

UFR DE MÉDECINE UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Aspects cliniques et génétiques
des Troubles du Spectre Autistique :
Familles multiplexes et anomalies des
Neuroligines

Marie Ducloy

Née le 06/11/1985 à Suresnes

Thèse n° 3070 soumise pour le
DOCTORAT EN MEDECINE SPECIALISEE
PSYCHIATRIE

université
de BORDEAUX



Institut Pasteur

<i>Directeurs de thèse</i>	<i>Membres du Jury</i>
Monsieur le Pr Delorme	Monsieur le Pr Bouvard, Président
	Monsieur le Pr Bourgeois, Assesseur
Madame le Dr Tabet	Madame le Pr Benzacken, Assesseur
	Madame le Dr Blanchard, Assesseur

28 Septembre 2015

Préambule

La présente thèse a été réalisée grâce au concours de plusieurs structures hospitalo-universitaires et de recherche dans lesquelles j'ai eu le privilège de pouvoir travailler :

- le Service de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent du Pr Bouvard au CHS Charles Perrens, à Bordeaux,
- le Service de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent du Pr Delorme, au CHU Robert Debré, à Paris,
- et le Laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives du Pr Bourgeron, à l'Institut Pasteur, à Paris.

Cette thèse a pour objet la mise en évidence de corrélations cliniques et génétiques dans les Troubles du Spectre Autistique, rendant nécessaire l'exposition de nombreuses notions et méthodes génétiques complexes. J'ai donc tenté de rendre celles-ci les plus claires possibles, parfois sans doute au détriment de la synthèse.

Concernant les sources des informations exposées, elles sont annotées et compilées dans la bibliographie. Certaines des figures présentées sont extraites d'articles publiés, j'ai pris le soin d'annoter le cas échéant les sources dans la légende de celles-ci.

Une partie du travail effectuée durant l'année 2013-2014 a été financée par une bourse de Master 2 Recherche par la Fondation Fondamentale.

"After all, the really social people did not invent the first stone spear. It was probably invented by an Aspie who chipped away at rocks while the other people socialized around the campfire."

- Temple Grandin

Résumé

Thèse n° 3070 soumise pour le
DOCTORAT EN MEDECINE SPECIALISEE
PSYCHIATRIE

Marie Ducloy

Les Troubles du Spectre Autistique (TSA) représentent un trouble neurodéveloppemental affectant environ 1% de la population générale, avec un sexe-ratio déséquilibré d'une fille pour 4 garçons dans les cas d'autisme typique. Les patients montrent des difficultés de communication sociale (verbale et non-verbale), des intérêts restreints, des comportements stéréotypés et parfois des troubles du langage. Il existe des pathologies psychiatriques et somatiques comorbides comme une déficience intellectuelle observée dans un tiers des cas.

Les TSA sont à ce jour considérés comme la pathologie psychiatrique la plus héritable (de 56 à 95%), argument très en faveur d'une origine génétique à ces troubles. Diagnostiquées chez plus de 25% des patients, les étiologies génétiques sont très hétérogènes. De même, la très grande hétérogénéité clinique des TSA est difficile à appréhender. L'étude de familles où plusieurs individus sont atteints de TSA (familles multiplexes (MPX)) vise à établir une corrélation génotype-phénotype au sein d'une cohorte puis individuellement pour chaque famille.

L'étude de 49 patients avec TSA et de leurs 88 apparentés issus de 17 familles multiplexes recrutées dans la cohorte internationale PARIS (Paris Autism Research International Sibpairs) montre au plan clinique une importante sur-représentation des comorbidités psychiatriques tant chez les patients que chez les apparentés en comparaison avec les données en population générale (respectivement 73,7%, 70% et 18,6%) (p -value=2,3e-13).

