_4 gènes), Ciliopathies (CIL_97 gènes). Parmi ces sous-panels, 17 gènes sont communs à plusieurs pathologies.

Les deux premières versions étaient basées sur la technologie de capture Agilent SureSelect avec une couverture de 1.117Mb. Les ADN étaient fragmentés via un Covaris, indexés avec le kit UltraLow DNA (NuGEN). 40 patients (2x20) étaient séquencés sur un NextSeq500 en paired-end (2x150pb) avec un kit Highoutput. 99.8% des régions ciblées étaient couvertes > 30X, avec une profondeur moyenne de 500 reads.

Depuis Janvier 2019 nous utilisons une version 3 utilisant la technologie TWIST, consistant en une fragmentation enzymatique et une capture de 48 patients (6x8), avec une couverture de 99,9% > 30X et une profondeur moyenne de 1200 reads.

Au total, 993 cas index ont été testés. En fonction des informations cliniques, les patients ont été analysés sur le sous-panel correspondant soit 369 CAKUT, 289 FSGS, 204 ALP, 107 CIL, 9 DYS, et 15 sur le RENOME.

A ce jour, des mutations ont été identifiées chez 363 patients soit 36,6% du total, avec la répartition suivante: 117 ALP (Rendement : 57.4%), 96 FSGS (33.2%), 81 CAKUT (22%), 56 CIL (52.3%), 8 RENOME (53.3%) et 5 DYS (55.6%).

Une analyse élargie à un second sous panel pour certains patients négatifs a montré que 7 patients adressés pour un syndrome d'Alport sont porteurs de mutations dans un gène du sous panel FSGS, et que 23 patients avec une protéinurie glomérulaire sont mutés dans un gène du panel ALP.

Pour les autres sous-panels, 13 patients sont porteurs de mutations dans des gènes non orientés initialement.

L'utilisation d'un panel unique a permis de raccourcir le délai de rendu (2-3 mois) grâce à un protocole unique 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 (11,8%).

Pièce jointe : Assises-Carole-Renome-final.docx

#20348 : Vingt ans de consultations de génétique clinique sur site pour les personnes atteintes de troubles du spectre autistique de la région parisienne**Auteurs :**

Arnold MUNNICH (1), Anne-Sophie ALAIX (1), Lisa FRUGERE (1)

1. Génétique Clinique, Hôpital Necker, Paris, France

Mots clefs : troubles du spectre autistique, panel de gènes, séquençage de nouvelle génération, conseil génétique, diagnostics génétiques

Résumé :

Caroline Demilly, Lisa Frugère, Charlyne Duwime, Valérie Malan, Giulia Barcia, Céline Vidal, Emeline Throo, Claude Besmond, Laurence Hubert, Gilles Roland-Manuel, Jean-Pierre Malen, Mélanie Ferreri, Sylvain Hanein, Nathaie Boddaert, Moïse Assouline, Arnold Munnich

Malgré les avancées des techniques et de la recherche en génétique, un grand nombre de patients atteints de troubles du spectre autistique (TSA) avec déficience intellectuelle (DI) n'ont pas accès de manière systématique aux explorations disponibles. Depuis 1998, pour améliorer leur accès aux soins, une équipe mobile de génétique médicale propose aux patients et à leurs familles des consultations dans les hôpitaux de jour et les institutions spécialisées de la région parisienne. Cette unité mobile de génétique opère sous l'égide de l'hôpital universitaire Necker Enfants-Malades, qui leur donne accès aux services de biochimie, de cytogénétique, de biologie moléculaire et de séquençage de nouvelle génération (NGS). En vingt ans, 502 patients appartenant à 26 institutions ont bénéficié de ces consultations et d'un accès aux plateformes de génétique moléculaire. Moins de 1 % des parents ont décliné la proposition. Des affections génétiques ont été identifiées chez 71 patients présentant un TSA avec DI : anomalies cytogénétiques causales (34/388 : 8,8 % ; de novo : 19, héritées : 4), X Fragile (4/312 : 1,3 %) et mutations monogéniques reconnues responsables de TSA (33/141 ; 23,4 % : de novo : 23 ; héritées : 10, dont 5 liées à l'X et 5 récessives autosomiques). L'IRM cérébrale a été possible chez 347 patients et considérée comme anormale chez 42 % d'entre eux (146/347). Tous les patients diagnostiqués présentaient un TSA atypique ou syndromique, avec déficience intellectuelle modérée à sévère. Eu égard aux contraintes imposées par les troubles du comportement dans les TSA, les consultations sur site constituent, pour les patients et leurs apparentés, un moyen d'améliorer l'accès aux soins et de réduire le risque de méconnaissance d'une pathologie organique génétique à présentation psychiatrique.

#20373 : Étude de la sensibilité d'outils de détection de variants de structure en mosaïque sur des données de séquençage de génomes entiers

Auteurs :

Maxime Lepetit (1), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (1), Véronique Paquis-Flucklinger (2), Damien Sanlaville (3, 4), Caroline Schluth-Bolard (3, 4), Claire Bardel (5, 6)

1. Plateforme de séquençage NGS du CHU de Lyon - Cellule Bioinformatique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Université Côte d'Azur, Inserm U1081, CNRS UMR7284, IRCAN, CHU de Nice, Nice, France
3. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Institut Neuromyogène, Equipe Métabolisme énergétique et développement neuronal, CNRS UMR 5310, INSERM U1217, Université de Lyon, Lyon, France
5. Plateforme de séquençage NGS du CHU de Lyon - Cellule Bioinformatique et Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, CNRS UMR 5558, Université Lyon 1, Université de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : Variants de structure, Mosaïque, Whole Genome Sequencing, Bioinformatique

Résumé :

Le mosaïcisme est un phénomène biologique correspondant au fait qu'un individu peut être constitué de plusieurs populations cellulaires génétiquement distinctes, du fait de mutations se produisant dans les premiers stades du développement embryonnaire. Des variations de structure (SV) équilibrées (inversions, translocations) ou non (insertions, délétions, duplications) en mosaïques ont été rapportées comme étant impliquées dans des anomalies du développement. Le séquençage de génomes complets (WGS) est un outil efficace permettant la détection des SV. Durant les dernières années, un très grand nombre d'algorithmes ont été développés pour la détection des SV, mais leur efficacité n'a pas été testée pour la détection de SV en mosaïques.

L'objectif de notre travail a été d'étudier la sensibilité de détection d'un remaniement de structure en mosaïque à l'aide de 2 outils de détection de variations structurales : Breakdancer et Lumpy. Pour cela, nous disposons des données d'un patient porteur d'une translocation réciproque entre les chromosomes X et 18, dont le taux de mosaïcisme estimé par le caryotype était d'environ 50 %. Son génome a été séquençé sur un NextSeq500, à une profondeur moyenne de 20x. Le taux de mosaïque calculé sur les données de NGS était d'environ 20 %. Nous nous sommes intéressés à l'influence de 2 paramètres sur la détection des mosaïques :

- La profondeur de séquençage, étudiée en réalisant des séries de 100 réplicats de sous-échantillonnages aléatoires de 15 % à 75 % des lectures dans la région
- Le taux de mosaïcisme, étudié en réalisant des dilutions « *in silico* », c'est à dire en diminuant le pourcentage de lectures porteuses de l'événement (essentiellement les paires de lectures discordantes) parmi l'ensemble des lectures dans la région

Chacun de ces paramètres a été étudié séparément, l'autre restant fixe.

Notre étude a montré que des profondeurs de séquençage de respectivement 13x (pour Lumpy) et 18x (pour Breakdancer) étaient nécessaires pour détecter l'événement non dilué. Par ailleurs, nous avons déterminé que Breakdancer permettait de détecter une mosaïque lorsque le taux de mosaïcisme était supérieur ou égal à 11 % alors que Lumpy permettait de descendre jusqu'à un taux de mosaïcisme de 7 %.

En conclusion, notre étude a montré que les logiciels de détection de SV permettent la détection de variants en mosaïque. Lumpy, qui utilise une stratégie basée sur la modélisation probabiliste de différents signaux (issus de paires discordantes, de *split reads* ou de sources externes) semble permettre de détecter des mosaïques à des taux et des profondeurs de séquençage plus faibles que Breakdancer dont la stratégie est uniquement basée sur l'étude des paires discordantes. Des études complémentaires sur d'autres échantillons seront nécessaires afin de mieux comprendre les différences entre les taux de mosaïcisme estimés par caryotype et par NGS et ainsi confirmer les limites de détection des SV en mosaïque par NGS.

Pièce jointe : Mosaïques-SV.doc

#20115 : Délétion 12p13.33p13.32 responsable de troubles neurodéveloppementaux mineurs ?

Auteurs :

Emilie FAVRE (1), Alice POISSON (1), Elodie PEYROUX (1), Damien SANLAVILLE (2), Marianne TILL (2), Gaëtan LESCA (2), Caroline DEMILY (3, 4)

1. Centre de Référence GénoPsy, CH Le Vinatier, Bron, France
2. service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. GénoPsy, CH Le Vinatier, Bron, France
4. EDR-Psy UMR 5229 CNRS, Université Lyon 1, Lyon, France

Mots clefs : neurodéveloppement; retrait social;del12p13.3;CACNA1C

Résumé :

Les délétions de la région 12p13.3 sont connues comme étant responsables de troubles neurodéveloppementaux au phénotype variable (retard psychomoteur, déficience intellectuelle, apraxie de la parole, trouble du spectre de l'autisme, déficit attentionnel, etc.). Les gènes candidats incriminés dans la littérature sont également divers : *CACNA1C* (Fanizza et al., 2014), *ELKS/ERC1* (Thevenon et al., 2013), etc.

Nous rapportons le cas de deux patients de sexe masculin (CAS 1 : 24 ans ; CAS 2 : 6 ans) ayant consulté en raison d'une pauvreté des interactions sociales. L'analyse cytogénétique (CGH-Array et FISH) a mis en évidence l'existence chez ces deux patients d'une délétion d'environ 1,2Mb en 12p13.33p13.32 de transmission maternelle. Cette délétion de taille inférieure à celles déjà décrites dans la littérature emporte *TSPAN9*, *TUP3*, et une partie de *CACNA1C* qui sont tous trois exprimés au niveau cérébral. L'évaluation phénotypique ne retrouve ni anomalie malformative, ni signe dysmorphique, ni anomalie neurologique. Sur le plan cognitivo-comportemental, les patients présentent tous deux des antécédents de retard de développement psychomoteur léger. Ils ne remplissent pas les critères diagnostiques de trouble du spectre de l'autisme. Leur efficacité intellectuelle se situe dans la norme mais les capacités langagières et praxiques sont déficitaires. Le profil des patients n'est toutefois pas strictement superposable. CAS 1 présente de nettes difficultés de cognition sociale et de pragmatique du langage (utilisation en contexte du langage), alors que les aspects formels (production et compréhension du langage) sont préservés. Ses difficultés ont freiné son insertion socio-professionnelle. CAS 2 présente par contre un trouble du langage oral formel et ses difficultés d'interaction sociale ont tendance à régresser avec le temps. L'enquête familiale ne retrouve pas de signe neurodéveloppementaux chez le parent ayant transmis la délétion, en dehors d'un léger retrait social sans impact fonctionnel. Dans les deux cas, ce trait est également présent chez le second parent.

En comparaison aux cas déjà publiés, nous décrivons donc une délétion de taille inférieure et un phénotype atténué quoique cohérent. Cette délétion est héritée d'un parent qui présente des traits comportementaux non spécifiques. L'ensemble de ces éléments permet d'alimenter la discussion sur les gènes probablement responsables et la variabilité phénotypique dans délétions de la région 12p13.3.

#19892 : Premier cas d'insertion d'un rétrotransposon dans le gène SMN1 à l'origine d'une amyotrophie spinale infantile**Auteurs :**

Myriam Vezain-Mouchard (1), Christel Thauvin-Robinet (2, 3), Yoann Vial (4, 5), Séverine Drunat (4, 5), Anne Rolland (6, 7), Séverine Fehrenbach (8), Gaël Nicolas (9, 10), François Lecoquierre (9, 10), Thierry Frébourg (9, 10), Pascale Saugier-veber (9, 10)

1. Inserm UMR 1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm et Université de Rouen , Rouen, France
2. Inserm UMR 1231 GAD, Génétique des anomalies du développement, Université de Bourgogne-Franche Comté, Inserm et Université de Bourgogne-Franche Comté , Dijon, France
3. Unité Fonctionnelle "Innovation diagnostique dans les maladies rares" laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, et Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement et syndromes malformatifs" et Centre de Référence Maladies Rares "Déficiences Intellectuelles de causes rares", CHU Dijon, FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
4. Inserm UMR 1141, PROTECT, Université de Paris , Inserm, Université de Paris , Paris, France
5. Département de Génétique, AP-HP-Hôpital Robert-Debré, Paris, France
6. Inserm UMR 9214 CNRS, Inserm, Université de Montpellier , Montpellier, France
7. Département de Neuropédiatrie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
8. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
9. Inserm UMR 1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen , Rouen, France
10. Département de Génétique, et centre de référence anomalies du développement, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France

Mots clefs : amyotrophie spinale infantile, rétrotransposon, impasse diagnostique

Résumé :

L'amyotrophie spinale infantile (SMA) est une maladie neuromusculaire de transmission autosomique récessive résultant de l'inactivation biallélique du gène *SMN1*. En fonction de l'âge de début et des dernières acquisitions motrices, on distingue 5 types (0 à IV), le type IV correspondant à la forme la plus atténuée. Le gène *SMN1* produit exclusivement un transcrit pleine longueur incluant l'exon 7 (*Full Length*, FL) à l'origine d'une protéine SMN stable capable de s'oligomériser. Le gène *SMN2*, également localisé en 5q11q13, produit par la duplication de ce gène *SMN1* au cours de l'évolution, ne diffère du gène *SMN1* que par 5 nucléotides mais l'une de ces variations, localisée dans l'exon 7, modifie la régulation de l'épissage de l'exon 7. Ainsi, le gène *SMN2* génère principalement un transcrit sans exon 7 (transcrit $\Delta 7$) mais également une faible proportion de transcrit FL. La protéine produite à partir du transcrit $\Delta 7$ est incapable de s'oligomériser et est instable. Nous décrivons ici un patient de 50 ans atteint cliniquement de SMA de type IV en impasse diagnostique depuis 10 ans. En effet, la méthode classique de diagnostic par PCR-digestion n'a pas permis de mettre en évidence de délétion homozygote de l'exon 7 du gène *SMN1*. La QMPFSF et la primer-extension ont révélé un profil très atypique suggérant l'existence de copies résiduelles de l'exon 7. Ce profil atypique est retrouvé chez le père et le frère du cas index, excluant l'hypothèse d'une délétion en mosaïque. Nous avons identifié une insertion d'un rétrotransposon de type SVA-F de 1070 pb dans l'intron 7 du gène *SMN1* en +32 dont une extrémité est visible sur les reads du séquençage d'exome et dont la séquence a pu être secondairement caractérisée intégralement. Cette insertion modifie drastiquement la structure secondaire de l'ADN et interrompt la séquence régulatrice d'épissage TIA1 en aval de l'exon 7 dans une région riche en éléments régulateurs d'épissage. L'analyse des transcrits montre un effondrement de la production du transcrit FL incluant l'exon 7 démontrant l'impact de cette insertion dans la physiopathologie de la SMA chez ce patient. L'insertion de ce rétrotransposon pourrait affaiblir le site donneur d'épissage de l'intron 7 et conduire à la création d'un nouveau site donneur d'épissage au sein du rétrotransposon ou créer un néo-exon. Des analyses complémentaires sont en cours pour caractériser les transcrits et explorer la stabilité de la protéine issue ces transcrits afin d'expliquer le phénotype atténué du patient en contradiction avec l'effondrement de la production de transcrit FL. Cette observation ajoute un nouvel exemple du rôle de certains rétrotransposons en pathologie humaine et souligne l'importance d'explorer les séquences introniques, ce que permettra le séquençage de génome entier de façon beaucoup plus systématique.

#20414 : Implication de la région 22q11 dans l'épilepsie myoclonique juvénile.

Auteurs :

Ahlem Achour (1), Marwa Daghsni (2), Nadia Ben Ali (3), Faouzi Maazoul (1), Mariem Kchaou (4), Lilia Kraoua (5), Mohamed Fredj (6), Sonia Abdelhak (7), Médiha Trabelsi (8), ridha M'rad (5, 2)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires., Hôpital Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de génétique Humaine. LR99ES10, Faculté de médecine de Tunis. Université Tunis El Manar ,1007,Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
3. Service de neurologie , Hôpital Charles Nicolle Tunis. , Tunis, Tunisie
4. Service de neurologie , Hôpital Charles Nicolle Tunis., Tunis, Tunisie
5. Service des maladies congénitales et héréditaires., EPS Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
6. Service de neurologie , Hôpital Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
7. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique LR11IPT05, Institut Pasteur de Tunis., Tunis, Tunisie
8. Service des maladies congénitales et héréditaires. , Hôpital Charles Nicolle Tunis. , Tunis, Tunisie

Mots clefs : EMJ, 22q11, CGH, TOP3B

Résumé :

Le syndrome de délétion 22q11 est le syndrome délétionnel le plus fréquent avec une incidence de 1/5000 à 1/3000 naissances. Le phénotype qui lui est rattaché est extrêmement variable rendant le diagnostic parfois difficile, en particulier dans les formes pauci symptomatiques. La détermination des gènes localisés dans la zone délétée aide à mieux comprendre la physiopathologie.

Nous rapportons dans ce travail l'étude de variations du nombre de copies (CNV) dans une famille consanguine comportant une patiente atteinte de JME. Nous avons identifié une délétion dans la région 22q11, incluant le gène TOP3B, détectée chez la patiente et son père.

Le gène TOP3B, qui code pour la protéine topoisomérase bêta, a été impliqué dans plusieurs maladies neurologiques telles que la schizophrénie et l'autisme. Nous discutons dans ce travail l'implication de la région 22q11 dans les troubles du développement neurologique et de l'association du gène TOP3B avec l'épilepsie.

#20498 : Novel APOE variant in Autosomal Dominant Hypercholesterolemia

Auteurs :

Yara Abou Khalil (1, 2), Petra El Khoury (3, 2), Youmna Ghaleb (3, 2), Sandy Elbitar (3, 4), Catherine Boileau (5, 6), Marianne Abifadel (3, 2), Jean-Pierre Rabès (7, 8), Mathilde Varret (3, 9)

1. LVTS, INSERM U1148, Université de Paris, F-75018, France, Paris, France
2. Laboratoire de Biochimie et Thérapies Moléculaires, Faculté de Pharmacie et Pôle Technologie - Santé, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban, Beyrouth, Liban
3. , LVTS, INSERM U1148, Paris, F-75018, France, Paris, France
4. Laboratoire de Biochimie et Thérapies Moléculaires, Faculté de Pharmacie et Pôle Technologie - Santé, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban, Beyrouth, France
5. LVTS, INSERM U1148, Université de Paris, Paris, F-75018, France, Paris, France
6. Département de Génétique, AP-HP, CHU Xavier Bichat, Paris, F-75018, France, Paris, France
7. Laboratory of Biochemistry and Molecular Genetics, AP-HP, HUPIFO, Ambroise Paré Hospital, Boulogne-Billancourt, France , LVTS, INSERM U1148, Paris, F-75018, France, Paris, France
8. , UVSQ, UFR des Sciences de la Santé Simone Veil, Montigny-Le-Bretonneux, France, Montigny-Le-Bretonneux, France
9. , Université de Paris, Paris, F-75018, France, Paris, France

Mots clefs : APOE, Autosomal dominant hypercholesterolemia, lipoprotein, coronary heart disease, gene, proband, mutation, rare variant, polymorphism, molecular diagnosis

Résumé :

Autosomal dominant hypercholesterolemia (ADH) is characterized by elevated LDL-C levels leading to coronary heart diseases. Three main genes are implicated in ADH: *LDLR*, *APOB* and *PCSK9*. Lately, rare variants that segregate with ADH were reported in the *APOE* gene known to be implicated in Familial combined hyperlipidemia (FCHL) and type III hyperlipoproteinemia (HLP) characterized by hyperlipidemia due to accumulation of remnants of triglyceride-rich lipoproteins, VLDL and chylomicrons.

