

Compte-rendu du staff multisite

13/03/2018

Présents : env. 40 personnes

- Isabelle Audo et Saddek Mohand-Saïd et leur équipe (20 personnes), Martine Mauget Faÿsse, Clinique Jules Verne (Xavier Zanlonghi et 2 personnes), Hélène Dollfus, CARGO (Fouzia Studer, Valérie Pelletier, interne), Maolya Montpellier (Catherine Blanchet), Anne-Françoise Roux, Necker (Dominique Bremond-Gignac, Marc Abitbol, Dr Mathieu Robert, Dr Olivia Herri), Hôpital de Lille (S. Defoort-Dhellemmes+2pers.), Sandrine Marlin, Marie-Line Jacquemont, Céline Poirsier, Hôpital de Rouen, 2-3 pers. par téléphone non identifiées, filière SENSGENE (Marilyne Oswald, Caroline Iberg, Annie Charnet, Ines Ben Aïssa, Zoia Mincheva et Larissa Moutsimilli).

1e partie présentée par le centre de génétique médicale du CHU de Toulouse, Hôpital Purpan, Dr Nicolas Chassaing et Pr Patrick Calvas « Anomalies du développement »

1-1. Phénotypes et génotypes chez 150 patients atteints de MA (Microphthalmie) Dr Nicolas Chassaing

Présentation des résultats d'analyse moléculaires dans les MA sur une série de patients Panel et haut débit :

- ✓ Les MA sont des malformations oculaires sévères avec une incidence de 1/10.000, représentent 3 à 11% des cécités chez les enfants, montrent une hétérogénéité clinique (uni vs bilatérale, simple vs complexe (ie œil trop petit associé à des malformations associées au niveau oculaire, celles-ci représentant 30-90%), isolée vs syndromique (déficiences intellectuelles ds 20% des cas)).
- ✓ Les causes génétiques sont prépondérantes, chromosomiques dans le cas des syndromes poly-malformatifs et monogéniques avec une grande hétérogénéité génétique (+ de 30 gènes avec une MA comme signe principal, impliqués dans des formes isolées et syndromiques).
- ✓ Sur les 150 patients de l'étude (1/3 présentent une anophthalmie, 1/3 une microphthalmie et 1/3 une microphthalmie colobomateuse ; 2/3 sont bilatérales et 1/3 unilatérales, majorité de cas sporadiques et 1/2 de formes isolées et 1/2 syndromiques).
- ✓ L'analyse moléculaire de 7 gènes a été faite par la technique de Sanger (GDF6, SOX2, OTX2, PAX6 à transmission autosomique dominante et RAX, FOXE3 et VSX2 à transmission autosomique récessive). Le remaniement exomique par QMPSF (Quantitative. Multiplex PCR

of Short Fragments) a été recherché pour OTX2, RAX, SOX2 et VSX2. Cette analyse a permis d'identifier des mutations chez 1/3 patients de l'étude (20% si on ne tient compte que des 7 gènes avec une majorité de mutation portant sur SOX2). Sur 14/150 patients, des gènes supplémentaires avec des mutations ont été identifiés soit sur des projets de recherche soit sur des phénotypes spécifiques. A part SOX2 (10-12% des mutations), les autres gènes sont impliqués plus rarement (2-3%)

✓ Cette étude montre donc :

- la fréquence relative de l'implication de chaque gène
- l'importance de la QMPSF
- l'identification des mutations chez 21% de patients (31% si on rajoute les phénotypes spécifiques et les projets de recherche). Plus de mutations identifiées ds l'anophtalmie (54%), les formes familiales (32%) et les formes bilatérales (26%).
-

Développement dans le laboratoire d'un panel de diagnostic par NGS de 24 gènes couvrant MA et DSA (dysgénésie du segment antérieur)

- ✓ Il en ressort des gènes communs entre ces deux phénotypes.
- ✓ Sur 195 patients étudiés, 19 mutations sur des gènes du panel (BCORx4, RARbx3...) ont été identifiées apportant ainsi une amélioration du taux de diagnostic de 10%.
3 mutations qui n'aurait pas été vues sur le panel ont également été identifiées (GJA8x2 et CHD7x1).

Difficultés rencontrées au cours de l'étude :

- ✓ La variabilité phénotypique oculaire, interfamiliale, intrafamiliale ou intra individuelle,
- ✓ La variabilité phénotypique extra-oculaire ie l'existence ou pas de signes associés avec l'exemple de SOX2 et OTX2 initialement décrits comme impliqués dans la MA isolée mais qui peuvent être impliqués dans le syndrome de AEG (Syndrome d'anophtalmie/microphtalmie-atrésie de l'œsophage) pour SOX2 et l'agnathie-otocéphalie ie une anomalie du développement de la mâchoire pour OTX2 (en mutation héritée ou de novo). A contrario, des gènes comme STRA6 impliqués dans des formes syndromiques ont rarement des mutations décrites dans la MA isolée.
- ✓ Le chevauchement des phénotypes oculaires avec l'exemple de PAX6 et FOXE3 pour lequel en fonction des mutations, il y a des modes de transmission différents avec des atteintes oculaires différentes. En effet pour FOXE3, des mutations dominantes non-stop vont donner des DSA, et des mutations tronquantes ou faux sens récessives vont conduire à des DSA parfois associées à une MA.