Du point de vue génétique, l'étude des variants *de novo* exoniques dans cette cohorte montre un taux similaire chez les patients et les apparentés (1,68 variants *de novo* par individus contre 1,07 respectivement). Il n'existe pas d'enrichissement de ces variants dans des gènes à expression cérébrale ou dans des gènes déjà impliqués dans les TSA. En comparaison avec les données déjà publiées concernant la fréquence des mutations *de novo* exoniques dans les familles avec un seul individu atteint de TSA (familles simples)

(SPX)), il apparaît que les patients de familles SPX ou MPX présentent des taux de variants *de novo* similaires. En revanche, les apparentés des familles SPX présentent un taux plus faible (1,02 variants par individu) que les apparentés des familles MPX, faisant évoquer des mécanismes biologiques différents dans ces deux types de familles. Même si les variants *de novo* ne peuvent à eux-seuls expliquer ces manifestations cliniques dans les familles MPX.

Le "multiple hit model" décrit la complexité d'un modèle polygénique de ces troubles. Il s'agit de la traduction phénotypique de l'addition de l'effet délétère de variants *de novo* et hérités chez un même individu. Ceci peut être proposé pour expliquer la récurrence et l'hétérogénéité clinique de l'autisme au sein d'une famille MPX. L'étude d'une de ces 17 familles illustre la corrélation génotype-phénotype en fonction du statut clinique. La mise en évidence d'un fond génétique commun d'une part et la sur-représentation des pathologies psychiatriques chez les apparentés des familles MPX d'autre part suggère la possibilité d'un recoupement physiopathologique des TSA et des autres pathologies psychiatriques.

Une autre façon de préciser les corrélations phénotype-génotype est de regrouper des patients porteurs d'une même anomalie génétique et d'étudier leur phénotype. Les gènes de la famille des Neuroligines (*NLGN1*, *NLGN2*, *NLGN3*, *NLGN4X*, *NLGN4Y*) interviennent dans l'adhésion cellulaire au niveau du système nerveux notamment, mais leur rôle précis dans les TSA reste encore à préciser. Une méta-analyse vise à évaluer la corrélation génotype-phénotype pour les gènes des *NLGN*, et notamment pour *NLGN4X* et *NLGN4Y*, et ensuite à comparer ces résultats avec les phénotypes de patients de familles multiplexes présentant 1 délétion *de novo* et 1 duplication héritée de *NLGN4Y* et d'individus présentant 3 microdélétions et 2 microduplications de *NLGN4* issus d'une cohorte de 212 garçons atteints de TSA.

Les TSA apparaissent comme un modèle de maladie neuro-développementale complexe causée par la conjonction d'étiologies génétiques, épigénétiques et environnementales qui rend difficile la prédiction des symptômes cliniques. Le travail conjoint des psychiatres et des généticiens vise à améliorer nos connaissances des TSA, à mieux appréhender les anomalies à l'échelle du gène, de la fonction protéique et de la fonction cérébrale ou synaptique. La connaissance plus approfondie de ces mécanismes physiopathologiques à travers l'étude des familles MPX permettra à l'avenir de développer des approches pharmacogénétiques spécifiques des anomalies génétiques de chaque patient atteint de TSA.

Remerciements

Après plus de dix années d'études de médecine et de très nombreuses heures passées à étudier, l'écriture de la thèse d'exercice représente un exercice particulièrement enrichissant au plan médical, scientifique et émouvant au plan personnel.

La présente thèse n'aurait pu voir le jour sans l'aide de nombreuses personnes qu'il m'est important de citer.

Je tiens à adresser tous mes remerciements,

- aux membres de mon jury :

- **Monsieur le Professeur Bouvard**, Chef du service de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent, CHS Charles Perrens, et Professeur des Universités Bordeaux 2 Ségalen,
- **Monsieur le Professeur Bourgeois**, Ancien Chef du service de Psychiatrie Adulte, CHS Charles Perrens, et Professeur des Universités Bordeaux 2 Ségalen,
- **Madame le Professeur Benzacken**, Chef de Service Histologie Embryologie Cytogénétique BDR CECOS, CHU Paris Seine Saint-Denis, Hôpital Jean Verdier, et Professeur des Universités,
- et **Madame le Docteur Blanchard**, Praticien Hospitalier, CHS Cadillac, et Chercheur, U897 Inserm, ISPED Université de Bordeaux.