Our aim was to identify new mutations in known genes, or in new genes implicated in ADH. ADH probands and their families were recruited by the French National Research Network on Hypercholesterolemia. Non *LDLR/APOB/PCSK9* probands were selected after direct sequencing of the *LDLR* and *PCSK9* gene coding sequences, MLPA analysis of the *LDLR* gene, and direct sequencing of parts of the *APOB* gene encoding the binding domain (exons 26 and 29). Following that, *APOE* sequencing allowed us the identification of 7 rare variants in 9 probands. A p.Leu167del was found in a 69-yo woman, her daughter and her grand-daughter as well as in a 42-yo man diagnosed with ADH and with a familial history of the disease. This variant was demonstrated to be the only possible disease-causing mutation within a candidate locus in an ADH family in 2013. A p.Leu46Pro was found in two unrelated women of 59 and 66-yo diagnosed with ADH, and is predicted possibly damaging by Polyphen, disease causing by mutation taster and benign by SIFT. A p.Arg269Gly was identified in a 73-yo woman, and is predicted possibly damaging by polyphen, disease causing by mutation taster and deleterious by SIFT. Three very rare benign variants were also identified: p.Leu173= , p.Ala23Val and p.Arg185= in three unrelated probands with familial history of ADH. One new very rare variant (not found in GnomAD), the c.638T > A, p.Val213Glu was found in a 35-yo woman with ADH. A valine (non-polar aminoacid) is replaced by a glutamic acid (acidic aminoacid). This variant is predicted to be a polymorphism by Mutation taster and possibly damaging by PolyPhen.

Altogether, these results show that screening of the *APOE* gene is warranted in the setting of molecular diagnosis of ADH along with the *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* genes.

Pièce jointe : New ApoE variant in ADH - Yara ABOU KHALIL.docx

#20513 : Essai thérapeutique chez des enfants avec trisomie 21, l'expérience de l'Institut Jérôme Lejeune

Auteurs :

Clotilde MIRCHER (1), Silvia SACCO (1), Aimé RAVEL (1), Franck STURTZ (1)

1. , Institut Jérôme Lejeune, Paris, France

Mots clefs : trisomie 21; essai clinique

Résumé :

Le déficit cognitif est la cible principale des essais cliniques dans la trisomie 21.

La perte neuronale commençant avant la naissance, un traitement effectif ciblant le déficit cognitif devrait être proposé idéalement avant la naissance ou peu après.

Ces dernières années, plusieurs études cliniques ont été réalisées dans cette population mais peu d'entre-elle à l'âge pédiatrique pour des raisons évidentes de sécurité ou de difficultés méthodologiques.

Les hormones thyroïdiennes sont connues pour jouer un rôle important dans le développement psychomoteur, et on observe fréquemment une dérégulation thyroïdienne chez les enfant trisomiques 21. Par ailleurs, le déficit en folates est impliqué dans des maladies neuropsychiatriques et un déficit fonctionnel en folates est suspecté chez les patients avec trisomie 21. Des études ont suggéré le bénéfice de la supplémentation en folates chez ces patients et une interaction positive entre les folates et les hormones thyroïdiennes a été suggérée. Ces deux traitement étant sans danger et déjà prescrit chez des jeunes enfants avec trisomie 21, nous avons réalisé une étude pour répondre à ces questions en suspend.

L'étude ACTHYF est une étude de phase III, mono centrique, randomisée, contrôlée en double aveugle contre placebo, réalisée chez les enfants avec trisomie 21 âgé de 6 à 18 mois à l'inclusion. Les enfants ont reçu pendant un an un des 4 traitements : Placebo, acide folinique, L-Thyroxine, ou acide folinique et L-Thyroxine. Le critère d'efficacité principal était le quotient de développement global (QDG) ajusté à 12 mois comparé à celui à l'inclusion, évalué par le Griffith Mental développemental scale (GMDS).

Sur 175 patients randomisés, 143 ont complété l'étude. La population en intention de traiter modifiée (mITT) comprenait tous les patients randomisés qui n'étaient pas sorti prématurément de l'étude du fait d'une TSH élevée à l'inclusion.

Les 4 groupes étaient très homogènes pour les caractéristiques démographiques à l'inclusion, et la méthode d'évaluation du développement s'est montré fiable.

Le changement moyen ajusté du QDG dans la mITT a montré une baisse similaire dans les quatre groupes de traitement, sans différence significative d'aucun groupe de traitement versus le placebo. Cette étude ne valide donc pas l'hypothèse d'une efficacité de la L-Thyroxine ni de l'acide folinique, seuls ou en association, sur le développement des jeunes enfants avec trisomie 21.

Néanmoins, cette étude a apporté des informations fiables et actuelles sur le développement psychomoteur précoce de ces enfants et une expérience utile dans la conduite d'une étude pédiatrique dans cette population en terme de faisabilité, participation des famille, vitesse d'inclusion, durée, contrôle des co-morbidités qui interfèrent avec le développement, évaluation du développement psychomoteur, et choix des critères d'efficacité.

#20482 : Aspects cliniques de l'agénésie du corps calleux syndromique: A propos d'une série tunisienne**Auteurs :**

Imène Boujelbene (1), Mediha Trabelsi (1), Nesrine Kerkeni (1), Faouzi Maazoul (1), Ichraf Kraoua (2), Ines ouertani (1), lilia Kraoua (1), rym meddeb (1), hena safraou (1), ilhem Benyoussef Turki (2), ridha mrad (1)

1. service des Maladies Congénitales et Hérititaires , Hôpital Charles Nicolle de Tunis, Tunis, Tunisie

2. service de neuropédiatrie, Institut national de neurologie de Tunis, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Agénésie du corps calleux, IRM cérébrale, Syndromes géniques, Anomalies chromosomiques, CNV, Conseil génétique

Résumé :

L'agénésie du corps calleux (ACC) est la plus fréquente des malformations cérébrales avec une prévalence allant de 1,4 à 2,5 pour 10000 naissances vivantes. Elle peut être complète ou partielle, isolée ou associée à d'autres signes malformatifs (malformations cérébrales ou extra-cérébrales). Son expression clinique est variable allant des formes asymptomatiques où l'ACC est de découverte fortuite, aux formes syndromiques avec une déficience intellectuelle sévère.

BUTS DU TRAVAIL :

1- Déterminer les caractéristiques épidémiologiques et cliniques des agénésies du corps calleux syndromiques.

2- Souligner l'intérêt de l'examen clinique dans l'orientation étiologique de ces ACCs.

METHODES :

Il s'agit d'une étude descriptive et rétrospective de patients ayant une ACC syndromique, colligés sur une période de 16 ans, allant de janvier 2002 à décembre 2018, au service des Maladies Congénitales et Hérititaires à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis.

RESULTATS :

Nous avons colligé 47 cas d'ACC qui étaient adressés principalement pour un retard de développement. La médiane d'âge était de 1,75 ans [0,58 ; 7,41] et le sex-ratio M/F était de 1,1. Les signes les plus fréquents révélés par l'examen clinique étaient : une microcéphalie (50%), un retard de croissance (37%), une dysmorphie faciale (94%), des anomalies des membres (50%) et des anomalies des organes génitaux externes (19%). Soixante-neuf pourcent des patients présentaient des troubles visuels et 22% une surdité. Une cardiopathie congénitale était identifiée dans 23,5% des cas.

La majorité de nos patients avaient un pronostic neurologique défavorable. Nous avons noté un retard des acquisitions motrices dans 78% des cas, un retard de langage dans 85% des cas, une déficience intellectuelle constante chez les patients âgés de plus de trois ans et une épilepsie dans 41% des cas. Des troubles de comportement étaient notés chez 10 patients avec une prédominance de traits du trouble du spectre de l'autisme.

L'IRM cérébrale réalisée chez tous les patients a objectivé une ACC complète dans 64% des cas et partielle dans 36% des cas. L'agénésie calleuse était associée à d'autre(s) anomalie(s) encéphalique(s) dans 57% des cas avec une prédominance des anomalies corticales et/ou de la migration neuronale et des anomalies de la fosse postérieure.

Les techniques de cytogénétique ont permis d'identifier une anomalie chromosomique chez un patient (trisomie 8 en mosaïque). Les études moléculaires ciblées se sont revenues normales. Le séquençage haut débit n'a été réalisé pour aucun patient devant sa non disponibilité comme un diagnostic de routine en Tunisie.

CONCLUSION :

L'étude clinique a permis d'orienter le diagnostic chez environ 40% de nos patients. Même en l'absence de confirmation génétique, cette orientation clinique nous a permis de donner un conseil génétique approprié aux couples, en terme de pronostic mais aussi de risque de récurrence.

#20543 : Identification par séquençage haut débit d'une nouvelle délétion au niveau de l'extrémité 3' du gène *AUTS2* causant une déficience intellectuelle sévère associée à une épilepsie focale**Auteurs :**

Ikhlal Ben Ayed (1), Fatma Kamoun (2), Amal Souissi (1), Sihem Ben Ncir (2), Mariem Ben Said (1), Amal Bouzid (1), Neila Belguith (3), Hassen Kammoun (3), Chahnez Triki (2), Saber Masmoudi (1)

1. Laboratoire de Procédés de Criblage Moléculaire et Cellulaire, Centre de Biotechnologie de Sfax , Sfax, Tunisie
2. Service de Neurologie Pédiatrique, CHU Hédi Chaker Sfax, Sfax, Tunisie
3. Service de Génétique Médicale, CHU Hédi Chaker Sfax, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Séquençage haut débit, Déficience intellectuelle sévère, Épilepsie focale, Gène *AUTS2*, Isoforme court d'ARNm, Différenciation neuronale

Résumé :

Différents réarrangements chromosomiques et mutations ponctuelles impliquant le gène *AUTS2* (activator of transcription and developmental regulator, MIM# 607270) ont été rapportés dans la littérature associés à un large spectre phénotypique de troubles neurodéveloppementaux. Ce gène code pour une protéine nucléaire exprimée dans le cerveau aussi bien dans le néocortex que dans le cortex préfrontal. Il est composé de 19 exons dont les exons 9 -19 sont hautement conservés. Cette région conservée de l'extrémité 3' forme un transcrit court ayant un autre site d'initiation de la transcription dans l'exon 9. Nous rapportons ici un cas sporadique de déficience intellectuelle sévère syndromique chez un patient ayant une petite taille, une dysmorphie faciale, une épilepsie focale avec absence de langage. Une ACPA a été pratiquée de première intention et qui n'a pas identifié de CNVs pathogènes. Ainsi, un exome clinique a été réalisé à l'aide du Kit TruSight One d'Illumina. Après filtration des données, une nouvelle délétion de 24 pb au niveau du transcrit long du gène *AUTS2* (NM_015570.2) a été identifiée: c.1603_1626delCACCAGCACACGCACCAGCACACC (p.His535_Thr542del). Cette délétion emporte également le site d'initiation de la transcription, localisée dans l'exon 9, qui pourrait empêcher la formation de l'isoforme court de ce gène. Des études antérieures ont démontré que le gène *AUTS2* interagit avec les protéines polycomb au cours du développement embryonnaire et qu'il y a un passage de l'expression d'un long isoforme de ce gène à un isoforme court dès l'initiation de la différenciation neuronale. De plus, il a été rapporté que les délétions ou les réarrangements génomiques affectant la région C terminal semblent être associés à des phénotypes plus sévères et ceci même pour les délétions de petite taille ne décalant pas le cadre de lecture. Nos résultats supportent cette hypothèse étant donné que notre patient présente une déficience intellectuelle sévère et souligne la complexité de la transcription du locus *AUTS2*. Une étude de la régulation de la transcription de ce gène pourrait nous aider à mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques complexes de la déficience intellectuelle.

#20341 : Stratégie d'identification de nouveaux gènes causaux dans l'hypobêtalipoprotéinémie familiale en population générale : étude HYPOCHOL

Auteurs :

Mathilde Di Filippo (1, 2), Marie Marrec (3), Matthieu Pichelin (4, 3), Antoine Rimbert (4), Gilles Degraef (5), Florence Roger (6), Charlotte Autier (7), Didier Goxe (8), Eléonore Divry (1), Séverine Nony (1), Alexandre Janin (9), Pierre Antoine Rollat Farnier (10), Richard Redon (4), Jean-Jacques Schott (4), Jocelyne Magré (4), Philippe Moulin (1, 2), Bertrand Cariou (4, 3)

1. Dyslipidémies, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est, GHE, LBMMS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. INSERM U1060, INSA de Lyon, INRA U1235, Univ Lyon-1, Université de Lyon, Lyon, France
3. CIC Endocrinologie-Nutrition, CHU de Nantes, Nantes, France
4. INSERM UMR 1087, CNRS UMR 6291, l'institut du thorax, Nantes, France
5. LBM BIOLIANCE site Vannes, Laboratoires Bioliance, Nantes, France
6. LBM BIOLIANCE, Laboratoires Bioliance, Nantes, France
7. Centre d'examen de santé de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie de Loire-Atlantique, Caisse Primaire d'Assurance Maladie de Loire-Atlantique, Saint Nazaire, France
8. Centre d'examen de santé de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie de Vendée, Caisse Primaire d'Assurance Maladie de Vendée, La Roche sur Yon, France
9. Plateforme d'expression, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est, GHE, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
10. Service de Biostatistique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : hypocholestérolémie, hypobêtalipoprotéinémie, mutation, CNV, NGS, APOB, PCSK9

Résumé :

Contexte

L'hypobêtalipoprotéinémie familiale (FHBL) est une maladie autosomique dominante caractérisée par une baisse permanente du taux de LDL-cholestérol (LDL-C), inférieure au 5ème percentile de la population pour l'âge et le sexe. Elle peut être associée à une protection cardiovasculaire, mais également à une stéatose hépatique. Une variation causale est identifiée chez la moitié des patients FHBL sur les gènes de l'apolipoprotéine B (*APOB*), de la Proprotéine Convertase Subtilisine/Kexine de type 9 (*PCSK9*) et de l'Angiopoïétine like 3 (*ANGPTL3*).

Objectifs-Méthodes

Nous menons depuis 2015 au CHU de Nantes, une étude prospective (HYPOCHOL) destinée à constituer une cohorte de patients FHBL en population générale ne présentant pas de mutation sur les trois gènes connus afin d'identifier de nouveaux gènes candidats par séquençage du génome entier (WGS). Le diagnostic génétique est réalisé aux Hospices Civils de Lyon (HCL), par séquençage avec un panel à façon (NimbleGen, Roche sur Nextseq500, Illumina) de 380 gènes impliqués dans les dyslipidémies, le métabolisme des lipoprotéines et pour lesquels des SNP sont associés à la variabilité de la cholestérolémie en WGS. L'analyse bioinformatique est réalisée par le pipeline HCL PapilLyon-DeCovA sur les gènes *APOB*, *PCSK9*, *ANGPTL3* (panel1).

Résultats

A ce jour, 82 sujets FHBL ont été recrutés. Une variation délétère ou probablement délétère (selon l'ACMG) a été retrouvée chez 29% des cas: 21 sur le gène *APOB* et 2 sur le gène *PCSK9*. 21 variations non-sens ou par décalage du cadre de lecture conduisent à l'apparition d'un codon stop prématuré. L'effet délétère de 2 variations (*APOB* c.694-13A>G et c.1123 A>G) a été démonté *in vitro*. Dix propositus sont porteurs de variants de signification inconnue (VSI) dont 2 pourraient avoir un effet sur l'épissage selon les études *in silico* (*APOB* c.537+4A>G et *PCSK9* c.523G>A). Des études de ségrégation sont en cours pour évaluer le caractère délétère de ces VSI ainsi que des études *in vitro* par minigène lorsqu'un effet est prédit *in silico* sur l'épissage. Aucune cause génétique n'a été identifiée chez 52 patients (62% des cas).

Les patients mutés ont des taux moyens significativement plus bas de cholestérol total (1.17 versus 1.27

g/L, $p=0.036$), de triglycérides (0.46 versus 0.66 g/L, $p=0.001$), de LDL-C (0.36 versus 0.47 g/L, $p=0.002$) et d'ApoB (0,35 versus 0,47 g/l, $p=0.004$) que le groupe sans variation causale. Les explorations sont poursuivies chez les patients sans cause identifiée sur les gènes de première intention, avec la réalisation de WGS chez les familles les plus informatives.

Conclusion

Cette étude préliminaire montre que la cause de FHBL est identifiée chez seulement un tiers des patients si l'étude génétique se limite aux gènes *APOB*, *PCSK9*, et *ANGPTL3* et que le phénotype des patients sans mutation sur ces gènes est moins sévère. L'identification de nouveaux gènes causaux de FHBL pourrait révéler à terme des cibles thérapeutiques dans l'hypercholestérolémie.

Pièce jointe : abstract Hypochol assises de génétique 2020.doc

#20336 : Implication du gène *ARF1* dans la déficience intellectuelle : confirmation par 7 nouveaux cas.

Auteurs :

Jean-Madeleine De Sainte Agathe (1), Sophie Naudion (2), Jean-François Chateil (3), Benoît Arveiler (2), Didier Lacombe (2), Laetitia Gaston (2), Eulalie Lasseaux (2), Virginie Raclet (2), Claudio Plaisant (2), Fowzan Sami Alkuraya (4), Maria Rosaria Iacone (5), Michelle Thompson (6), Brahim Tabarki Melaiki (7), Cerada Anna (8), Egidio Spinelli (9), Emily Bryant (10), Kathryn Nicole Weaver (11), Patricia Fergelot (2), Aurélien Trimouille (2)

1. Génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Génétique médicale, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
3. Service de Radiologie et d'imagerie anténatale, de l'enfant et de la femme, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France
4. Department of Genetics, King Faisal Specialist Hospital and Research Centre, Riyadh, Arabie saoudite
5. Laboratorio di Genetica Medica, ASST Papa Giovanni XXIII, bergame, Italie
6. Greg Cooper's Laboratory, HudsonAlpha Institute for Biotechnology, Huntsville, Etats-Unis
7. Department of Pediatrics, Riyadh Military Hospital, Riyadh, Arabie saoudite
8. Ambulatorio di Genetica Clinica Pediatria 1, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Italie
9. Epilepsy Genetics, Ann & Robert H Lurie Children's Hospital, Chicago, Etats-Unis
10. Epilepsy Center, Ann & Robert H Lurie Children's Hospital, Chicago, Etats-Unis
11. Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Etats-Unis

Mots clefs : *ARF1*, déficience intellectuelle, migration neuronale corticale, hétérotopie nodulaire hétérotopique, substitution récurrente, faux-sens, dominant négatif

Résumé :

La migration neuronale corticale (MNC) nécessite une fine régulation des interactions intercellulaires par l'orchestration de trafics vésiculaires de sécrétion et d'endocytose. La perturbation de ces voies d'endo et d'exocytose définit un sous-groupe dans l'ensemble plus vaste des anomalies de MNC (*ARFGEF2*, MIM#605371 ; *CDC42*, MIM#116952 ; *FLNA*, MIM#300017 ; *ERMARD*, MIM#615532 ; *DCHS1*, MIM#603057 ; *FAT4*, MIM#612411) associant déficience intellectuelle (DI), épilepsie, microcéphalie et hétérotopie nodulaire périventriculaire (HNP).