Toutes ces difficultés rendent le conseil génétique difficile car :

- ✓ Chez 60% des patients, les causes n'ont pas été identifiées,
- ✓ Il existe tous les modes de transmission possible,
- ✓ L'expressivité est variable (importance d'un examen oph des parents pour la recherche d'une forme minime chez un des deux parents qui orienterait vers une forme de transmission AD,
- ✓ La pénétrance est incomplète pour OTX2,
- ✓ Il y a un mosaïcisme germinale,
- ✓ Un risque de récurrence estimé a priori à 5-10%
- ✓ Il y a une variabilité du tableau oculaire et extra-oculaire qui rend difficile l'identification d'un gène avant l'analyse génétique en dehors des formes syndromiques bien définies.

Cette variabilité sera étudiée avec la cohorte RaDiCo.

Conclusion

- ✓ **L'orientation clinique est difficile sauf pour les syndromes bien déterminés, toutefois l'atteinte oculaire peut aider en fonction des MA et DSA et la structure familiale peut orienter vers un mode de transmission.**
- ✓ **Le NGS apporte 10% de diagnostic supplémentaire, en revanche dans le cadre de projet de recherche (WES, WGE), l'apport est décevant car peu de gènes en commun entre les patients.**

Questions

Le Pr Dollfus a demandé si des données d'analyses moléculaires existent en prénatal ?

Réponse du Pr. Chassaing : les chiffres sont les mêmes, plus importants en foeto-pathologies car formes plus sévères ou syndromiques. La difficulté de l'analyse en prénatal est le délai entre l'observation (32 semaines) et l'analyse 1-2 semaine plus tard. La discussion sur l'apport de l'analyse moléculaire est difficile (exemple l'identification de mutation SOX2 ou OTX2 sont plus associées à la déficience intellectuelle (DI)).

1-2. Aniridies syndromiques et mutations de PAX6-Pr Patrick Calvas

Présentation du spectre mutationnel de PAX6 à partir d'une observation clinique d'Aniridie syndromique

Cas 1 : petite fille, premier enfant d'un couple jeune en bonne santé non apparentés, poids de naissance normal, présente une grande microphthalmie, une cataracte bilatérale et scoliose congénitale. Le diagnostic se focalise sur des anomalies oculaires et un tableau neurologique qui a conduit à une exploration en IRM montrant une hypoplasie du corps calleux, celle-ci associée au tableau oculaire décrit un syndrome micro.

- ✓ L'analyse des gènes du syndrome micro et des gènes de MA a été négative
- ✓ L'association MA / cataracte / atteinte neuro a permis de mettre en évidence l'implication d'une mutation de PAX6 (mutation faux sens du paired domaine dans la région du 3 domaine de liaison à l'ADN du domaine paired, élément majeur de la stabilité de la liaison de la protéine PAX6 à l'ADN).
- ✓ L'enfant reste néanmoins sur sa courbe (station assise à 13 mois ; marche acquise à 23 mois, développement comportemental et neuro inquiétant

(stéréotypies motrices et verbales, agitation fréquente), bon contact avec les proches malgré un tableau autistique, langage en cours de développement à 2.5 ans, apprentissage de la lecture à 10 ans, difficulté pour l'écriture à cause de dysgraphies majeures, langage qui s'enrichit malgré des troubles dyspraxiques oro-faciaux. Evolution satisfaisante au vue du tableau initial, DI jugée légère à modérée et difficultés visuelles stables.

La rareté du tableau a suscité la recherche de cas similaire en Europe, ainsi une autre enfant avec une origine ethno-géographique différente a été identifiée avec la même mutation de PAX6 et les mêmes atteintes oph et neuro. Les recherches ont été approfondies dans la cohorte du centre, ainsi d'autres cas d'enfants présentant la même mutation du gène PAX6 dans la même région et présentant les mêmes atteintes ont été identifiés.

Cas 2 : petit garçon né en 2002 de parents en bonne santé non apparentés, présentant un tableau clinique similaire (anophtalmie clinique, microcéphaliie, retard de développement, retard intellectuel, atteinte neuro)

Cas 3 : enfant présentant un tableau clinique similaire (microphthalmie sévère et retard de développement marqué)

Cas 4 : enfant avec microphthalmie et un retard global de développement

Cas 5 : enfant porteur de malformations cérébrales sévères et surtt d'une hétérozygotie composite PAX6.

Ces enfants portent une mutation de la Cys66 sur la région d'intérêt du gène PAX6.