L'ADP-ribosylation factor 1 (*Arf1*) est un acteur central de ces voies, assurant le maintien des jonctions cellulaires et l'adhésion focale via d'une part son activation directe par *ArfGEF2* et d'autre part son rôle de régulateur de l'endocytose *Cdc42* dépendante. Par ailleurs, en recherchant les régions génomiques intolérantes aux variations faux-sens dans la DI, *ARF1* a été identifié comme gène candidat pour une forme dominante, associée à des HNP chez 3 patients (Ge et al. 2016, NPJ Genom Med. 2016;1:16036).

Nous décrivons 7 nouveaux patients atteints de déficience intellectuelle et porteurs de variants faux-sens hétérozygotes *de novo* dans *ARF1*.

Sur 4 variants faux-sens, 3 avaient été identifiés par Ge et al. parmi lesquels le variant c.296G>A p.(Arg99His) que nous retrouvons récurrent chez 4 patients. Nous décrivons également un nouveau variant c.151T>C p.(Phe51Leu).

Notre étude révèle que l'HNP n'est pas constante puisqu'elle n'a été objectivée, dans cette nouvelle cohorte, que chez un patient. La description clinique détaillée des 7 cas permet d'enrichir le phénotype avec notamment des particularités dysmorphiques (hypotonie facio-axiale, fentes palpébrales orientées vers le bas et en dehors, philtrum court, microrétrognathisme) et une atteinte cérébelleuse qui paraît fréquente.

L'analyse conjointe de l'ensemble des 10 cas précise l'importance relative de la DI, de la microcéphalie et de la comitialité déjà retrouvées dans les anomalies de MNC.

Les anomalies de MNC par atteinte bi-allélique de *ARFGEF2* prédiraient plutôt un défaut d'activation de *ARF1* qu'un gain de fonction. La petite taille de *ARF1* est cependant une limite à la prédiction de son intolérance à la perte de fonction, basée seulement sur la présence de variants ponctuels non-sens dans gnomAD. Toutefois 12 porteurs sains hétérozygotes pour un variant perte de fonction (frameshift, épissage, grande délétion) ont été rapportés, suggérant plutôt un effet dominant négatif pour les faux-sens incriminés chez les patients atteints de DI.

Le taux substitutionnel plus élevé des CpG pourrait expliquer la récurrence, au sein du codon arginine CGT, de la substitution c.296G>A par désamination de la cytosine méthylée sur le brin antisens (ACpG).

Nous confirmons l'implication du gène *ARF1* dans une forme dominante de DI avec ou sans HNP, via des variants faux-sens, probablement par effet dominant-négatif et avec un hot-spot mutationnel sur l'arginine en position 99.

#20076 : Améliorations phénotypiques des souris Mecp2-déficientes après injection i.v. d'un AAV-BDNF.**Auteurs :**

Camille Fulachier (1), Marie-Solenne Felix (1), Emilie Borloz (1), Yann Ehinger (1), Laurent Villard (1), Jean-Christophe Roux (1)

1. , Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France, Marseille, France

Mots clefs : syndrome de rett, mecp2, thérapie génique, bdnf

Résumé :

Chez l'Homme, des mutations dans le gène *MECP2* (Methyl CpG binding Protein 2) sont à l'origine de plusieurs maladies neurologiques dont la principale est le syndrome de Rett (RTT).

Dans ce syndrome, l'évolution de la pathologie est caractérisée par un développement normal jusqu'à l'âge de 6-18 mois, puis un arrêt du développement cognitif suivi d'une phase de régression importante avec apparition de troubles moteurs, autonomes et cognitifs.

Le BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor), un facteur de croissance de la famille des neurotrophines dont l'expression est directement régulée par *MECP2*, joue un rôle clé dans le développement de cette pathologie.

En effet, dans le RTT, l'expression de *Bdnf* est diminuée de moitié dans le système nerveux central et la structure des neurones ainsi que leur activité apparaissent très altérées (Abuhatzira et al., 2007). La durée de vie des animaux KO est également diminuée. Chez ce même modèle, la surexpression de *Bdnf* au niveau du cerveau permet de rétablir partiellement l'arborisation des neurones, leur activité spontanée, ainsi que d'augmenter la durée de vie des souris (Chang et al., 2006).

Le BDNF constitue donc une molécule prometteuse pour traiter le syndrome de Rett. Son utilisation directe n'est cependant pas possible car cette protéine ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique et présente une demi-vie très courte. Pour contourner ces difficultés, nous avons développé une approche virale utilisant un vecteur AAV9-Bdnf.

Après injection de cet AAV dans le modèle murin *Mecp2*-déficient, nous avons mis en évidence une amélioration de la survie et du poids des animaux ainsi que des paramètres respiratoires et des fonctions motrices.

Ces résultats encourageants sont une preuve de concept préclinique validant l'intérêt de l'utilisation du *Bdnf* pour traiter les patientes atteintes du syndrome de Rett.

#20446 : Female with 46, XY karyotype: CAIS in CHU HASSAN II, FES

Auteurs :

BADREDDINE ELMAKHZEN (1), Laila BOUGUENOUGH (1)

1. Unit of Medical Genetics and Oncogenetics, Central Laboratory for Medical Analysis, CHU Hassan II, Fez Morocco., FES, Maroc

Mots clefs : XY female, CAIS, DSD

Résumé :

Disorders of sex development (DSD) are congenital conditions characterized by atypical development of chromosomal, gonadal, and phenotypic sex. DSD is divided into three groups according to the chromosomal component: 46, XX DSD; 46, XY DSD; and sex chromosomal DSD. 46, XY DSD is rare but may occur at any point in the sexual differentiation pathway, which is a complex process of gene interactions, androgen synthesis, and hormone regulation by the interaction of ligands with their corresponding receptors.

We report a case of 32 years women underwent evaluation for primary amenorrhea. Laboratory evaluation revealed follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone serum levels of 9,7 mL/mL, 23.3 mL/mL, respectively . The MRI showed the absence of a uterus, fallopian tubes, and ovaries with the presence of testis in inguinal localization. A karyotype was performed, that has demonstrated a 46, XY.

The patient had 2 sisters presenting the same symptomatology. The patient was diagnosed with Complet Androgen Insensibility Syndrome. A molecular study was performed in order to confirm the diagnosis.

Pièce jointe : female with XY Karyotype.docx

#20359 : Mise en place d'un panel de gènes ciblés pour les hémopathies malignes (NMP-LMMC-SMD-LAM) par NGS: Enjeux médical/scientifique et d'Assurance Qualité.**Auteurs :**

VANNA GEROMEL (1), EVELYNE FAYOLLE (1), PASCAL MOUTY (1), ROBIN MOULIN (2), NADEGE BATAIL (3), MARIE-HELENE FELIX (4), BARBARA ADDE (1), SANDRINE MOUTY (1), LAURE RAYMOND (1), BENOIT QUILICHINI (1)

1. GENETIQUE , LABORATOIRE EUROFINS BIOMNIS, LYON, France
2. DIRECTION , LABORATOIRE EUROFINS BIOMNIS, LYON, France
3. MARKETING-COMMUNICATION, LABORATOIRE EUROFINS BIOMNIS, LYON, France
4. PARAMETRAGE , LABORATOIRE EUROFINS BIOMNIS, LYON, France

Mots clefs : NGS – Hémopathie maligne – Assurance Qualité

Résumé :

La prise en charge biologique des hémopathies malignes nécessite une étroite collaboration entre les disciplines d'hématologie cellulaire, de cytogénétique et de biologie moléculaire. Les nouvelles recommandations OMS 2017 s'appuient sur ce postulat et établissent la liste des analyses nécessaires pour la classification de ces affections malignes. L'analyse de régions d'intérêt au sein d'ADN génomiques par Séquençage Parallèle Massif (ou Séquençage de Nouvelle Génération - NGS) offre la possibilité d'une exhaustivité d'analyse de gènes impliqués dans la prise en charge diagnostique et pronostique des hémopathies malignes. Le projet présenté a consisté en la mise en place d'un panel ciblé de gènes pour les hémopathies myéloïdes (NMP, SMD, LMMC et LAM) avec une solution commerciale (MYELOID SOLUTION™ by SOPHiA GENETICS). La question du positionnement du biologiste médical est posée en définissant deux enjeux : l'enjeu médical et scientifique et l'enjeu d'Assurance Qualité.

L'enjeu médical et scientifique a consisté à définir, en collaboration avec les équipes scientifiques, le choix technique de préparation des bibliothèques (capture ou amplicon), la chimie du séquençage (SBS avec fluorescence versus détection de protons), le choix de la solution bioinformatique et le choix des panels de gènes dédiés aux hémopathies malignes selon les recommandations internationales en vigueur. Des panels de gènes spécifiques pour chaque hémopathie ont ainsi pu être proposés par technique de capture kit Kapa Roche® sur une plateforme Illumina® Miseq (en paired-end) avec une solution bioinformatique SOPHiA DDM®.

L'enjeu d'Assurance Qualité, en collaboration avec le service d'Assurance Qualité du laboratoire, a consisté en la rédaction du dossier de validation de méthode (choix des critères de performances analytiques et études expérimentales) dans la perspective d'une accréditation COFRAC de l'analyse selon la norme NF EN ISO 15189.

Ce projet s'intègre dans la mise en place d'actes de biologie innovants au sein de notre laboratoire d'analyses médicales spécialisées.

#20579 : Cartographie de l'utilisation des tests ADN libres circulants pour le dépistage des anomalies chromosomiques en Europe, Australie et Etats-Unis

Auteurs :

Vincent Gatinois (1), Kasper Gadsbøll (2), Olav Bjørn Petersen (3, 4), Franck Pellestor (1), Ronald J. Wapner (5), Joris Robert Vermeesch (6), Ida Vogel (7, 8)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital A. de Villeneuve - CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Center for Fetal medicine, Copenhagen University Hospital, Rigshospitalet, Copenhagen , Danemark
3. Center for Fetal medicine, Copenhagen University Hospital, Rigshospitalet, Copenhagen, Danemark
4. Department of Clinical Medicine, University of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
5. Department of Obstetrics and Gynecology, Columbia University, New York, Etats-Unis
6. Department of Human Genetics, KU Leuven, Leuven, Belgique
7. Department of Clinical Genetics, Aarhus University Hospital, Aarhus, Danemark
8. Center for fetal diagnostics, Aarhus University Hospital, Aarhus, Danemark

Mots clefs : test ADNlc, dépistage prénatal non invasif, ADN foetal libre circulant

Résumé :

Introduction

Les tests de dépistage des anomalies chromosomiques reposant sur l'ADN libre circulant (ADNlc) voient leur utilisation se décupler dans le monde entier. Cette étude vise à décrire les utilisations actuelles de ces tests en Europe, en Australie et aux Etats-Unis.

Matériels et Méthodes

Nous avons conduit une enquête auprès de confrères dans ces territoires pour décrire les utilisations actuelles des tests ADNlc. A l'aide d'une correspondance par courriel, ces personnes ont répondu à un questionnaire simple concernant leur pays portant sur les points suivants :

1. Accès des femmes enceintes aux tests ADNlc et existence de recommandations nationales
2. Cibles chromosomiques des tests ADNlc
3. Existence d'une couverture sociale ou d'assurances privées
4. Proportion de femme ayant recours au test pendant leur grossesse.

Dans le cas où un recueil national n'existe pas, certaines données ont été estimées par les participants.

Résultats

En Europe, 12 pays ont adopté les tests ADNlc dans des programmes ou recommandations nationales. Deux pays (Belgique et Hollande) proposent les test ADNlc à toutes les femmes enceintes en première intention de dépistage des anomalies chromosomiques alors que la plupart des autres pays Européens propose ce test aux patientes à risque élevé lors du dépistage du 1^{er} trimestre. En Australie et aux Etats-Unis, il n'existe pas de recommandations nationales pour l'utilisation de ces tests alors qu'ils sont très largement implémentés dans le secteur privé. Dans la plupart des pays Européens, moins de 25% des femmes enceintes ont recours aux tests ADNlc. En Hollande et dans une grande partie des Etats-Unis, cette proportion est comprise entre 25% et 50%. Pour l'Espagne, l'Italie et l'Australie, ces taux sont compris entre 50% et 75%. Seule la Belgique obtient un taux d'utilisation supérieur à 75%. La majorité des pays sondés proposent un test ADNlc pour le dépistage des trisomies 13, 18 et 21 et le plus souvent des aneuploïdies des gonosomes. Uniquement la Belgique, la Hollande, la Lituanie, la Grèce et l'Italie proposent des tests ADNlc plus larges (pangénomiques et/ou recherche de microdélétions).

Conclusion

Les tests ADNlc dans le dépistage des principales aneuploïdies fœtales ont été très largement adoptés au travers de l'Europe, de l'Australie et des Etats-Unis. Seuls quelques pays/états ont élaborés des recommandations nationales sur l'utilisation de ces tests. La variabilité des attitudes des pays sondés pour l'utilisation de ces tests est considérable.

#20496 : Implication des pré-mutations du gène *FMR1* dans l'insuffisance ovarienne primaire, enjeux et perspectives : A propos d'un cas

Auteurs :

Sana Skouri (1), Molka Sebaï (1), Houweyda Jilani (1), Syrine Hizem (1), Yasmina El Aribi (1), Amel Zerzeri (1), Imen Rejeb (1), Mohamed Khrouf (2), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La Marsa, Tunis, Tunisie

2. Service de gynécologie et obstétrique, Clinique la rose, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Insuffisance ovarienne primaire, pré-mutation du gène *FMR1*, infertilité, préservation de la fertilité.

Résumé :

Introduction

L'insuffisance ovarienne primaire (IOP) est due dans un tiers des cas à des facteurs génétiques avec implication des anomalies du chromosome X dans 13% des cas et des pré-mutations du gène *FMR1* dans 6% des cas. La fréquence des femmes porteuses de ces pré-mutations a été récemment estimée aux Etats Unis à 1/209. Ces femmes peuvent développer une IOP dans 20% des cas. Elles ont également un risque élevé de présenter des troubles du cycle menstruel et une infertilité. De plus, elles peuvent avoir des enfants atteints du syndrome de l'X fragile.

Patient et méthode

Etude clinique et génétique d'une patiente adressée pour insuffisance ovarienne prématurée.

Résultats

Il s'agit d'une patiente âgée de 30 ans adressée pour insuffisance ovarienne prématurée et aux antécédents de deux fausses couches. L'enquête génétique retrouve la notion d'une IOP diagnostiquée à l'âge de 19 ans chez sa sœur et de retard mental chez un cousin maternel.

L'analyse du nombre de triplet CGG du gène *FMR1* a mis en évidence la présence d'une pré-mutation chez notre patiente.

Cette patiente ne peut pas bénéficier des techniques de préservation de la fertilité selon les textes de lois mis en vigueur en Tunisie qui réservent ces procédures pour des situations restreintes telles que l'indication d'une chimiothérapie ou d'une radiothérapie.

Conclusion

L'identification précoce de pré-mutation du gène *FMR1* pourrait permettre aux patientes de programmer des grossesses spontanées ou induites avant l'épuisement des réserves ovariennes. Par ailleurs, il est important de discuter l'apport de la préservation de la fertilité pour ces patientes, surtout qu'elle n'est indiquée dans certains pays tels que la Tunisie.

#20538 : Un nouveau cas de déficit en NANS chez une patiente avec une déficience intellectuelle et une dysplasie osseuse modérée.**Auteurs :**

Magali GORCE (1), Arnaud BRUNEEL (2), François FENAILLE (3), Valérie CORMIER-DAIRE (4), Geneviève BAUJAT (4), Estelle COLIN (1), Marine TESSARECH (1), Magalie BARTH (1), Clara HOUDAYER (1), Alban ZIEGLER (1), Dominique BONNEAU (1)

1. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, ANGERS, France
2. Laboratoire de Biochimie métabolique et cellulaire, Hôpital Xavier Bichat, APHP, PARIS, France
3. Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse, Laboratoire d'Etude du Métabolisme des Médicaments, CEA INRA, Université Paris Saclay, PARIS, France
4. Centre de référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Institut IMAGINE, Hôpital Necker Enfants-Malades, APHP, PARIS, France

Mots clefs : Déficit en NANS, déficience intellectuelle, dysplasie osseuse, dosage HexNAc

Résumé :

Le déficit en N-acetylneuraminic acid synthase (NANS) est une pathologie autosomique récessive très rare, décrit à l'heure actuelle uniquement chez neuf personnes dans un seul article. Celles-ci ont en commun une dysmorphie faciale, une hypotonie néonatale, un retard de développement psychomoteur puis une déficience intellectuelle, associés à une dysplasie osseuse sévère (petite taille, platyspondylie, stries métaphysaires, épiphyses de petites tailles).

Le gène *NANS* code pour la protéine N-acetylneuraminic acid synthase, impliquée dans la sialylation des protéines. Il s'agit donc d'une nouvelle forme de CDG syndrome. Sur le plan biochimique, il a été mis en évidence une augmentation du ManNAc (N-Acetyl-D-mannosamine) dans le plasma et les urines ainsi qu'une diminution de l'activité enzymatique dans les fibroblastes des personnes atteintes.

Il n'y a pas de traitement disponible pour cette maladie, mais la piste d'une supplémentation en acide sialique est évoquée.

Nous avons identifié par exome en trio, deux variants pathogènes, à l'état hétérozygote composite, dans le gène *NANS*, chez une patiente âgée de 8 ans présentant une dysmorphie faciale, un retard de développement psychomoteur avec une déficience intellectuelle semblant initialement non syndromiques.

Suite à ce résultat, des radiographies osseuses ont été réalisées et ont montré la présence d'une dysplasie osseuse modérée, avec une atteinte des épiphyses des membres supérieurs et une participation métaphysaire. La patiente a une petite taille relative comprise entre -1 et -2DS contrastant avec une taille cible à +1.5DS. Elle a également une ostéochondrite de hanche sévère bilatérale que nous n'incluons pas initialement dans le tableau clinique.

L'étude de la N- et O- glycosylation des protéines s'est avérée normale, ce qui était également le cas pour les personnes décrites dans l'article princeps. Un dosage des HexNAc sur plasma est en cours, dans l'hypothèse d'une augmentation du ManNAc comme celle décrite chez les autres patients.

Cette observation étend le phénotype initialement rapporté dans le déficit en NANS. En effet, l'atteinte osseuse peut être modérée et faire porter à tort le diagnostic de DI non syndromique. L'examen attentif des radiographies du squelette, l'étude de la croissance du patient sont indispensables en cas d'identification de variants de *NANS* pour aider à conclure à leur pathogénicité. Le dosage de l'HexNAc semble également être une piste intéressante.

Pièce jointe : ABSTRACT ASSISES NANS VF.docx

#20176 : Critères pour l'expansion du dépistage prénatal non invasif: quelles leçons peut-on tirer des critères utilisés en diagnostic pré-implantatoire?

Auteurs :

Gallois Hortense (1), Vardit Ravitsky (1), Marie-Christine Roy (1), Anne-Marie Laberge (2)

1. Bioéthique, Université de Montréal, Montréal, Canada
2. Service de génétique médicale, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, Canada

Mots clefs : DPI, dépistage prénatal non invasif, critères

Résumé :

Contexte: Le test prénatal non invasif (TPNI) permet la détection d'informations génétiques relatives au fœtus de manière sécuritaire, plus précoce et plus fiable que les méthodes de dépistage existantes. Certaines provinces canadiennes ont déjà intégré le TPNI dans leur programme public de dépistage prénatal, limité à la détection d'aneuploïdies chez les grossesses à risque élevé. Ceci est généralement bien accueilli par l'opinion publique et la communauté médicale, mais certains s'inquiètent de l'expansion du TPNI à un plus grand nombre de conditions. En effet, grâce aux avancées technologiques, il est concevable que l'on puisse procéder au dépistage de nombreuses conditions génétiques via le TPNI. Cela pose d'importants dilemmes éthiques, qui font écho à ceux déjà énoncés dans le cadre du diagnostic préimplantatoire (DPI). Le groupe de recherche PÉGASE 2 est chargé de réfléchir aux enjeux de l'extension de l'accès au TPNI au Canada, ainsi qu'aux justifications éthiques et morales autour de la détection d'un plus grand nombre de conditions grâce au TPNI. Pour identifier des critères pouvant être utiles dans le cadre du TPNI, nous avons donc procédé à une revue systématique des critères actuellement utilisés pour guider l'utilisation du DPI.

Méthodologie: Nous avons procédé à une revue systématique de la littérature sur le DPI et les critères utilisés pour guider son utilisation dans les pays de l'OCDE depuis 1998. Nous avons identifié 448 documents, dont 216 ont été retenus comme pertinents après évaluation de l'abrégié. Ces 216 articles ont été révisés par 2 auteurs et codés en utilisant le logiciel NVivo.

Résultats: Le consensus général est qu'il est justifiable d'avoir recours au DPI pour détecter la présence d'une condition génétique sévère. Cependant, il n'existe pas de normes établies pour déterminer si une condition génétique donnée est sévère ou non. Pour illustrer la sévérité d'une condition, on fait appel dans la littérature à des caractéristiques de la maladie qui sont associées à une plus grande sévérité: une pénétrance élevée, un âge précoce d'apparition des symptômes, l'absence de traitement, une diminution de la survie, une progression rapide de la maladie et/ou une diminution de la qualité de vie. Plus une condition possède ces caractéristiques, plus elle est susceptible de faire consensus. Le TPNI comme le DPI ouvre la porte à la détection de caractéristiques fœtales non-médicales, comme le sexe fœtal. Cela est controversé en DPI, et l'est tout autant pour le TPNI.

Conclusions: Comme le DPI n'est effectué que dans un petit nombre de grossesses, il est plus facile d'évaluer chaque cas individuellement selon des critères locaux. Pour le TPNI qui sera intégré à des programmes de dépistage prénatal populationnels, une approche individuelle n'est pas réaliste. Le développement de critères établis sera nécessaire pour déterminer l'acceptabilité de l'ajout de conditions données au panel de conditions ciblées par le TPNI.

#20258 : Outils interactifs d'évaluation des capacités attentionnelles chez des patients déficients intellectuels.**Auteurs :**

Perrine CHARLES (1, 2), Anne Claire GELINEAU (1, 2), Anne FAUDET (1, 2), Karim NDIAYE (3), Gilles RAUTUREAU (3), Pierre CANET (3), Solveig HEIDE (1, 2)

1. Département de génétique, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

2. Centre de référence déficiences intellectuelles de causes rares, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

3. Plateforme PRISME (IHU-A-ICM, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière), Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, critères d'évaluation, capacités attentionnelles, outils interactifs, eye tracking.

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) est une pathologie fréquente qui concerne environ 2% de la population générale. Dans le cadre du centre de référence « déficiences intellectuelles de causes rares », une consultation dédiée aux adultes atteints de DI a été mise en place depuis novembre 2005. Les objectifs de cette consultation sont multiples: diagnostic étiologique, conseil génétique, prise en charge, suivi, caractérisation phénotypique de cohortes de patients, profil évolutif, évolution naturelle de ces affections, compréhension de la physiopathologie en lien avec les modèles animaux, réflexion sur des stratégies thérapeutiques potentielles dans le but de mettre en place des essais thérapeutiques. Nous avons participé, dans le cadre du syndrome de l'X Fragile à plusieurs essais thérapeutiques internationaux, multicentriques qui se sont révélés négatifs sur tous les critères d'évaluation utilisés, ce qui nous a conduits à nous interroger sur la pertinence des critères d'évaluation utilisés... Une des difficultés dans les affections neuro-développementales est le choix des critères d'évaluation de l'efficacité d'un traitement. Les critères utilisés sont le plus souvent des échelles de comportement remplies par l'aidant dans lesquelles la composante subjective est très importante. Nous nous sommes heurtés à l'absence évidente de critères d'évaluation objectifs. Il n'existe le plus souvent aucun bio marqueur susceptible d'évoluer avec la pathologie et les critères d'évaluation d'imagerie réalisables uniquement sous anesthésie générale en raison des troubles du comportement associés, sont difficilement envisageables sur un plan éthique.

Par définition, un critère d'évaluation principal qui va servir à la mise en évidence de l'efficacité du traitement étudié doit remplir certaines conditions: être unique, pertinent, méthodologiquement acceptable, clair, de mesure aisée, valide, reproductible, sensible, spécifique, éthique et permettre de calculer le nombre de sujets nécessaires pour obtenir des résultats statistiquement significatifs.

Nous avons ainsi développé et validé en collaboration avec la plateforme PRISME (IHU-A-ICM, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière), des outils interactifs, quantitatifs permettant d'apprécier les troubles de l'attention chez des patients présentant une DI de sévérité variée (QI < 70 mais souvent < 50), qui n'ont pas acquis le langage pour certains, ludiques par le biais de tests sur écrans tactiles pour une réponse manuelle ou faisant appel à l'eye tracking (oculomètre) avec mesure du temps de fixation du regard pour les patients qui outre l'absence de langage présentent des troubles moteurs qui ne permettent pas l'utilisation de leurs mains.

Ces outils permettront d'évaluer les capacités attentionnelles chez des patients déficients intellectuels y compris ceux présentant une DI sévère et pourront servir de critère d'évaluation quantitatifs lors d'essais thérapeutiques et d'outils de rééducation chez ces patients.

#20020 : Etude du profil moléculaire de la β -thalassémie au CHU HASSAN II de Fès (à propos de 35 cas)

Auteurs :

Meriam Abbassi (1), Meriam Abbassi (1), Hanane Sayel (1), Oussama Kettani (1), Mohammed Ahakoud (1), Badredine El Makhzen (2), Said Tranint (1), Ihssane El Otmani (1), SARRA BENMILOUD (3), Mustapha Hida (4, 5), Laila Bouguenouch (1, 6), Karim Ouldin (1, 6)

1. Génétique Médicale et d'oncogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, Fès, Maroc
2. Génétique médicale et d'oncogénétique, Centre Hospitalier Universitaire, Fès, Maroc
3. Pédiatrie, Hôpital Mère-Enfant, Centre Hospitalier Universitaire, Fès, Maroc
4. Pédiatrie, Hôpital Mère-Enfant, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, Fès, Maroc
5. Pédiatrie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Fès, Maroc
6. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès, Maroc

Mots clés : β -thalassémie, gène HBB, Mutations, conseil génétique.

Résumé :

Les thalassémies constituent un groupe hétérogène d'anomalies moléculaires qui ont en commun un défaut de synthèse d'une des chaînes de globine. Ces anomalies sont à l'origine d'un déséquilibre de synthèse avec accumulation de chaînes non appariées responsable de dysérythropoïèse. Elles sont à l'origine soit d'une diminution soit d'une absence totale de synthèse des chaînes de globines. En fonction du type des chaînes de globine atteintes on parle de β ou α -thalassémie. Elles font partie du groupe des hémoglobinopathies qui comprend entre autres la drépanocytose.

La β -thalassémie fait partie du groupe des hémoglobinopathies, c'est l'une des maladies autosomiques récessives les plus fréquentes dans le monde et plus particulièrement dans le bassin méditerranéen. Au Maroc, selon l'OMS, 3% de la population serait touchée par la β -thalassémie. Non prise en charge, elle entraîne le décès des malades dans l'enfance.

Sur le plan moléculaire, environ 90 % des allèles β -thalassémiques sont représentés par des mutations ponctuelles du gène *HBB*, plus de 300 mutations altérant les différentes étapes de l'expression de ce gène ont été répertoriées.

Dans ce contexte, nous avons réalisé une étude moléculaire de cette pathologie à travers l'analyse du gène *HBB* chez 35 patients suivis en quasi-totalité au service de pédiatrie du CHU HASSAN II de Fès, cette étude génétique a permis de déterminer la prévalence et le spectre des mutations de ce gène dans notre population, d'établir un phénotype clinique et de proposer un conseil génétique adéquat.

Pièce jointe : ABBASSI MERIAM abstract HBB.docx

#20159 : Dosage allélique de BMPR2 dans l'hypertension artérielle pulmonaire familiale par réarrangement chromosomique**Auteurs :**

Mélanie EYRIES (1), Barbara GIRERD (2), Sandra CHANTOT-BASTARAUD (3), Boris KEREN (4), Anne LEROY (1), Florence COULET (1), David MONTANI (5), Marc HUMBERT (5), Jean-Pierre SIFFROI (3), Florent SOUBRIER (1)

1. Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. , Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants Armand trousseau, PARIS, France
4. Département de Génétique , Hôpital Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
5. Centre de référence de l'hypertension artérielle sévère, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Mots clefs : HTAP, Remaniement chromosomique, BMPR2, MLPA

Résumé :

Contexte : L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie rare et grave, définie par l'augmentation des résistances artérielles pulmonaires, résultant de l'oblitération progressive des artères pulmonaires de petit calibre et évoluant vers l'insuffisance cardiaque droite. Le gène *BMPR2*, codant pour un récepteur de type 2 de la voie des Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) est le gène majeur des formes hérissables de la maladie. Les variants pathogènes décrits dans *BMPR2* agissent par un mécanisme d'haplo-insuffisance et sont essentiellement des mutations ponctuelles. Des grands réarrangements conduisant à la délétion d'un ou plusieurs exons du gène sont également impliqués dans environ 15 % des formes hérissables d'HTAP liées à *BMPR2*.

Résultats : Une délétion complète (exons 1 à 13) du gène *BMPR2* a été mise en évidence chez une patiente, cas index d'une forme familiale d'HTAP, ainsi que chez sa cousine germaine également atteinte, par la technique de dosage génique Multiplex Ligation-dependant Probe Amplification (MLPA, P093 HHT/HPAH probemix, MRC-Holland). En revanche cette technique n'a pas mis en évidence la délétion ni chez la mère ni chez la tante du cas index pourtant porteuses obligatoires car ces sœurs sont toutes deux mères d'une fille malade porteuse de l'anomalie génétique. De plus, une duplication complète du gène *BMPR2* a été identifiée par MLPA chez deux individus non malades de la famille, respectivement cousin et oncle du cas index. Ces résultats ont été confirmés par analyse chromosomique sur puce à ADN (HumanOmniExpress-24 v1.3, Illumina). Devant les incohérences observées dans la ségrégation familiale des anomalies identifiées, nous avons émis l'hypothèse de l'existence d'un réarrangement chromosomique dans cette famille. Un complément d'analyse par hybridation in situ en fluorescence (FISH) a mis en évidence chez la mère et la tante, porteuses obligatoires pour lesquelles aucune anomalie n'avait été détectée en MLPA, à la fois la délétion de la région 2q33.2 incluant le gène *BMPR2* et l'insertion de cette même région dans le bras court du chromosome 3 conduisant à un remaniement équilibré. Dans cette famille, seuls les patients porteurs de la délétion complète du gène *BMPR2* présentent un phénotype d'HTAP ; les individus porteurs du remaniement équilibré ou de la duplication de *BMPR2* sont indemnes de la pathologie.

Conclusion : Nous avons mis en évidence un remaniement équilibré impliquant deux chromosomes distincts expliquant la transmission de façon indépendante soit d'une duplication soit d'une délétion du gène *BMPR2* dans une forme familiale d'hypertension artérielle pulmonaire hérissable. Ces remaniements équilibrés peuvent occasionner des difficultés d'interprétation des résultats obtenus par quantification génique telle que la MLPA. Ces résultats illustrent la complémentarité des analyses de biologie moléculaire et de cytogénétique pour élucider les anomalies génétiques complexes.

#20126 : MGLUR7, un nouveau gène de récepteur du glutamate impliqué dans les encéphalopathies épileptiques ?

Auteurs :

Cécile MIGNON-RAVIX (1), Marwa BEN JDILA (2, 3), Laurent VILLARD (1, 4), Chahnez TRIKI (3, 5), Sihem BEN NCIR (6, 7), Fatma KAMMOUN (6, 7)

1. , Aix Marseille Univ, INSERM, MMG, Marseille, France, Marseille, France
2. , 2 Laboratoire de Génétique Moléculaire et Fonctionnelle, Faculté de science de Sfax, Tunisie, SFAX, Tunisie
3. , 3 Unité de Recherche Neuropédiatrique (UR12ES 16), Université Hedi Chaker de Sfax, Tunisie, SFAX, Tunisie
4. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, AP-HM, Marseille, France, Marseille, France
5. , 4 Département de Neurologie Infantile, Université Hedi Chaker de Sfax, Tunisie, SFAX, Tunisie
6. , 3 Unité de Recherche Neuropédiatrique (UR12ES 16), Université Hedi Chaker de Sfax, Tunisie, Sfax, Tunisie
7. , 4 Département de Neurologie Infantile, Université Hedi Chaker de Sfax, Tunisie, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Encéphalopathies épileptiques précoces, glutamate, GRM7

Résumé :

Les encéphalopathies épileptiques précoces (EEP) se manifestent par un retard de développement, une déficience intellectuelle, un électroencéphalogramme (EEG) anormal et une épilepsie.

Ces dernières années, les analyses de séquençage haut débit ont permis d'identifier de nombreux nouveaux gènes associés aux EEP. Parmi eux se trouve un groupe de gènes codant pour des sous-unités des récepteurs ionotropiques du glutamate exprimées au niveau de la synapse (*GRIN1*, *GRIN2A*, *GRIN2B*). Bien que les récepteurs métabotropiques du glutamate (GRM) soient également impliqués dans la transmission synaptique, aucun variant responsable d'EEP n'a jusqu'alors été identifié dans cette famille de gènes.

Nous décrivons un variant faux-sens homozygote du gène *GRM7*, (c.1411G > A, NM_000844, p.(Gly471Arg); Hg38:chr3: 7461618) dans une famille tunisienne consanguine dont plusieurs membres présentent une EEP. Les patients porteurs du variant à l'état homozygote présentent tous une déficience intellectuelle sévère, des troubles autistiques, une dysmorphie faciale et une épilepsie dont l'âge d'apparition varie entre 3 mois et 7 ans.

Au niveau protéique, notre variant affecte le domaine extra-cellulaire VFTD (Venus FlyTrap Domain) de fixation du glutamate. Des analyses bioinformatiques effectuées sur la structure tridimensionnelle de la protéine (RaptorX) montrent des différences architecturales entre la protéine sauvage et la protéine mutée qui pourraient perturber transmission synaptique.

Le gène *GRM7* est un acteur important de la régulation de l'excitabilité neuronale dans le système nerveux central. Les variants du gène *GRM7* jusqu'alors identifiés ont été associés à des troubles neuro-développementaux avec ou sans épilepsie (Charng et al 2016, Reuter et al 2017). Mais notre étude, ainsi que l'observation d'une hypersensibilité à l'induction pharmacologique des crises d'épilepsie d'un modèle murin KO pour le gène *mGlu7*, orthologue de *GRM7* (Sansig et al 2001), suggèrent que *GRM7* pourrait être un nouveau gène d'EEP.

#20435 : Maladies auto-inflammatoires associées à NLRP3 : caractéristiques phénotypiques et moléculaires des mutations germinales par rapport aux mutations somatiques en mosaïque

Auteurs :

Camille Louvrier (1, 2), Eman Assrawi (1), Elma El Khouri (3), Isabelle Melki (4), Bruno Copin (2), Emmanuelle Bourrat (4), Noémie Lachaume (4), Bérengère Cador-Rousseau (5), Philippe Duquesnoy (1), William Piterboth (2), Fawaz Awaz (3), Claire Jumeau (1), Marie Legendre (2), Gilles Grateau (1, 6), Sophie Georgin-Lavialle (1, 6), 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. Sorbonne Université, INSERM UMRS_933, Hôpital Trousseau, Paris, Paris, France
4. Service de Pédiatrie générale, maladies infectieuses et médecine interne pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, Paris, France
5. Service de Médecine interne, CHU Pontchaillou, Rennes, Paris, France
6. Centre de référence de la fièvre méditerranéenne familiale, DHU I2B, Service de médecine interne (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris), Hôpital Tenon, Paris, France

Mots clefs : Maladies auto-inflammatoires, NLRP3, mosaïques

Résumé :

NLRP3-AIDs (NLRP3-associated Auto-Inflammatory Diseases) sont des maladies en relation avec des mutations du gène *NLRP3* qui code pour un composant essentiel de l'inflammasome NLRP3, élément clé de l'immunité innée. Les *NLRP3-AIDs* s'expriment selon un mode autosomique dominant et comprennent plusieurs entités cliniques distinctes de sévérité croissante : i) l'urticaire familiale au froid, ii) le syndrome de Muckle Wells 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, une cinquantaine de patients présentant des mutations somatiques en mosaïque ont été rapportés dans la littérature, élargissant le spectre clinique des *NLRP3-AIDs*.

Afin de caractériser les mutations identifiées à l'état de mosaïque et de les comparer avec les mutations rapportées à l'état germinale, nous avons réinterprété toutes les mutations rapportées chez des patients présentant un phénotype *NLRP3-AID*. Nous avons également réalisé une étude approfondie de trois nouveaux patients présentant une mutation somatique en mosaïque.

Un séquençage profond par NGS et des études fonctionnelles de l'activation de l'inflammasome NLRP3 ont été réalisés pour identifier la mutation causale chez trois patients. La pathogénicité de toutes les mutations rapportées dans la littérature a été évaluée selon les recommandations internationales et en fonction de leur localisation sur la structure 3D de la protéine (90 mutations de *NLRP3* identifiées chez 277 patients).

Nous avons identifié chez trois patients, des mutations en mosaïque impactant le même acide aminé (Glu569). Ce résidu appartient à un des deux points chauds de mutation en mosaïque. De façon remarquable, sur la structure protéique en 3D, ces deux points chauds sont localisés face à face au cœur du domaine ATPase de NLRP3. Les mutations localisées au niveau de ces deux points chauds représentaient 68,5% (37/54) des patients présentant une mutation en mosaïque alors qu'elles représentaient seulement 26,9% (60/223) des patients porteurs de mutations germinales. Seulement 8/90 mutations étaient rapportées à la fois à l'état germinale et de mosaïque, et toutes ces mutations germinales étaient associées à des phénotypes sévères. Inversement, aucune des 5 mutations germinales les plus fréquentes n'a été identifiée en mosaïque chez des patients *NLRP3-AIDs*.

En conclusion, ces résultats suggèrent que les mutations identifiées uniquement en mosaïque pourraient être incompatibles avec la vie à l'état germinale, tandis que les mutations retrouvées uniquement à l'état germinale pourraient être asymptomatiques à l'état de mosaïque. Le statut germinale ou mosaïque de la mutation ainsi que sa localisation protéique déterminent la sévérité phénotypique des patients *NLRP3-AIDs*.

Pièce jointe : Louvrier et al Mosaïques NLRP3.docx

#19987 : Monosomie X en mosaïque faible : quel seuil de significativité ?

Auteurs :

Mathilde PUJALTE (1), Sara COSTANTINI (2), Gilles MORIN (2), Florence JOBIC (2), Henri COPIN (1), Guillaume JEDRASZAK (1), Noémie CELTON (3)

1. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, CHU Amiens Picardie, Amiens, France

2. Génétique Médicale, CHU Amiens Picardie, Amiens, France

3. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CHRU Tours, Tours, France

Mots clefs : monosomie X, mosaïque, IOP, FISH, valeurs seuils, aneuploïdie

Résumé :

L'Insuffisance Ovarienne Précoce (IOP) est une cause récurrente d'infertilité féminine. Le bilan étiologique génétique de première intention comprend la recherche d'une monosomie X qui peut être en mosaïque faible dans le sang.

Le diagnostic fiable d'une monosomie X en mosaïque est important car il entraîne une prise en charge spécialisée (suivi cardiologique, diagnostic prénatal). Ce diagnostic présente cependant des difficultés (perte physiologique de l'X liée à l'âge, biais de culture, limite de détection d'une anomalie en FISH) compliquant le choix du seuil pour considérer une monosomie X en mosaïque faible cliniquement significative. L'établissement de ce seuil est essentiel pour éviter les faux négatifs et faux positifs. Actuellement dans notre centre, il est fixé à 5% de cellules monosomiques quel que soit l'âge des patientes.