Ces observations montrent que le tableau n'est pas immuablement MA ou anophtalmie avec un retard mental ce qui complique le conseil génétique. Il existe donc des tableaux variables collectant des formes sévères. D'où le questionnement sur la variabilité phénotypique intra et inter familiale pour les mutations PAX6.

- ✓ La plupart des mutations non sens aboutissent à la destruction de l'ARNm puis de la protéine et donc à une haplo insuffisance tandis que les mutations faux sens (PAX6) ont des mécanismes différents (en cours d'exploration) pour expliquer cette sévérité.
- ✓ Le spectre mutationnel du gène PAX6 est tel que :
 - Sur les 200 familles étudiées plus de 90% sont porteurs d'une mutation identifiée quand on tient compte du fait qu'ils sont porteurs d'au moins un critère clinique reconnu du spectre d'aniridie (ie aniridie complète glaucome, cataracte précoce, hyploplasie fovéolaire),
 - On note dans cette cohorte la présence de mosaïques germinales (environ 1%) démontrées par du diagnostic prénatal et qui peuvent récidiver, d'où l'intérêt de proposer un diagnostic prénatal systématique aux parents qui le souhaitent pour une mutation d'allure de NOVO chez un premier enfant.
- ✓ Plusieurs allèles complexes ont été mis en évidence sans phénotypes particulier, il s'agit de cas d'aniridie sans sévérité.

Ainsi la revue des mutations montre que 70% des mutations aboutissent à un STOP prématuré avec une haplo insuffisance, ce qui explique l'absence de corrélation entre la position de la mutation et le tableau clinique recensé, ce qui n'est pas le cas dans les mutations faux sens.

Dans le futur, la recherche va se limiter à une anomalie de la séquence codante du gène particulièrement du gène du domaine paired, les myopies fortes, les anomalies de peters et les microphthalmie et anomalies de Peters étant souvent associées à des mutations faux sens du domaine paired.

- ✓ Les hypothèses physiopathologiques de la sévérité différentes de ces mutations faux sens ne sont pas complètement élucidées :
 - L'altération des propriétés différentes de liaison de la protéine PAX6 avec ses partenaires (1400 partenaires) qui altérerait la transactivation du gène cible
 - Les modifications du réseau transcriptionnel (ou PAX6, SOX2 ou les cristallines sont un noeud du réseau) modulant ainsi l'activité des partenaires

Conclusion

- ✓ Les phénotypes variants sont en concordance avec les étapes du développement au cours desquelles le gène intervient et constitue un continuum des anomalies phénotypiques qui vont de l'absence d'yeux à une aniridie partielle,
- ✓ Le mécanisme des formes sévères est en cours d'analyses fonctionnelle, fournissant des résultats surprenants et complexes qui nécessitent de continuer à collecter les patients,
- ✓ Un effort doit être mené afin de définir puis comprendre les manifestations générales des mutations (difficultés de développement pancréatique, troubles endocriniens tels que le diabète et les problèmes d'obésité) *d'où l'intérêt de la cohorte RaDiCo pour le suivi oph et neuro des patients.*

Questions et commentaires :

Marie-Line JACQUEMONT a souhaité savoir si le Pr Calvas a rencontré des patients porteurs de mutations PAX6 avec des troubles psychiatriques (psychose et autisme) car cette association complique le conseil génétique d'autant plus que les parents n'ont aucun trouble psychiatrique ?

Réponse du pr Calvas : Cette association est décrite dans la littérature, mais ils n'ont pas dans leur centre rencontré des associations avec des troubles psychiatriques sévères. De plus, il n'existe aucune idée sérieuse d'une corrélation phénotype/génotype, ni de la fréquence de ce type de tableau, association peu fréquente pour les formes marquées.

Marc Abitbol a décrit dans un article chez une famille bizantine l'association de mutation faux sens PAX6 avec des atteintes oculaires, des troubles épileptiques, psychiatriques, des anomalies de l'IRM, des troubles moteurs

Le Pr Patrick Calvas rappelle l'existence des anomalies de myélinisation, de la commissure blanche antérieure chez les porteurs de mutation PAX6 qui présentent à titre évolutif une anosmie. Il conclut que le taux de psychoses dans la population générale ne permet pas de conclure à une implication de PAX6, la cohorte RaDiCo va permettre de faire des statistiques sur ce type d'association. Un effort multidisciplinaire avec les services de neuro-pédiatrie spécialisés notamment dans l'épilepsie sera nécessaire pour rechercher ces associations.

Le Pr Bremond-Gignac explique la difficulté de différencier la malvoyance sévère, des troubles autistiques, de la DI.

A noter : le cas du Dr Zanlonghi n'a pas pu être présenté car l'équipe a eu un problème de connexion au système LifeSize.

Date des prochains Staffs :

- 10 avril 2018 avec le Dr Sandrine Marlin sur le thème « Mutations monoalléliques de WFS1 et relations génotypes phénotypes (appel à publications sur la cohorte française) »
- 12 juin avec le Pr Dominique Bremond-Gignac sur le thème des « Anomalies du segment antérieur »