Nous avons souhaité évaluer la pertinence de ce seuil appliqué dans notre laboratoire. Pour cela, nous avons recruté 568 femmes de 15 à 55 ans, fertiles ou présumées fertiles pour réaliser des FISH spécifiques du centromère du chromosome X (sonde Metasystems) sur noyaux interphasiques non cultivés. Les résultats ont été analysés par tranche d'âge de 5 ans (7 classes d'âge). Au total, 70 452 noyaux ont été analysés avec un analyseur automatique d'images (Metasystems).

Le taux de monosomie X physiologique varie significativement entre 15 et 50 ans (1,20% à 2,57%, $p < 0,0001$). L'application de la loi binomiale a montré que le seuil de significativité avant l'âge de 40 ans est inférieur au seuil des 5%. En effet, pour 200 noyaux analysés, ce seuil a été établi à 3,5% entre 15 et 30 ans, à 4% entre 30 et 35 ans et à 4,5% entre 35 et 40 ans. Le seuil de significativité utilisé en routine ne paraît donc pas adapté chez les femmes de moins de 40 ans et pourrait entraîner un risque morbide pour les patientes non diagnostiquées. Cette étude montre que le seuil de significativité de la monosomie X en mosaïque faible peut être adapté à l'âge des femmes. Un suivi clinique des femmes présentant une monosomie X en mosaïque faible permettrait de préciser la pertinence de ces seuils.

Pièce jointe : Résumé monosomie X.docx

#20351 : Suivi des femmes porteuses d'une mutation du gène BRCA1 ou BRCA2 dans le groupe PHARE GRAND OUEST : focus sur les IRM classées ACR3**Auteurs :**

Charlotte HUET (1), Louise CRIVELLI (2), Philippe DENIZEAU (3), Alain LORTHOLARY (4), Olivier INGSTER (5), Marie-Emmanuelle MORIN-MESCHIN (5), Capucine DELNATTE (6), Paul GESTA (7), Séverine AUDEBERT (8), Marc PLANES (8), Edouard COTTEREAU (9), Isabelle MORTEMOSQUE (9), Florence DEMURGER (10), Brigitte de KORVIN (11), Isabelle DOUTRIAUX-DUMOULIN (12), Caroline ABADIE (6)

1. Phare Grand Ouest, Centre Eugène Marquis, RENNES, France
2. Unité d'Oncogénétique, Centre Eugène Marquis, RENNES, France
3. Service de Génétique clinique, CHU, RENNES, France
4. Service d'Oncologie Médicale, Groupe Confluent, NANTES, France
5. Unité d'Oncogénétique, Institut de Cancérologie de l'Ouest, ANGERS, France
6. Unité d'Oncogénétique, Institut de Cancérologie de l'Ouest, SAINT-HERBLAIN, France
7. Service d'Oncologie, CH, NIORT, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU, BREST, France
9. Service de Génétique, CHU, TOURS, France
10. Service de Génétique Médicale, CH, VANNES, France
11. Service d'Imagerie Médicale, Centre Eugène Marquis, RENNES, France
12. Département de radiologie, Institut de Cancérologie de l'Ouest, SAINT-HERBLAIN, France

Mots clefs : surveillance, BRCA1, BRCA2, IRM mammaire

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 (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 ayant une prédisposition génétique au cancer du sein et/ou des ovaires ou aux cancers digestifs.

Après recueil d'un consentement écrit, un programme personnalisé de suivi (PPS) est validé par l'oncogénéticien. Un système d'information (Voozanoo/Epiconcept) déclaré auprès de la CNIL permet un rappel des rendez-vous d'examens de suivi programmés selon la périodicité définie dans le PPS et des relances. Au 01/10/2019, 1023 femmes ont un dossier complet avec PPS validé et présentent une mutation constitutionnelle du gène BRCA1 (576), BRCA2 (447). Leur suivi mammaire repose sur la réalisation d'une IRM, mammographie +/- échographie annuelles à partir de 30 ans (recommandations INCa 2017). Nous rapportons les données du suivi pour lequel une IRM mammaire a été classée ACR3 de la classification BIRADS correspondant à un système de cotation des images mammaires défini par l'American College of Radiology (ACR) selon leur valeur prédictive positive (VPP) de cancer. L'ACR3 correspond à des images dont la VPP de malignité est inférieure à 2%.

Le nombre moyen d'années de suivi était de 4 (1-8). L'âge moyen à la réalisation d'IRM ACR3 était de 48 ans (28-74) pour BRCA1, 47 ans (25-71) pour BRCA2. Parmi les femmes suivies respectivement pour mutation BRCA1 et BRCA2, 10% (57/576) et 14% (64/447) ont eu au moins une IRM classée ACR3, correspondant respectivement à 4% (99/2418) et 6% (104/1883) de l'ensemble des IRM. L'ACR était non renseigné dans 7% des cas (314/4301). Une double lecture a été effectuée chez 52% des femmes. Un délai supérieur à 2 mois entre IRM et mammographie concernait 3% des femmes. L'IRM a été réalisée après la mammographie dans 6% des cas. Une synthèse IRM-mammographie existait dans 62% des cas. Vingt biopsies (35%) ont été réalisées chez les femmes BRCA1 réalisant le diagnostic de 7 cas de cancers (5 carcinomes canalaux infiltrants et 2 carcinomes canalaux in situ). Dix-huit biopsies (28%) ont été réalisées chez les femmes BRCA2 réalisant le diagnostic de 7 cas de cancers (4 carcinomes infiltrants, dont 1 lobulaire, et 3 carcinomes canalaux in situ). Le délai moyen entre l'IRM ACR3 et le diagnostic était de 2 mois. Trois des 4 femmes BRCA2 atteintes de carcinome infiltrant avaient un antécédent personnel de cancer et ont réalisé une mastectomie bilatérale.

Peu de données existent sur le suivi d'une IRM mammaire ACR3 chez des femmes porteuses de mutation BRCA. Nos résultats fournissent des informations sur la VPP pour des types spécifiques de lésions ce qui constitue pour les radiologues un enjeu important pour le suivi de ces femmes à très haut risque mammaire.

#20409 : Apport de la CGH array en diagnostic prénatal devant la mise en évidence d'une malformation du corps calleux. Etude rétrospective multicentrique d'une série française de 256 fœtus.

Auteurs :

Charlotte Caille (1), Jean-Marie Ravel (1), leila guesh (2), Françoise Devillard (3), Andreea Apetrei (4), Severine Audebert-Bellanger (5), Claire Beneteau (2), Guillaume Benoist (6), Celine Bonnet (1), Laurence Bourguignon (7), Marie-Thérèse Cheve (8), Frederic Coatleven (9), Nathalie Douet-Guilbert (5), Agnes Guichet (10), Clara Houdayer (10), Genevieve Lefort (1), Bruno Leheup (1), Mona Massoud (11), Sylvie Odent (12), Mathilde Pacault (5), Perrine Pennamen (13), Estelle Perdriolle (7), Mathilde Renaud (1), Claude Ferec (5), laetitia lambert (1), Anne-helene Saliou (14)

1. Service de génétique médicale, CHRU de Nancy, Nancy, France
2. Service de génétique médicale, CHRU de Nantes, Nantes, France
3. Département de génétique et de la procréation, CHRU de Grenoble, Grenoble, France
4. Service de génétique médicale, CHRU de Caen, Caen, France
5. Service de génétique médicale, CHRU de Brest, Brest, France
6. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Caen, Caen, France
7. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Nancy, Nancy, France
8. Service de Gynécologie-Obstétrique, CH Le Mans, Le Mans, France
9. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Bordeaux, Bordeaux, France
10. Service de génétique médicale, CHRU de Angers, Angers, France
11. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Bron, Lyon, France
12. Service de génétique médicale, CHRU de Rennes, Rennes, France
13. Service de génétique médicale, CHRU de Bordeaux, Bordeaux, France
14. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU de Brest, Brest, France

Mots clefs : CCM; array CGH; prenatal; antenatal diagnosis

Résumé :

Abstract

Objective. Callosus callosus malformation (CCM) is the most common brain abnormality found in antenatal diagnosis and it is difficult to predict its neurological prognosis. The aim of this study is to evaluate the performance of array comparative genomic hybridization (aCGH) prenatal diagnosis in corpus callosus malformations.

Methods. In this French multicenter retrospective study, 256 fetuses with corpus callosus malformation were included. All underwent invasive prenatal diagnosis, and the samples were analyzed using aCGH. CCMs were grouped depending on the presence of additional malformations affecting the brain and/or other organs and the CCM subtype.

Results. Of the 256 fetuses included, 42% had isolated CCM (iCCM). The most frequent CCM was agenesis (N=176, 69%). A total of 56 (24%) chromosomal anomalies were detected prenatally with 38% (N=21) diagnosis by aCGH only. Nine chromosomal anomalies were detected in group of iCCM and 47 of non isolated (niCCM). The risk of chromosomal anomalies is 10% for iCCM, 15% for niCCM associated cerebral malformation, 31% for niCCM associated extracerebral malformation and 54% for niCCM associated cerebral and extracerebral malformation.

Conclusion. CCM is often associated with chromosomal anomalies. This study evaluated the risk of detecting a chromosome anomaly according to whether CCM is isolated or associated with other anomalies. The results of this study are helpful for defining risk during pre-test counselling and during post-test genetic counselling prognosis and management can be more thoroughly apprehended when a specific chromosomal anomaly is detected.

Pièce jointe : Contribution of array CGH in prenatal diagnosis of foetal corpus callosus malformations.pdf

#19838 : Identification de variants cis-régulateurs du gène CFTR

Auteurs :

Mégane COLLOBERT (1), Karen ROUAULT (2, 1), Carine L'HOSTIS (3, 1), Marie-Pierre AUDREZET (2, 1), Claude FEREC (2, 1), Stéphanie MOISAN (2, 1)

1. Génétique Moléculaire et Epidémiologie Génétique, Inserm UMR 1078, Brest, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHRU de Brest, Brest, France
3. Association, Gaétan Saleün, Brest, France

Résumé :

Bien que plus de 2000 variants ont été décrits dans le gène *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator), certains patients atteints de mucoviscidose ou de formes frontières (*CFTR-Related Disorders*) ont un génotype incomplet ou présentent des phénotypes extrêmes. Le développement de techniques d'étude de la conformation chromatinienne a permis d'identifier plusieurs éléments régulateurs à distance du gène *CFTR* et impliqués dans son contrôle d'expression. L'objectif de ce projet est d'étudier l'implication de *cis-ruption*, c'est-à-dire du dysfonctionnement d'un élément régulateur, dans la mucoviscidose et une de ses formes frontières, l'ABCD (l'absence bilatérale des canaux déférents).

Chez 63 patients ABCD porteurs à l'état hétérozygote d'une mutation F508del ou porteurs d'une autre mutation, 17 régions *cis*-régulatrices du gène *CFTR* ont été séquencées. En comparaison avec la population européenne, plusieurs variants ont une fréquence allélique significativement différente. En particulier, un variant situé dans la région *cis*-régulatrice de l'intron 21 présent dans un site important de fixation du facteur de transcription HNF1a, est 40 fois plus fréquent dans ce groupe. Des tests d'activité ont été réalisés pour mesurer l'effet de cette région de l'intron 21 sur l'activité du promoteur *CFTR* dans les cellules intestinales (caco-2) et des voies respiratoires (16HBE14o-). En combinant l'enhancer de l'intron 21 et l'enhancer de l'intron 11 (fort enhancer décrit dans les cellules intestinales), un fort effet coopératif est observé sur l'activité du promoteur *CFTR* dans les cellules intestinales. Ces deux enhancers ont des sites communs de fixation de facteurs de transcription. L'insertion du variant d'intérêt dans l'enhancer de l'intron 21 montre une forte diminution de l'activité du promoteur *CFTR* dans les cellules intestinales. Ce variant inhibe l'effet coopératif entre les enhancers de l'intron 11 et 21, et pourrait affecter le recrutement d'éléments régulateurs, tels que HNF1a ou EP300. Dans les cellules pulmonaires, l'insertion du variant crée une nouvelle activité silencer. Ce variant a donc une activité régulatrice tissu-spécifique. En parallèle, pour comprendre le rôle de l'enhancer de l'intron 21 dans la régulation du locus *CFTR*, des combinaisons entre 3 enhancers spécifiques de l'intestin (intron 1, intron 11, +15,6 kb) et l'enhancer de l'intron 21 ont été réalisées. La combinaison de ces 4 enhancers augmente de manière significative l'activité du promoteur *CFTR*, 2 fois par rapport à la combinaison de 3 enhancers (sans l'intron 21).

En conclusion, certains variants significatifs ont été identifiés chez les patients atteints d'ABCD présentant un génotype incomplet, notamment un variant régulateur à activité tissu-spécifique localisé dans l'enhancer de l'intron 21 du gène *CFTR*. Cette région joue un rôle important dans la régulation du locus *CFTR* en combinaison avec 3 autres enhancers spécifiques de l'intestin.

#19893 : Rechercher la maladie de Fabry dans une population de patients douloureux chroniques est judicieux

Auteurs :

Isabelle COUPRY (1, 2), Christophe HUBERT (1), Virginie CORAND (3), Dominique GERMAIN (4), Firas JABBOUR (5), Didier LACOMBE (1, 6), Marie-Pierre BAUDIER (6, 2), Cyril GOIZET (1, 2)

1. INSERM U1211 - Laboratoire MRGM, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Centre de Référence de Neurogénétiq ue, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Unité de Coordination de la Douleur, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service de Génétique Médicale, Centre de Référence pour la maladie de Fabry, APHP Hôpital R. Poincaré, Garches, France
5. Unité Fonctionnelle de Biochimie, APHP Hôpital R. Poincaré, Garches, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Maladie de Fabry, douleur, NGS

Résumé :

The main objective of the DOUFABIS clinical trial is to evaluate the prevalence of Fabry disease in a consulting population for chronic pain in expert centers.

Fabry disease (FD, OMIM #301500) is a rare X-linked genetic lysosomal storage disease caused by deleterious mutations in the *GLA* gene encoding the lysosomal enzyme α -galactosidase A (alpha-gal). Part or all of the alpha-gal enzymatic activity is lost, resulting in lysosomal accumulation of globotriaosylceramide, and other neutral glycosphingolipids in various cells and tissues. Most of the male patients develop a severe multisystemic disease with neurological damages such as chronic pain. Women are also affected but more moderately and with a later onset of the disease. Currently, no data are available about the prevalence of FD in populations of patients suffering from chronic pains of unknown origin.

A previous pilot study (DOUFAB) conducted in Bordeaux, showed a positive case among 155 patients included from chronic pain consultations (c.1087C > T - p.R363C (exon 7)).

The actual DOUFABIS study aims to recruit 1000 patients, mainly women, through the collaboration of 20 chronic pain management centers using a clinical questionnaire.

The diagnosis of FD was based on a deficiency of alpha-gal in men and on the detection of a deleterious mutation in the *GLA* gene in women. Biochemical analyses of enzymatic activity were carried out on blotting paper. Genetic analyses were carried out using genomic DNA extracted from an Oragen saliva sample and processed by Next Generation Sequencing (NGS) on MiSeq system (Illumina). The specific region of *GLA* (30kb) was analyzed by SureSelect QXT capture. Among the 700 patients already analyzed, we could detect in a woman a new missense variant in the second exon of the *GLA* gene (c.311G > A ; p.(Gly104Asp)). This variant is absent from the gnomAD database; another substitution of the same aminoacid (Gly104Val), has been already reported; it is predicted as pathogenic by all the *in silico* prediction sites and thus can be defined as probably pathogenic (class 4 VUS). Validation of the pathogenicity by biochemical analyses is under process.

FD is a rare metabolic disease with a multi-visceral presentation, often diagnosed only after a long period of time after the onset of symptoms. The initiation of a specific treatment with enzyme replacement therapy (ERT) or with chaperone therapy, should be as early as possible, especially in affected men.

Chronic neurogenic pain is often the first symptom reported by patients, but FD is rarely diagnosed in the absence of renal, cardiac or neurovascular involvement, which is late in the course of the disease. The results of the DOUFAB/DOUFABIS studies tend to prove the importance of informing physicians specialized in the management of chronic pain to look for Fabry disease in chronic painful patients to reduce diagnostic delays and allow for the rapid implementation of a specific therapy.

Pièce jointe : Abstract Doufabis Assises Tours 2020.docx

#20224 : Exon cryptique E1' de VHL : une nouvelle famille avec mutation hétérozygote composite de VHL dans la polyglobulie de Chuvash**Auteurs :**

Amira Mohamed (1), Morgane Pertuit (2), Isabelle Thuret (3), Frédérique Albarelle (4), Catherine Badens (5), Anne Barlier (2)

1. Service de Biologie moléculaire-Pr Anne Barlier, Hopital de la Conception-APHM, Marseille, France
2. Service de Biologie Moléculaire - Pr Anne Barlier, Hopital de la Conception-APHM, Marseille, France
3. Service Hemato-Onco-pédiatrie-Pr Michel, Hopital de la Timone-APHM, Marseille, France
4. Service d'Endocrinologie-Pr Brue, Hopital de la Conception-APHM, Marseille, France
5. Service Génétique- Pr Levy, Hopital de la Timone-APHM, Marseille, France

Mots clefs : VHL, Polyglobulie , Oncogenetique

Résumé :

La polyglobulie de Chuvash est une maladie autosomique récessive impliquant le gène *VHL*. Néanmoins plusieurs cas avaient été rapportés dans la littérature de variant allélique de *VHL* retrouvé à l'état hétérozygote. Ces variants étaient pourtant situés dans la zone du gène classiquement impliquée dans la polyglobulie de Chuvash.

Très récemment l'équipe de Gardie et al., (Blood, 2018) a identifié des variants alléliques en intronique profond, responsables d'une rétention excessive d'un exon E1' cryptique, situé entre les exons 1 et 2 du gène. La rétention excessive de cet exon E1' entraîne une sous expression de la protéine VHL, une surexpression de HIF et une perturbation de la voie hypoxique impliquée dans l'érythrocytose .

Nous rapportons ici une nouvelle famille dont le cas index présentait une polyglobulie congénitale non expliquée alors que sa sœur, fausse jumelle, était indemne de la maladie ainsi que son frère. Le séquençage des 3 exons de *VHL* avait montré il y a 10 ans la présence du variant (NM_000551.3) p.Pro192Arg (c.575C > G) chez elle et chez sa sœur. Ce variant avait été classé alors comme « de signification inconnue ». La recherche de délétion de grande taille de *VHL*, de mutation dans la zone promotrice de *VHL*, de *EPAS1*, *MDH2* chez le cas index s'était avérée négative.

Très récemment, par séquençage de l'exon cryptique E1' de *VHL* nous avons mis en évidence chez le cas index, un variant c.340+770T > C classé dans la publication initiale de Gardie et al., comme « pathogène ». Ce variant n'était pas retrouvé chez sa sœur indemne. Il s'agit donc d'une nouvelle association d'une mutation hétérozygote composite de *VHL* non encore rapportée c.[575C > G(;) 340+770T > C] (NM_000551.3, p.Pro192Arg ; XP_011532380.1, X1, c.535T > C, p.Ser179Pro).

Chez les patients porteurs d'une érythrocytose avec mutation hétérozygote de *VHL*, ce nouveau cas démontre la nécessité de rechercher des anomalies « non conventionnelles » de *VHL* telle que celle située en intronique profond dans l'exon cryptique E1'.

#19874 : Fœtopathie liée aux variants pathogènes de KIAA1109 : une nouvelle entité mimant les tubulinopathies**Auteurs :**

Sara Cabet (1), Audrey Putoux (2, 3), Annie Buenerd (4), Lucie Gueneau (5), Alexandre Reymond (5), Edwin Thia W.H. (6), Angeline Lai H.M. (7), Erica M. Schindewolf (8), Damien Sanlaville (2, 3), Gaetan Lesca (2, 3), Laurent Guibaud (1, 9)

1. Service d'Imagerie pédiatrique et fœtale, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. équipe GENDEV, CRNL, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
4. Service d'anatomopathologie, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. Centre Intégratif de génomique, Centre Intégratif de génomique, Lausanne, Suisse
6. Service de Médecine fœtale et maternelle, KK Women's & Children's Hospital, Singapour, Singapour
7. Service de génétique, KK Women's & Children's Hospital, Singapour, Singapour
8. Centre de diagnostic anténatal et prise en charge, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphie, Etats-Unis
9. Centre de compétence des malformations vasculaires superficielles, filière FAVA-Multi et Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Mots clefs : lissencéphalie, zone germinative, malformation cérébrale, KIAA1109, tubulinopathie, imagerie anténatale

Résumé :

La lissencéphalie est une malformation corticale définie par une simplification de la gyration donnant un aspect lisse au cortex cérébral. Le terme de microlissencéphalie est employé en cas d'association à un périmètre crânien anormalement petit. La microlissencéphalie reflète une réduction du pool des progéniteurs neuronaux *in utero* pouvant être d'origine génétique. Parmi les causes génétiques de microlissencéphalie, la forme clinique la plus sévère des tubulinopathies associe microlissencéphalie, agénésie du corps calleux, volumineuses zones germinatives et dysgénésie du tronc cérébral et du cervelet. Cette association de malformations cérébrales était spécifique des tubulinopathies jusqu'à la découverte récente du syndrome Alkuraya-Kucinskas (OMIM # 617822), forme la plus sévère des atteintes liées aux variants pathogènes du gène *KIAA1109*. Notre travail a pour but de décrire précisément les anomalies anténatales liées aux variants pathogènes de *KIAA1109* en donnant les éléments clefs permettant de le différencier des formes sévères de tubulinopathie.

Nous rapportons les observations de cinq nouveaux-nés et deux fœtus, issus de quatre familles indépendantes, porteurs d'un syndrome polymalformatif de transmission autosomique récessive létal dans les premiers jours ou mois de vie. Le diagnostic génétique a été posé grâce au séquençage d'exome qui a révélé des variants bialléliques faux-sens ou tronquants de *KIAA1109*. L'imagerie anténatale (échographie et IRM) mettait en évidence des malformations à l'étage encéphalique chez tous les cas : ventriculomégalie sévère, agénésie du corps calleux, atrophie parenchymeuse, amincissement cortical, lissencéphalie, agénésie vermiennne et deux anomalies plus spécifiques représentées par une dysplasie du tronc cérébrale en « Z » et de volumineuses zones germinatives au sein desquelles seraient « retenus » les progéniteurs neuronaux. L'autopsie réalisée dans deux cas a confirmé ces données et a complété le tableau par la mise en évidence d'anomalies de la migration neuronale. Ce tableau malformatif se rapproche donc étroitement de celui des formes les plus sévères des tubulinopathies. Une étude attentive de la dysplasie du tronc cérébral, asymétrique dans les tubulinopathies, s'avère informative. Les signes extra-cérébraux observés dans nos sept cas (pieds bots, contractures, malformations cardiaques et ophtalmologiques) sont quant à eux absents dans les tubulinopathies.

Notre travail permet donc une description précise des données anténatales des fœtopathies liées aux variants du gène *KIAA1109* et notamment à l'étage encéphalique en révélant les similitudes qu'elles présentent avec les formes sévères de tubulinopathies. Nous définissons également les éléments morphologiques clefs permettant de différencier ces deux fœtopathies génétiques.

#20107 : La transmission de l'information génétique aux apparentés au cours de la prise en charge pluridisciplinaire du syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire.

Auteurs :

Jean-Michaël MAZZELLA (1), Salma ADHAM (2), Michael FRANK (1), Anne LEGRAND (1), Khadija LAHLOU-LAFORET (1, 3), Xavier JEUNEMAITRE (1)

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 , syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire , prise en charge pluridisciplinaire

Résumé :

Le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SEDv) est une maladie héréditaire prédisposant à la survenue de complications artérielles, digestives et utérines. L'identification de variants pathogènes du gène *COL3A1* permet en premier lieu la prise en charge pluridisciplinaire des patients au sein d'un centre de référence, mais également par la suite d'initier le dépistage familial, à condition que les apparentés aient été préalablement informés selon le décret n°2013-527.

Les objectifs de notre étude étaient d'évaluer d'une part la transmission effective de l'information génétique aux apparentés à risque et d'autre part l'impact de l'annonce diagnostique réalisée par une équipe pluridisciplinaire médicale, psychologique et de conseil génétique. Ce travail fait suite à une étude présentée lors des Assises de Génétique en 2018. A la lumière de nouvelles données collectées, nous avons émis l'hypothèse d'un lien entre la prise en charge pluridisciplinaire, le vécu de la maladie et la capacité à transmettre l'information à la parentèle.

Un total de n=51 cas-index majeurs atteints de SEDv ont répondu à un auto-questionnaire lors d'une consultation pluridisciplinaire de suivi ou d'une hospitalisation. La transmission de l'information était considérée comme effective si le cas-index avait informé certains ou tous ses apparentés, et aisément réalisée s'il avait informé sans difficulté l'ensemble de ses apparentés, moins d'un mois après l'annonce diagnostique. Les aspects personnels et familiaux du vécu du SEDv ont également été évalués.

Au sein de cette cohorte, la transmission effective de l'information aux apparentés est très importante (98%), sans différence significative avant et après 2013, année de publication du décret. Ce sont les membres de la fratrie qui ont été le plus fréquemment informés (82%). Les femmes ont informé leurs apparentés à risque plus rapidement ($p=0.006$) et plus aisément ($p=0.04$) que les hommes. Concernant le ressenti psychologique des cas-index, ils ont éprouvé de l'anxiété lors de l'annonce diagnostique (78%), mais ont également estimé que ce diagnostic offrait la possibilité de débiter une prise en charge pluridisciplinaire adaptée à leur risque (82%), mettant fin à une période d'errance. Nos résultats révèlent par ailleurs que la capacité à transmettre aisément l'information aux apparentés à risque est liée au sentiment de soulagement éprouvé lors de l'annonce du diagnostic génétique positif ($p=0.04$), induit par le soutien psychologique prodigué par l'équipe pluridisciplinaire.

Ces résultats soulignent l'importance de la prise en charge pluridisciplinaire, qui semble être un facteur favorisant la communication aux apparentés. Afin d'améliorer la transmission de l'information aux apparentés, nous proposons que le soutien psychologique soit systématiquement proposé aux patients tout au long de leur prise en charge, au même plan que le suivi médical ou le conseil génétique.

Pièce jointe : Abstract transmission Assises 2020_SAM_JMM_18102019.docx

#19804 : Polymorphisme Insertion / Délétion du gène ACE et diabète de type 2 : étude cas-témoins

Auteurs :

Sabah Hanachi (1, 2), khalida Boudaoud (3, 2), Karima Sifi (1, 2), Salima Zekri (1), Karima Benembarek (1, 2), Noredine Abadi (1, 2)

1. laboratoire de biochimie, CHU Constantine, Constantine, Algérie

2. Laboratoire de biologie et génétique moléculaire, Faculté de médecine.Université Salah Boubnider Constantine 3, Constantine, Algérie

3. service d'endocrinologie, CHU Constantine, Constantine, Algérie

Mots clefs : Polymorphisme I/D, PCR, gène ACE, diabète de type 2, étude cas-témoins.

Résumé :

Introduction

Le diabète de type 2 est une maladie complexe représentant entre 90 et 95% de tous les type de diabète. Le polymorphisme Insertion / Délétion (I / D) du gène ACE, a été suggéré comme étant associé à la coronaropathie et à la néphropathie du diabétique de type 2. Des études d'association du polymorphisme I / D du gène ACE et du diabète de type 2 dans diverses populations ont donné des résultats contradictoires.

Le but de la présente étude est d'évaluer la fréquence de ce polymorphisme chez les patients diabétiques et non diabétiques de la population de l'Est l'Algérien.

Patients et méthodes

Pour tenter d'examiner le rôle du polymorphisme I/D du gène ACE dans le diabète de type 2, nous avons mené une étude cas-témoins dans l'est de l'Algérie. Au total, 30 patients atteints de diabète de type 2 et 60 témoins ont été analysés.

Une réaction en chaîne de la polymérase (PCR) a été réalisée pour identifier tous les génotypes.

Un consentement éclairé a été obtenu de tous les participants à l'étude.

Résultats

Les fréquences de génotype II, ID et DD étaient respectivement de 0%, 22, 58% et 77, 42%% dans le groupe de malades et de 1,56%, 56,25% et 42,19% dans le groupe de témoins. La fréquence du génotype DD était significativement plus élevée chez les malades que chez les témoins, OR = 4,70 (1,62 - 14,11) P = 0,003),

Conclusion

Le génotype DD est associé à une susceptibilité accrue au diabète de type 2 dans notre population. Nous pensons qu'il est nécessaire de mener des études plus vastes sur ce polymorphisme pour confirmer nos résultats.

Pièce jointe : abstract 2 assises de génétique 2020.docx

#20505 : Le PNDS Trisomie 21 est enfin sorti. Nouvelles recommandations pour une meilleure prise en soins des personnes porteuses de trisomie 21.**Auteurs :**

Renaud Touraine (1), Bénédicte de Fréminville (2), Julie Reversat (3), Céline Dampffoffer (4), Damien SANLAVILLE (5), et relecteurs rédacteurs (6)

1. Service de génétique, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France
2. Trisomie 21 France, Conseil scientifique T21, Saint Etienne, France
3. Service de génétique, CHU de Lyon, Lyon, France
4. Filière AnDDI-rares, CHU de Lyon, Lyon, France
5. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Lyon,, HCL, Lyon, France
6. Groupe PNDS T21, Filières de Soins Maladies Rares, Lyon, France

Mots clefs : Trisomie 21, PNDS, Recommandations, Filière AnDDI-rares

Résumé :

La trisomie 21 (ou Syndrome de Down) est un syndrome génétique « devenu rare ». En effet la majorité des fœtus porteurs de trisomie 21 sont diagnostiqués en période prénatale suite à la politique de dépistage proposée en France. Il s'agit néanmoins de la première cause de déficience intellectuelle (de l'ordre de 1/2000 naissances). Selon les données de l'Agence de la Biomédecine, il naît environ 500 enfants porteurs de trisomie 21 chaque année. Le nombre des Personnes Porteuses de Trisomie 21 (PPT21) est estimé à 50 000 en France. L'espérance de vie d'une personne porteuse de trisomie 21 est estimée à 60 ans en 2019. Les PPT21 ont généralement une bonne insertion sociale et peuvent même, pour certaines, travailler en milieu ordinaire. Il est donc important de soutenir les familles et proposer une prise en soins médicale, paramédicale, sociale et éducative la plus adaptée possible.

C'est dans ce contexte que la filière de santé Anomalies du Développement et syndromes malformatifs avec ou sans Déficience Intellectuelle de causes Rares (AnDDI-Rares), en collaboration avec des spécialistes d'autres filières, a rédigé le Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS).

La trisomie 21 est responsable de nombreuses malformations et comorbidités et nécessite une prise en soin adapté. Ainsi il a fallu un peu plus de 3 ans en mobilisant 28 rédacteurs et autant relecteurs pour finaliser ces recommandations. Le PNDS aborde le diagnostic, les prises en charge médicales et paramédicales, le suivi médical et paramédical ainsi que des arbres décisionnels et des tableaux de suivi clinique et biologique. Au total dix-sept chapitres médicaux et 4 chapitres paramédicaux ont été rédigés. Parmi les points importants sont soulignées des complications peu connues comme l'expression de la douleur, le syndrome bucco-facial, les apnées obstructives du sommeil, les troubles ostéo-articulaires ou encore la dépression même chez les adolescents. Les évolutions de fréquence des complications ont été ajustées suite au dépistage prénatal, par exemple une diminution importante d'enfant naissant avec une cardiopathie complexe. Des recommandations sont également faites concernant les outils utilisés pour évaluer la cognition et la possible évolution démentielle après 35 ans. La surveillance biologique a également été révisée.

Il nous semble important de communiquer sur la parution de ce PNDS car les patients porteurs de trisomie 21 sont amenés, non seulement à être reçus, par tous généticiens, mais aussi les pédiatres, généralistes et spécialistes. Proposer un suivi adapté est une condition importante pour permettre la meilleure inclusion de ces personnes dans notre société.

#19945 : La dermatite atopique associée à la microdélétion 10q21.2 n'est pas restreinte à la population asiatique. Présentation d'un premier cas syndromique caucasien et revue de la littérature

Auteurs :

Khaoula ZAAFRANE-KHACHNAOUI (1), Christine CHIAVERINI (2), Véronique DUBOC (1), Stéphanie MANCEAU (1), Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER (1), Houda KARMOUS-BENAILLY (1)

1. génétique médicale, CHU de Nice, Nice, France

2. Centre de référence des maladies rares de la peau et des muqueuses d'origine génétique- Sud, Service de dermatologie, CHU de Nice, Nice, France

Mots clefs : dermatite atopique, troubles du développement, microdélétion 10q21.2, syndrome

Résumé :

La dermatite atopique est une maladie inflammatoire chronique touchant 10% à 15% des nourrissons, qui peut parfois être révélatrice de syndromes génétiques, tels qu'un déficit immunitaire ou le syndrome de Dubowitz.

Nous rapportons l'observation d'un enfant de 4 ans adressé en consultation de dermatologie pour un eczéma sévère évoluant depuis l'âge de 8 mois. Dans ses antécédents on retrouvait un retard de langage massif et un trouble de la psychomotricité suivis au CAMSP, avec une IRM cérébrale normale à 1 an, un asthme du nourrisson et des allergies alimentaires. A la naissance, il avait une dysplasie des hanches et des extrasystoles diagnostiquées en prénatal sans autres anomalies cardiaques associées. Les parents rapportaient la notion d'un mutisme sélectif sans trait autistique évident. L'examen retrouvait, en plus d'une xérose cutanée importante et des lésions diffuses d'eczéma, une dysmorphie faciale, un pectus carinatum et des pieds plats. La croissance staturo-pondérale était normale avec un périmètre crânien à +1.5DS. L'eczéma était mal contrôlé par une association de crèmes émollientes et de corticostéroïdes forts.

Au vu de cette association syndromique, une ACPA (plateforme Agilent 4 X 180K) a été indiquée de première intention et a mis en évidence une délétion hétérozygote interstitielle *de novo* d'environ 6.5 Mb de la région 10q21.1-10q21.3 du bras long d'un chromosome 10. Cette anomalie pourrait expliquer en partie les signes cliniques que présente notre patient, notamment le retard de langage et la dermatite atopique. A notre connaissance, il n'a jamais été rapporté un remaniement de cette région du chromosome 10 identique au nôtre. En revanche, des patients ayant des délétions chevauchantes et contenant le gène *ANK3*, présentent à différents degrés une déficience cognitive, un déficit de l'attention avec hyperactivité ou un autisme. De même, des études d'association portant sur des populations asiatiques ont démontré l'implication significative de la région 10q21.2 comme facteur de susceptibilité dans la survenue de dermatite atopique avec 3 gènes candidats intervenant dans la réponse immunitaire : *ADO* et *EGR2* jouent un rôle dans la régulation des cellules lymphocytaires T et le gène *ZNF365* qui a une action sur la cytokinèse des cellules immunitaires. Le gène *EGR2* est également lié à une forme autosomique dominante de Charcot-Marie-Tooth (type1D). Le patient bénéficiera d'un électromyogramme en cas de symptomatologie neuromusculaire.

Nous décrivons à travers cette observation un nouveau syndrome microdélétionnel de gènes contigus jamais rapporté à notre connaissance et nous apportons un argument de plus en faveur de l'implication de la région 10q21.2 dans les dermatites atopiques. Nous faisons également appel à la collaboration pour rassembler d'autres cas similaires, afin de mieux caractériser le phénotype associé à ce remaniement, et mieux définir ce nouveau syndrome.

#20026 : Outils de formation et d'information déployés par la filière AnDDI-Rares autour du séquençage haut débit en lien avec le PFMG2025

Auteurs :

Céline Dampfhooffer (1), Laurent Demougeot (2), Lilia Ben Slama (3), Annick TOUTAIN (4), Anne-Sophie DENOMME-PICHON (5), Tania ATTIE-BITACH (6), Bénédicte Gerard (7), Evan GOUY (8), Amélie Piton (9), Pascale Saugier-Weber (10), Kévin Yauy (11), Julien Thevenon (12), Damien Sanlaville (13, 1), David Genevieve (14, 15), Sandra Mercier (16), Sylvie Odent (17, 18), Laurence Faivre (19, 20)

1. Filière de santé AnDDI-Rares, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Filière AnDDI-Rares, CHU de Dijon, Dijon, France
3. Filière de santé AnDDI-Rares, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs Région Ouest, CHU de Tours, Tours, France
5. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs Région Est, CHU de Dijon, Dijon, France
6. Société Française de Fœtopathologie (SoFFoet), Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
7. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs Région Est, Chu de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs Région Est, CHU de Reims, Reims, France
9. Laboratoire de diagnostic génétique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Rouen, Rouen, France
11. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs Région Sud-Ouest-Occitanie-Réunion, CHU de Montpellier, Montpellier, France
12. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs Région Sud-Est, CHU de Grenoble, Grenoble, France
13. Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
14. Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Département de génétique médicale, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
15. Filière de santé AnDDI-Rares, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
16. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs Région Ouest, CHU de Nantes, Nantes, France
17. Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Service de génétique clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
18. Filière de santé AnDDI-Rares, CHU de Rennes, Rennes, France
19. Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Centre de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
20. Filière de santé AnDDI-Rares, CHU de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Formation, NGS, PFMG2025

Résumé :

Dès sa création, la filière AnDDI-Rares s'est donnée pour objectif de former et d'informer le plus grand nombre de personnes au transfert vers l'arrivée du séquençage haut débit (SHD) en particulier pangénomique en diagnostic, véritable tournant technologique ayant permis une réduction massive de l'errance diagnostique. Plusieurs initiatives ont été mises en place pour différents publics.

Pour répondre à des besoins de formation des personnels médicaux et paramédicaux, la filière a mis en place dès 2017 le DIU « Diagnostic de précision et médecine personnalisée » dans le contexte d'une médecine personnalisée en plein essor et la mise en place du Plan France Médecine Génomique 2025. Les filières AnDDI-Rares et DéfiScience, en collaboration avec l'ANPGM et l'AFGC, ont organisé une formation gratuite « SHD et Médecine Génomique en différents niveaux » axée autour de 4 thématiques, la génétique clinique, la génétique moléculaire, l'éthique (validée DPC), et la bioinformatique, avec des contenus différents selon le niveau (de débutant à confirmé). Devant la forte demande, 3 sessions ont été réalisées, regroupant plus de 300 participants. AnDDI-Rares a déployé de nombreuses autres initiatives autour du SHD, comme la mise en ligne d'un forum d'échange sur les variants biologiques, sur les difficultés éthiques rencontrées, des propositions en e-learning avec des modules pour s'exercer à l'interprétation d'exome ou la mise en place d'un MOOC de bioinformatique. Un projet de sensibilisation des médecins spécialistes aux difficultés entraînées par la prescription et le rendu de résultat d'un séquençage pangénomique est en cours de réflexion.

Pour les professionnels non-initiés, les patients et leur famille, la filière a réalisé des films animés intitulés « Diagnostic des maladies rares: apport du séquençage de nouvelle génération », « Les données secondaires issues du séquençage haut débit du génome », ou encore « Médecine génomique et séquençage haut débit ». Ces films expliquent, avec des mots simples, ce qu'est le génome, le séquençage, son apport dans le diagnostic des maladies rares et les différents résultats possibles. La filière a aussi édité une plaquette d'information qui explique le séquençage et qui peut être remis en consultation (« Le séquençage haut débit de l'exome »), et un guide de préparation à la consultation de génétique (« Guide de la consultation de médecine génomique : prescription et annonce diagnostique de résultats obtenus par séquençage haut débit pangénomique dans les maladies rares »).

Les différentes actions de la filière souhaitent répondre aux besoins de formation et d'information de l'ensemble de ses membres et du grand public devant l'essor du SHD et la révolution diagnostique qui en découle.

Pièce jointe : Assises 2020-Dampfhooffer-AnDDI-Rares.pdf

#20168 : L'apport des analyses fonctionnelles de variants rares du gène CFTR dans le cadre du diagnostic d'expertise et du conseil génétique de la mucoviscidose.

Auteurs :

Fanny VERNEAU (1), Anne BERGOUIGNOUX (1, 2), Jessica VARILH (3), Karine DELETANG (3), Jean-Pierre ALTIERI (1), Souphatta SASORITH (4, 3), Corinne BAREIL (4, 3), Magali TAULAN-CADARS (3), Caroline RAYNAL (4, 3)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. EA 7402, Université de Montpellier, Montpellier, France
3. EA7402 - Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, Université de Montpellier, Montpellier, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : CFTR, diagnostic d'expertise, variants de signification inconnue, études fonctionnelles, conseil génétique

Résumé :

Objectifs : La mucoviscidose est l'une des premières indications de tests génétiques et de diagnostic prénatal ou préimplantatoire parmi les maladies monogéniques. Grâce aux évolutions des techniques de diagnostic, le nombre de variations de séquence identifiées sur le gène *CFTR* est en constante augmentation. De nombreux variants rares, dont l'impact pathogène n'est pas toujours défini, sont ainsi rapportés. En tant que laboratoire de référence au sein du Réseau français GenMucoFrance, nous sommes spécialisés dans l'identification de ces variants rares au niveau régional et national. Lorsque leur pathogénicité est inconnue, nous utilisons un ensemble de tests *in vitro* dans des lignées cellulaires immortalisées ou *ex vivo* à partir de cellules épithéliales nasales, dans le cadre de leur caractérisation fonctionnelle.

Méthodes : L'impact des variants de la séquence promotrice de *CFTR* sur la transcription est évalué dans un vecteur d'expression de la luciférase sous la dépendance du promoteur minimal de *CFTR*. Le système de minigène pSPL3 permet d'évaluer l'impact de variants exoniques et introniques sur l'épissage et les vecteurs d'expression pcDNA3-CFTR et pTracer-CFTR, contenant la séquence codante de *CFTR*, sont utilisés pour quantifier le taux de protéine et son niveau de maturation.

Résultats : Depuis 2015, nous avons testé 39 variants *CFTR* (27 exoniques, 11 introniques et 1 variant du promoteur), dans un contexte de suspicion de pathologie du CFTR (n=13), de suspicion fœtale de mucoviscidose (n=7), d'analyse de conjoints d'apparentés (n=6) ou de malades (n=7) et suite à la découverte fortuite lors d'analyses familiales (n=6). Seul le variant c.2758G > A (p.(Val920Met)) a montré un impact sur l'épissage de *CFTR*. Parmi les 36 variants n'ayant pas d'impact sur l'épissage de *CFTR*, 5 variants exoniques, sur 10 testés à ce jour, entraînent une diminution de la quantité de la protéine. Enfin, Nous n'avons pas observé de diminution de la transcription liée au variant du promoteur c.-19A > C.

Ainsi, ces études *in vitro* ont permis de poser le diagnostic de mucoviscidose de 3 enfants issus du dépistage néonatal et de proposer un conseil génétique adapté à leur famille. Douze couples ont pu être rassurés quant à leur risque d'avoir un enfant atteint de mucoviscidose et nous avons proposé de poursuivre l'analyse moléculaire chez 3 patients porteurs de variants introniques dont la pathogénicité n'a pas été confirmée.

Conclusion : Bien que des expériences complémentaires soient nécessaires pour évaluer l'impact des variants faux-sens sur l'activité ou la stabilité transmembranaire du canal CFTR, les études fonctionnelles mises en œuvre permettent d'améliorer la prise en charge des patients et de proposer un conseil génétique adapté aux familles dans le cadre de notre activité de diagnostic d'expertise.

Pièce jointe : Resume_Assises-2020_Verneau.doc

#20563 : Etude d'un anneau du chromosome 21 par CGH Array : A propos d'un cas

Auteurs :

Maha Ben Jemaa (1), Sarra Dimassi (2), Latifa Lassoued (3), Ayda Bannour (4), Hamza hadj Abdallah (5), Soumaya Mougou-Zerelli (6), Hedi Khairi (7), Ali Saad (6)

1. Laboratoire d'histologie embryologie, Faculté de Médecine de Sfax, Université de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, CHU Farhat Hached Sousse, Sousse , Tunisie
3. Service de gynécologie-obstétrique, CHU Farhat Hached Sousse, Sousse, Tunisie
4. Laboratoire de Cytogénétique, Faculté de Médecine Ibn El Jazzar, Université de Sousse, Sousse, Tunisie
5. Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, CHU Farhat Hached Sousse, Sousse, Tunisie
6. Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, CHU Farhat Hached Sousse, sousse, Tunisie
7. Service de gynécologie-obstétrique, CHU Farhat Hached Sousse, sousse, Tunisie

Mots clefs : ring 21, avortements à répétition, FISH, CGH Array

Résumé :

Introduction :

Les anneaux chromosomiques sont des anomalies chromosomiques rares avec une fréquence estimée à 1/25000 conceptions. Dans plus de 50% des cas ces anneaux chromosomiques impliquent les chromosomes acrocentriques.

Patients et méthodes :

Nous rapportons le cas d'une patiente âgée de 32 ans qui consulte pour des avortements à répétition. La patiente a une fille de 4 ans en bonne santé. Elle a bénéficié d'un caryotype sur lymphocytes sanguins en bandes R, d'une hybridation *in-situ* fluorescente (FISH) et d'une hybridation génomique comparative sur puce à ADN (CGH array).

Résultats

Le caryotype a mis en évidence la présence d'un chromosome 21 en anneau en mosaïque : 46, XX, r (21) [18] /45, XX, -21 [1]. La FISH utilisant la sonde subtélomérique en 21q (D21S1446) a montré une délétion de cette région chromosomique. La CGH array avait conclu à une délétion en 21q22.3 de 2,34 Mb.

Discussion :

Les anomalies télomériques (délétions ou fusions) ont été le plus souvent incriminées dans le mécanisme de formation des anneaux chromosomiques. Ils sont le plus souvent décrits en mosaïque, étant donné leur instabilité.

Le phénotype associé au r (21) est variable dépendant essentiellement de la présence ou non d'une délétion et son contenu en gènes. Il peut associer : un syndrome dysmorphique, un tableau polymalformatif, un déficit intellectuel, un retard psychomoteur, un retard staturo-pondéral ou des troubles de la fertilité à type d'azoospermie ou d'avortements à répétition.

Notre patiente porte en plus une délétion en 21q22.3. Cette délétion contient plusieurs gènes dont *CFAP410*, *COL6A2*, *PCNT*, *ITGB2* connus impliqués dans la formation du cytosquelette, la réparation de l'ADN, le maintien de la matrice extracellulaire, mais également le fonctionnement des cellules du système immunitaire et la synthèse des immunoglobulines. La délétion de ces gènes pourrait être responsable des avortements chez notre patiente.

#20518 : Intérêt d'une prise d'essai de 3ml versus 1ml de plasma, en entrée d'une technique d'extraction d'ADN tumoral circulant : essai comparatif à partir des plasmas de 24 patients atteints de cancers.

Auteurs :

Thomas Denize (1), Karine Auribault (2), Hélène Blons (1, 3)

1. Biochimie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Service de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
3. UMR S1138, INSERM, Paris, France

Mots clefs : Cancer, ADN tumoral circulant, KRAS, NRAS, EGFR, NGS, Extraction

Résumé :

Dans le contexte de la prise en charge biologique des cancers (poumon, colon, pancréas), le séquençage de l'ADN tumoral circulant présente un potentiel diagnostique et pronostic. Dans le but d'augmenter la sensibilité relative de ces séquençages, nous avons mesuré l'intérêt d'une augmentation de prise d'essai de 1 mL (extracteur Maxwell, Proméga, France) à 3 mL (extracteur Chemagic 360, Perkin Elmer) pour l'extraction d'ADN circulant. Pour cet essai comparatif, 24 patients atteints de cancers : colorectaux (N=5), pancréatiques (N=1), pulmonaires (N=18) ont été choisis, l'ADN circulant extrait à partir de 1 mL, puis d'autre part à partir de 3 mL. Les ADN extraits ont été dosés par fluorimétrie, (Qbit, Life Technologies), puis séquencés au moyen d'un panel Ampliseq (Panel colon lung V2 Ion Ampliseq cancer research, Thermofisher) sur instrument Proton (Thermofisher, France), profondeur moyenne 14000 lectures. Initialement les quantités d'ADN circulant obtenues variaient de 7.8 à 52 ng pour 1 mL de plasma, 11 patients présentaient des profils non mutés, 12 mutés (1 échantillon non interprétable). En portant à 3 ml le volume de plasma extrait, il a été observé une augmentation significative (> 2 fois) de la quantité d'ADN circulant extrait, pour les patients dont la quantité totale d'ADN circulant initiale était supérieure à 20ng/mL de plasma, soit 13 patients. En séquençage 1 patient extrait sur Maxwell contre 3 sur Chemagic 360 sont non interprétables, et le profil mutationnel de 14 patients est inchangé, 4 patients présentent un gain de mutations dont 3 EGFR, 1 SMAD4 d'intérêt clinique. Pour trois patients une perte d'information est observée, dont 1 del19 EGFR présente initialement à 0.3%, 1 KRAS présente à 0.6% et 1 EGFR T790M présente à 4%. Les résultats préliminaires sont en faveur du passage des volumes extraits de 1 à 3mL pour augmenter les chances de détection de mutations type EGFR, KRAS, NRAS, dans l'ADN plasmatisque circulant de patients atteints de cancers, tout en affinant les stratégies d'analyse pour comprendre et minimiser le risque de perte d'information sur la détection des mutations présentes avec de faibles ratios alléliques.

Pièce jointe : Abstract assises 2020.docx

#20449 : Stratégie de priorisation de variants après séquençage ciblé de l'ADN

Auteurs :

Emmanuel Gilson (1), Virginie Chesnais (1), Ségolène Diry (1), Eric Ginoux (1)

1. R&D, Life and Soft, Le Plessis-Robinson, France

Mots clefs : NGS, variants prioritization, machine learning

Résumé :

La démocratisation du séquençage à haut-débit a comme conséquence l'accumulation d'une quantité importante de données nécessitant une analyse approfondie. Ainsi, il est nécessaire de générer des pipelines permettant de i. filtrer et aligner les séquences de bonne qualité, ii. Réaliser les appels de variants, iii. annoter ces variants selon différents critères et iv. hiérarchiser les variants selon ces annotations. Cette dernière étape est cruciale : c'est elle qui va permettre de définir quels sont les variants d'intérêt. Nous avons choisi une approche basée sur un algorithme de machine learning, exploitant l'information contenue dans les annotations générées par le pipeline bioinformatique pour construire une frontière de décision séparant les variants d'intérêts du reste.

Chaque variants est ainsi caractérisé par 25 annotations de type continue ou catégorielle et pouvant être classées en 3 groupes principaux : les *annotations qualitatives* telles que la qualité des bases alternatives, la profondeur à la position et des métriques concernant l'environnement génomique des variants ; les *annotations fonctionnelles* telles que la présence des variants dans des bases de données publiques et des scores de prédiction de l'impact sur la protéine ; les *annotations quantitatives* telle que les fréquences alléliques des variants. Dans un souci de performance pure, nous avons choisi un modèle d'ensemble pour réaliser la classification des variants à partir de ces annotations. Le LightGBM (1), combine la prédiction de plusieurs estimateurs (des arbres de décision) construits grâce à une stratégie de boosting (chaque nouvel estimateur est construit sur la 'pseudo-erreur' des précédents estimateurs) et a pour principaux avantages d'être hautement paramétrable et performant.

Nous avons validé notre approche de classification de variants sur deux jeux de tests indépendant. Sur le premier jeu de données correspondant à des données de séquençage ciblé obtenu à partir de cellules mononuclées médullaire, nous avons obtenu sur jeu de test un score F1 de 0.851 et une aire sous la courbe (AUC) ROC est de 0.952, témoignant d'une bonne séparation des variants d'intérêts. Sur le deuxième jeu de données issus du séquençage d'ADN circulant plasmatique de patients porteur de différents types de cancer, nous avons obtenus un score F1 de 0.5 et une AUC ROC de 0.871, validant également les performance de notre approche.

Cette étude nous a permis de mettre en place un modèle statistique permettant de réaliser des hiérarchisations de variants dans deux contextes biologiques différents. Néanmoins, les caractéristiques des variants d'intérêt changent selon le type de problème. Jusqu'à présent nous avons entraîné notre modèle sur des jeux de données représentatifs d'un problème spécifique. La capacité de notre modèle à généraliser doit être ainsi mesuré, ce qui fera l'objet de travaux futurs.

#20470 : Rhabdomyolyses avec acidose lactique majeure en rapport avec une mutation du gène *FDXL1*

Auteurs :

Alice Rouyer (1), Benedicte Heron-Longe (2), Benoit Rucheton (3), Norma Romero (4), Pascale de Lonlay (5), Pascal Laforet (1)

1. Service de Neurologie, centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, Paris, France
2. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau La Roche Guyon (APHP), Paris, France
3. Service de Biochimie Métabolique, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière - Charles Foix, Paris, France
4. Institut de Myologie, Unité de Morphologie Neuromusculaire, Groupe Hospitalier Universitaire La Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
5. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France

Mots clefs : Rhabdomyolyse, myopathie métabolique, maladie mitochondriale, *FDXL1*

Résumé :

Nous rapportons l'observation d'une patiente âgée de 21 ans qui a présenté, à partir de l'âge de 6 ans, des épisodes de rhabdomyolyse (CPK jusqu'à 100 000 UI/L) associés à des accès d'acidose lactique majeurs (lactacidémie entre 3.76 et 18.4 mmol/L). Elle a présenté 2 à 3 épisodes par an, avec plusieurs arrêts cardio-respiratoires, et des épisodes d'insuffisance rénale aigue. La fréquence de ces épisodes a nettement diminué à partir de l'âge de 18 ans. Sa sœur est décédée de la même pathologie à l'âge de 16 ans. Le profil des acylcarnitines était normal, mais la chromatographie des acides organiques urinaires retrouvait une augmentation des acides 3 méthyl glutaconique et 3 méthyl glutarique.

Une première biopsie musculaire réalisée à l'âge de 6 ans était normale, et une seconde biopsie effectuée à 18 ans, retrouvait un déficit sévère des activités SDH et COX avec une surcharge en lipides. L'analyse en exome de l'ADN nucléaire a révélé une mutation pathogène homozygote du gène *FDXL1* (c.1A > T (M/L), NM_0010317342).

Le gène *FXDL1* code pour la protéine ferrédoxine mitochondriale 2 (Fdx2), qui participe à l'assemblage des complexes Fer-Souffre mitochondriaux. Une seule autre observation de myopathie métabolique en rapport avec des mutations de ce gène a été rapportée dans la littérature (Spiegel R et al. Eur J Hum Genet 2014).

Une augmentation d'acide 3 méthyl-glutarique urinaire était présente dans les deux cas, ainsi qu'un déficit sévère en SDH sur la biopsie musculaire. Par ailleurs il est important de noter que des tableaux cliniques et histologiques similaires sont décrits chez les patients présentant des mutations du gène *ISCU*, codant pour la protéine ISCU participant aussi à l'assemblage des complexes Fer-Souffre.

#20056 : Etude les formes monogéniques de diabète les plus fréquentes chez les patients marocain présentant un diabète familial non auto-immun

Auteurs :

Said TRHANINT (1), Nadia MAAZOUZI (2), mohammed ahakoud (3), oussama kettani (3), Baderddine el makhzen (3), meriam abbassi (3), hanane sayel (3), ihssane el othmani (3), sana abourazzak (4), hanane el ouahabi (5), leila el bouguenouch (3), karimouldim (3)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, CHU Hassan II, Fès Maroc., CHU Hassan II, Fès Maroc., fès, Maroc
2. Département de Biologie, Faculté des sciences et techniques , Fes, Maroc
3. Génétique médicale et cytogénétique, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, Fès, Maroc
4. pédiatrie, hôpital mère-enfant, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, Fès, Maroc
5. endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire HASSAN II, Fès, Maroc

Mots clefs : Diabète monogénique – MODY – diagnostic moléculaire – corrélation phénotype/génotype

Résumé :

Contexte

Les diabètes monogéniques représentent 1 à 2 % des diabètes. 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.

La majorité des phénotypes MODY met en cause des mutations hétérozygotes sur les gènes de la glucokinase (GLK) ou du facteur de transcription Hépatocyte Nuclear Factor 1 (HNF1a).

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

DEMARCHE DIAGNOSTIQUE

La Recherche des mutations et de délétions ponctuelles des gènes *GCK* et *HNF1A* ont été recherchées par séquençage direct et par la technique MLPA.

Conclusion

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.

Les techniques de séquençage de nouvelle génération(NGS) seraient convenables pour identifier les étiologies moléculaires spécifiques dans cette population et établir une stratégie de diagnostic moléculaire du diabète monogénique au Maroc

Pièce jointe : assisse g-converti.pdf

#19852 : L'évaluation des facteurs génétique et l'intérêt de l'identification du polymorphisme C677 T du gène de la MTHFR dans le cancer du sein**Auteurs :**

salima Zekri (1), Sabah Hanachi (2), Karima Sifi (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 : cancer du sein, polymorphisme, C677T, MTHFR, PCR/RFLP, facteurs de risque.

Résumé :

Le cancer du sein est le cancer le plus répandu chez les femmes. Il est actuellement la principale cause de décès par cancer chez les femmes et la principale cause de décès chez les femmes âgées de 35 à 64 ans.

Le cancer du sein représente 25% des cancers chez les femmes. 10% des femmes risquent de développer un cancer du sein au cours de leur vie.

La contribution de plusieurs facteurs de risque modifiables à la charge globale de morbidité et de mortalité par cancer du sein a été évaluée et conclut que 21% de tous les décès par cancer du sein dans le monde peuvent être attribués à la consommation de cancer du sein. alcool, surpoids et obésité, et manque d'exercice.

Des antécédents familiaux de cancer du sein augmentent le risque par deux ou trois. Certaines mutations présentent un risque très élevé de cancer du sein. Cependant, ces mutations sont rares et ne représentent qu'une petite partie de la charge globale de morbidité et de mortalité liées au cancer du sein.

Les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans la cancérogenèse ne sont pas encore bien compris.

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'influence de divers facteurs de risque environnementaux et génétiques sur le cancer du sein, l'identification du polymorphisme MTHFR C677T chez les sujets témoins et chez les patientes atteintes du cancer du sein. à la fin et l'établissement d'une relation possible entre ce polymorphisme et le cancer du sein chez les patientes.

Notre étude a été menée sur 52 sujets, 26 patientes atteintes de cancer du sein et admises à la clinique ENNAKHIL et à la consultation de sénologie (CHU Constantine) et 26 témoins.

Analyse moléculaire par la technique de digestion par PCR / enzyme de restriction HinfI.

Nos résultats montrent, d'une part, une fréquence élevée de cancers du sein chez les 45-54 ans avec un âge moyen de $49,61 \pm 9,35$ ans, la majorité des cancers du sein sont des carcinomes canauxiaux invasifs CCI (92%) avec une prédominance du grade III (54,91%). 94,12% des patients ont subi une mastectomie.

Par ailleurs, 11,54% de nos témoins sont des C / T hétérozygotes, 7,69% sont des homozygotes mutés et 80,77% sont des homozygotes normaux. Les fréquences des allèles C et T sont respectivement de 85,19% et 14,81%, 73,91% de nos patients présentaient le génotype C / C, 13,4% le génotype C / T et 13,4% le génotype T / T. La fréquence de leurs allèles C et T est respectivement de 80,83% et 19,57%.

Le calcul des rapports de cotes indique l'absence d'association entre le polymorphisme MTHFR C677T et le cancer du sein et ceci qu'il s'agisse du modèle CC vs TT (OR = 1,85 et valeur p = 0,52) ou du modèle TT + CT vs CC (OR = 1,24 et valeur p = 0,75). Ce cadre nous a permis d'identifier certains facteurs de risque de cancer du sein.

En conclusion, notre étude n'a mis en évidence aucune association significative entre le polymorphisme MTHFR C677T et la carcinogenèse mammaire.

#19760 : La variation post-zygotique p.(Cys382Arg) du gène *FGFR2* est spécifiquement identifiée dans le nævus sébacé cérébriforme.

Auteurs :

Paul Kuentz (1, 2), Theiler Martin (3), Virginie Carmignac (2), Athur Sorlin (4, 2), Pierre Vabres (5, 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. Pädiatrische Dermatologie, Kinderspital Zürich, Zürich, Suisse
4. Centre de Génétique et Centre de référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
5. Service de Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : *FGFR2*, post-zygotique, nævus sébacé cérébriforme, génodermatoses, signalopathies en mosaïque

Résumé :

Des variations post-zygotiques du gène *FGFR2* ont été identifiées dans des formes d'acné en mosaïque, le nævus épidermique (KEN) et l'acanthosis nigricans nævoïde (NAN). Nous avons montré l'implication de la variation post-zygotique p.(Cys382Arg) du gène *FGFR2* chez deux fœtus présentant un nævus sébacé papillomateux et pédonculé (PPSN). Nous avons ensuite identifié la même variation chez 3 patients présentant un nævus sébacé cérébriforme (CSN) du cuir chevelu par séquençage ciblé de *FGFR2* à forte profondeur. Au total, la variation p.(Cys382Arg) a été identifiée dans 62,5 % des patients analysés. Le PPSN et le CSN semblent être la même entité clinique, avec comme principale différence la sévérité du phénotype du PPSN du fait d'une variation apparue plus précocement lors du développement embryonnaire. Les variations constitutionnelles p.(Tyr375Cys) et p.(Ser372Cys) du gène *FGFR2* ont été associées au syndrome de Beare-Stevenson cutis gyrata (BSCG), caractérisé notamment par un aspect cérébriforme étonnamment comparable à celui du CSN, mais à une échelle différente. Dans le syndrome BSCG, il existe une croissance excessive du cuir chevelu dans son intégralité, avec la formation de sillons et plis, alors que le CSN ne concerne qu'une petite partie du cuir chevelu. Le spectre mutationnel dans les génodermatoses varie d'une hétérogénéité allélique très importante comme c'est le cas pour le spectre hypertrophique associé à *PIK3CA*, à des variations uniques. La situation la plus fréquemment retrouvée est cependant la présence de quelques variations *hotspot*. Alors qu'il existe une hétérogénéité allélique dans le KEN associé à *FGFR2*, où peuvent être identifiées plusieurs variations différentes, le CSN est causé par une variation unique de *FGFR2*, comme c'est le cas pour le syndrome de Protée associé à une seule variation de *AKT1*. Cette variabilité du spectre mutationnel dans les génodermatoses pourrait être expliquée par un gain de fonction très spécifique lorsqu'une seule variation est concernée. D'autres variations de *FGFR2* différentes de la variation p.(Cys382Arg) ont été identifiées dans des formes d'acné en mosaïque, le KEN et le NAN. Par conséquent, nos résultats confirment l'existence d'un sous-groupe à la fois clinique et moléculaire de nævus sébacé associé à *FGFR2*, appartenant au groupe plus large des signalopathies en mosaïque, extension des rasopathies en mosaïque incluant les récepteurs aux facteurs de croissance FGF.

Pièce jointe : FGFR2.doc

#20124 : La cartographie génomique massivement parallèle pourra-t-elle remplacer le caryotype et la puce à ADN pour la détection de tout type d'anomalies chromosomiques ?

Auteurs :

Laïla El Khattabi (1), Caroline Schluth-Bolard (2), Wed Majdali (3), Nicolas Chatron (2), Imane Baatout (3), Aziza Lebbar (3), Yannis Duffourd (4), Antonio Vitobello (5), Patrick Callier (5), Jean François Deleuze (6), Damien Sanlaville (2), Jean Michel Dupont (7)

1. Laboratoire de Génétique, APHP.Centre Hôpital Cochin; Université de Paris, Institut Cochin U1016, Paris, France
2. Département de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France ; Equipe GENDEV, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292; UCBL1;CRNL, Bron, France, Lyon, France
3. Laboratoire de Génétique, APHP.Centre Hôpital Cochin; Université de Paris, Paris, France
4. Inserm UMR 1231, GAD, Faculté des Sciences de Santé, Université de Bourgogne et Franche-Comté, Dijon, France
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Chromosomique, TRANSLAD, CHU de Dijon, Inserm UMR 1231 GAD, Faculté des Sciences de Santé, Université de Bourgogne et Franche-Comté, Dijon, France
6. Centre de Référence pour la Recherche sur la Génomique Humaine, Institut Francois Jacob, CEA, Evry, France
7. Département de Génétique, APHP.Centre Hôpital Cochin; Université de Paris, Institut Cochin U1016, Paris, France

Mots clefs : Cartographie optique, remaniements chromosomiques, variations de structure, caryotype, ACPA, NGS.

Résumé :

Le séquençage « short read », qui est utilisé aujourd'hui dans les laboratoires de diagnostic, présente des limites pour la caractérisation des remaniements chromosomiques en raison de la petite taille des « reads » et de la présence possible aux points de cassure de séquences hautement répétitives difficiles voire impossibles à aligner aujourd'hui. Le séquençage « long read », quant à lui, n'offre toujours pas une solution compatible avec une analyse de routine. Le caryotype, malgré sa faible résolution, reste donc encore l'examen pangénomique recommandé dans certaines indications, en particulier les troubles de la reproduction pour lesquels un remaniement chromosomique équilibré est suspecté.

La cartographie génomique par la technique Bionano est une technique basée sur le principe du peignage de l'ADN qui ne nécessite pas de séquençage. De façon succincte, elle consiste en un marquage fluorescent spécifique de molécules d'ADN de très haut poids moléculaire qui sont ensuite assemblées *de novo*, puis le profil de fluorescence agrégé est comparé à une référence pour détecter des variations de structure. Par ailleurs, une analyse de couverture permet de détecter les variations de nombre de copies.

Nous avons mené une étude de validation sur 30 patients portant des anomalies chromosomiques diverses dont un cas d'aneuploïdie, 16 cas de remaniements chromosomiques déséquilibrés (CNV, translocations et remaniements complexes) et 13 cas de remaniements apparemment équilibrés (inversions et translocations). Les analyses par Bionano ont été réalisées en aveugle en prestation externe. Les résultats ont été ensuite confrontés à ceux des techniques de référence précédemment réalisées pour ces patients (Caryotype ou ACPA). Les remaniements ont été correctement identifiés d'emblée dans 27 cas. Pour les 3 autres cas, deux cas s'expliquent par une localisation des points de cassures au niveau de régions centromériques. En outre, parmi les 30 cas étudiés, 13 avaient également bénéficié d'une analyse par NGS « short read » dans le cadre de l'étude ANI. La cartographie optique a pu identifier tous les remaniements détectés par NGS et même 3 cas sur 4 où le NGS n'avait pas réussi à identifier les points de cassure.

Cette étude démontre la capacité de la cartographie génomique par Bionano à détecter tous les types d'anomalies chromosomiques avec une facilité technique et analytique et un coût compatibles avec une activité de diagnostic. Une limite demeure pour la détection de remaniements impliquant les régions centromériques mais des pistes sont en cours d'évaluation. Cette technique possède le potentiel de pouvoir rapidement remplacer à la fois l'ACPA et le caryotype avec une bien meilleure résolution, ce qui permettrait une amélioration du taux de diagnostic de l'analyse chromosomique.

Pièce jointe : Assises2020_abstract-NGM-20191007_Submitted.docx

#20457 : Implication des polymorphismes C677T et A1298C du gène MTHFR dans le risque de survenue de la leucémie myéloïde chronique dans la population africaine : prouvée à partir d'une méta-analyse actualisée.

Auteurs :

Fatma Turki (1), Tarek Rebaï (1), Fatma Abdelhedi (2), Rim Frikha (1)

1. Laboratoire d'Histologie-Embryologie, Faculté de Médecine de Sfax, SFAX, Tunisie

2. Service de Génétique, Hôpital Hédi Chaker, SFAX, Tunisie

Mots clefs : reductase de Methylene tetrahydrofolate, Leucémie myéloïde chronique, polymorphisme, Risque

Résumé :

La leucémie myéloïde chronique est une hémopathie maligne due à une anomalie clonale de la cellule souche hématopoïétique. Elle est associée à un marqueur chromosomique spécifique, le chromosome Philadelphie qui résulte de la translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22 engendrant le gène hybride Bcr-Abl. Ce gène code pour une protéine à activité tyrosine kinase constitutivement active. Plusieurs mécanismes ont été impliqués dans la physiopathologie de la LMC dont l'altération métabolique de l'acide folique. Le méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), enzyme clé dans le cycle des folates, est codé par le gène MTHFR. Deux polymorphismes génétiques ont été décrits sur ce gène : le C677T et le A1298C. Des études cas-témoins ont évalué l'association entre ces deux polymorphismes et le risque de la LMC dans différents pays mais les résultats ont été discordants. Plusieurs études d'association ne cessent de se multiplier, Cependant les résultats ont été divergents.

L'objectif de notre travail est d'évaluer la relation entre ces deux polymorphismes du gène MTHFR et le risque de la LMC via une méta-analyse actualisée.

Une recherche électronique sur la banque de données « Pubmed » est conduite par deux investigateurs indépendants pour la sélection des articles cas-témoins publiés avant Juin 2018. L'analyse statistique est faite selon les critères de l'éthnicité et le modèle génétique. Le odds ratio (OR) avec son intervalle de confiance (IC) (95%IC) est calculé à partir des données de la distribution génétique. Des tests d'hétérogénéité et des tests pour la détermination des biais de publication ont été utilisés.

Un total de 17 et 12 études cas-témoins incluant des cas de LMC et des sujets contrôles ont été inscrit, respectivement pour le polymorphisme de C677T et A1298C.

Une association significative entre le polymorphisme C677T et le risque de CML dans la population africaine et celle mixte sous différents modèles génétiques a été décrite dans cette méta-analyse, considérée comme étant la plus exhaustive (T vs. C; OR= 6,87.; IC= [4,27;11,03]; $p < 0.05$). Le polymorphisme A1298C est significativement associé au risque de la LMC pour la population africaine sous différents modèles (C vs. A; OR= 2,66; IC= [1,72; 4,13]; $p = 1,17E-05$) à l'exception de celui hétérozygote dont l'association a été non significative.

Les polymorphismes C677T et A1298C sont des facteurs de risque de la LMC mais ils doivent être interprétés prudemment en considérant d'autres facteurs comme la consommation de l'acide folique, les interactions entre gène-gène et gène-environnement.

#20114 : Syndrome de dysplasie spondylométaphysaire et dystrophie des cônes et des bâtonnets : deux nouveaux cas et revue de la littérature**Auteurs :**

Amaya Morales Jaurietta (1), Fabienne Giuliano (2), Federico Solia (3), Marie Hoflack (4), Corinne Boyer (5), Catherine Fouret (6), Sophie Rondeau (7), Caroline Michot (7), Geneviève Baujat (8), Valérie Cormier-Daire (8), Damien Hays (9)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nice - Hôpital de l'Archet 2, Nice, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Vaudois, Lausanne, Suisse
3. Service d'Orthopédie Pédiatrique, Hôpitaux pédiatriques de Nice CHU Lenval, Nice, France
4. Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpitaux pédiatriques de Nice CHU Lenval, Nice, France
5. Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpitaux pédiatriques de Nice CHU Lenval, Nice, France
6. Service Ophtalmologie, Hôpitaux pédiatriques de Nice CHU Lenval, Nice, France
7. Département de Génétique, Hôpital Universitaire Necker Enfants-Malades, Paris, France
8. Département de Génétique - Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Université Paris, APHP - Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
9. Service de Génétique Médicale - Centre de Compétences Maladies osseuses Constitutionnelles, CHU de Nice - Hôpital de l'Archet 2, Paris, France

Mots clefs : Dysplasie spondylométaphysaire et dystrophie des cônes et des bâtonnets, PCYT1A

Résumé :

Le syndrome de dysplasie spondylométaphysaire et dystrophie des cônes et des bâtonnets (DSM-DCB) est une maladie autosomique récessive qui fait partie du groupe hétérogène des dysplasies spondylométaphysaires, caractérisé par l'association d'une petite taille avec platyspondylie, raccourcissement des os tubulaires, irrégularité et déformation progressives des métaphyses et baisse progressive de l'acuité visuelle due à une dystrophie des cônes et des bâtonnets. Elle est due à des mutations du gène *PCYT1A* qui code une enzyme clef de la biosynthèse de la phosphatidylcholine (voie de régulation de Kennedy). Neuf mutations différentes ont été décrites chez 12 patients de 8 familles indépendantes.

Nous rapportons deux enfants d'une fratrie atteints d'une dysplasie spondylométaphysaire avec petite taille, incurvation progressive des os longs des membres inférieurs en genu varum et raccourcissement du tronc associé à une atteinte rétinienne pour l'un d'entre eux. Le séquençage à haut débit de gènes impliqués dans les Maladies Osseuses Constitutionnelles a permis l'identification de la mutation homozygote c.968dup (p.Ser323Argfs*38) dans l'exon 10 du gène *PCYT1A* dans cette fratrie confirmant le diagnostic de syndrome DSM-DCB.

Les données cliniques et radiologiques de 14 patients (12 cas rapportés dans la littérature et 2 cas présents) atteints du syndrome DSM-DCB avec mutations identifiées montrent que l'atteinte osseuse associe un tronc court, des membres inférieurs courts, une incurvation des os longs, une légère brachydactylie et une petite taille potnatale comprise entre -3.5 et -11,7 DS. Un retard de croissance intra utérin est parfois rapporté. Les données radiologiques montrent une atteinte rachidienne (corps vertébraux ovoïdes, platyspondylie), pelvienne (encoche sacrosciatique étroite, hypoplasie de la partie inférieure des ailes iliaques), des os longs des membres prédominant aux membres inférieurs (coxa vara, incurvation progressive, métaphyses larges et irrégulières, épiphyses légèrement élargies) et un raccourcissement des phalanges et des métacarpes. L'atteinte visuelle (anomalie de la pigmentation maculaire, dystrophie des cônes et des bâtonnets) semble constante mais l'âge de début est variable (17 mois de vie à 51 ans). Récemment, de nouvelles mutations hétérozygotes composites du gène *PCYT1A* ont été rapportées chez 3 patients âgés de 4 à 19 ans atteints de dystrophie rétinienne sans atteinte osseuse associée.

Une autre forme de dysplasie spondylométaphysaire et dystrophie rétinienne (dysplasie spondylométaphysaire type axial) avec des mutations identifiées dans le gène *CFAP410* a été décrite. Cependant, il existe un thorax hypoplasique avec une atteinte de la fonction respiratoire qui n'est pas rapportée dans le syndrome DSM-DCB. L'association d'une dysplasie spondylométaphysaire avec dystrophie des cônes et des bâtonnets sans atteinte respiratoire doit faire évoquer le diagnostic de DSM-DCB.

#19870 : Hypercalcémie infantile avec néphrocalcinose et disomie uniparentale du chromosome 20 : à propos d'un cas

Auteurs :

Anne-Claire BREHIN (1), Marguerite HUREAUX (2), Kevin CASSINARI (1), Ariane CUNY TOURNILLON (3), Edouard MARTINEZ CASADO (3), Sandra CHANTOT-BASTARAUD (4), Rosa VARGAS-POUSSOU (2), Thierry FREBOURG (5)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, ROUEN, France
2. Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, Paris, France
3. Département de Pédiatrie, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Département de Génétique Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France

Mots clefs : Hypercalciurie autosomique récessive, disomie uniparentale du chromosome 20

Résumé :

L'hypercalcémie infantile (OMIM 143880) est une maladie caractérisée par une hypercalcémie, un retard de croissance, des vomissements, une déshydratation et une néphrocalcinose. Cette affection, de transmission autosomique récessive, résulte de variations bi-alléliques des gènes *CYP24A1* localisé en 20q13.2 et *SLC34A1* localisé en 5q35.3. Ces gènes codent respectivement l'enzyme Cyp24a1 et le co-transporteur de phosphate NaPi2a. La perte de fonction de ces protéines est associée à une augmentation du calcitriol et une hypercalciurie absorptive.

Nous rapportons, le cas d'un enfant de 14 mois, né de parents non apparentés, pris en charge pour une stagnation pondérale évoluant depuis plusieurs mois dans un contexte de vomissements récurrents, de retard des acquisitions, de hernie inguinale et d'éléments dysmorphiques (front haut bombé, fentes palpébrales en haut et dehors, oreilles simplement ourlées basses implantées, microrétrognathisme). La grossesse avait été marquée par un diabète gestationnel, les paramètres de naissance étaient normaux (PN 33^e percentile, TN 14^e percentile et PCN 55^e percentile). Les bilans digestif, métabolique, ORL, endocrinien, cardiologique étaient normaux. Le bilan de croissance a révélé une hypercalcémie modérée ($\text{Ca}^{++}=2.86 \text{ mmol/l}$), un rapport calciurie/créatininurie anormal à 0.57 mg/mg, et une PTH effondrée (indosable). L'échographie rénale montra une néphrocalcinose bilatérale de grade 2. Ces éléments faisaient fortement suspecter une hypersensibilité à la vitamine D.

Le séquençage des gènes *CYP24A1* et *SLC34A1* a mis en évidence une variation nucléotidique faux-sens homozygote du gène *CYP24A1* (c.1226T > C, p.Leu409Ser), expliquant le phénotype d'hypersensibilité à la vitamine D. Cette variation est retrouvée à l'état hétérozygote chez la mère du patient et absente chez le père. L'étude de marqueurs microsatellites au locus du gène *CYP24A1* montre l'absence de contribution paternelle dans cette région génomique. L'analyse en SNP-array du trio enfant-parents confirme la présence d'une hétérodisomie uniparentale maternelle du chromosome 20 avec recombinaison à l'origine d'une grande région d'isodisomie terminale du bras long du chromosome 20 intéressant le locus *CYP24A1* en 20q13.2 et le locus *GNAS* soumis à empreinte en 20q13.3.

Ce résultat explique le phénotype de l'enfant puisque le retard de croissance et le retard psychomoteur correspondent à des éléments classiquement décrits dans le syndrome de Mulchani-Bhoj-Conlin (DUP du chromosome 20). A notre connaissance, il s'agit du premier cas rapporté de disomie uniparentale maternelle révélatrice d'un déficit en *CYP24A1*. Cette situation exceptionnelle dans les maladies rares du métabolisme à transmission récessive souligne l'absolue nécessité de contrôler la ségrégation allélique dans les cas d'homozygotie afin de déterminer précisément le risque de récurrence dans la fratrie.