- à mes directeurs de thèse :

- **Monsieur le Professeur Delorme**, Chef du service de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent, CHU Robert Debré, Professeur des Universités Paris 7 Diderot, Fondation FondaMental, et Chercheur au Laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives, Institut Pasteur,
- et tout particulièrement à **Madame le Docteur Tabet**, Responsable de l'Unité Fonctionnelle de Cytogénétique, Département de Génétique, CHU Robert Debré, et Chercheur au Laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives, Institut Pasteur, pour ses relectures attentives et son aide précieuse et amicale.

- à l'ensemble de l'équipe du laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives, à l'Institut Pasteur, et tout particulièrement à :

- **Monsieur le Professeur Bourgeron**, Responsable du Laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives, Institut Pasteur, Professeur des Universités Paris 7 Diderot, et Membre de l'Académie des Sciences,
- **Madame le Docteur Guilmatre**, ancienne post-doctorante au Laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives, pour son aide pendant mon master 2 recherche,

— **Monsieur le Docteur Ziegler**, interne DES de génétique, CHU d'Angers, également pour son aide pendant mon master 2 recherche,

- à l'ensemble de l'équipe du service de **Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent**, du **CHU Robert Debré**, et tout particulièrement à :

- l'équipe de l'Unité de dépistage précoce des Troubles du Spectre Autistique,
- l'équipe de l'Unité d'Addictologie : **Madame le Docteur Peyret**, **Monsieur le Docteur Pitrat**, **Madame Tenne** pour leur accueil chaleureux,
- l'équipe du Centre Médico-Psychologique et son responsable **Monsieur le Docteur Hubert**, et **Madame le Docteur Bahadori** pour leur bonne humeur,
- **Mesdames les Docteurs Septier, Clarke, Stordeur et Maruani**.

- **Un remerciement particulièrement chaleureux à Monsieur le Professeur Galibert**, Professeur Émérite à l'Université Rennes 1, Ancien responsable de l'Institut génétique et développement, Membre Émérite de l'Académie Nationale de Médecine et Chevalier de la Légion d'Honneur, pour le partage de son expérience exceptionnelle dans le domaine de la Recherche et de la Génétique, pour ses encouragements et ses conseils avisés et son amitié partagée depuis presque 15 ans,

- à l'ensemble des Chefs de service de Psychiatrie Enfants, Adolescents et Adultes, des équipes médicales et paramédicales qui m'ont permis d'apprendre mon métier dans ces divers aspects durant mon internat, et notamment à :

- au service de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent du Pr Bouvard,
- l'équipe médicale et paramédicale du service de Psychiatrie périnatale du Pr Verdoux, notamment **Madame le Docteur Sutter** et **Madame le Docteur Denard**,
- l'équipe médicale et paramédicale du service des Troubles du Comportement Alimentaire du **Dr Pommereau**,
- à **Mme le Dr Blanchard**, pour sa grande acuité clinique, son soutien et son amitié, ainsi que l'équipe paramédicale du service de Psychiatrie Adultes de la Clinique des Gravières et notamment Josy, Florent, Harmony et Claire,
- l'équipe médicale et paramédicale du service de Psychiatrie de l'Adolescent du Dr Ramirez à Bayonne et notamment **Madame le Docteur Carré**, pédiatre.

Je tiens à témoigner toute mon affection à :

- **mes parents et mes grands-parents** pour leur soutien,
- un grand merci spécial à **Marie** pour sa bonne humeur et son aide à toutes épreuves,
- **mes amis** (Avinash, Dan, Éléonore, Elsa, David, Matthieu, Page, Éric, Cédric, Marc, Jérémy, Alain, Daniel, Anne, Alban, Cécile...)

— mes co-internes sympas,

Et enfin à **Maxime**, sans qui rien de tout ceci ne serait possible...

Table des matières

Preambule	iii
Résumé	v
Remerciements	vii
Table des figures	xv
Abréviations	xix
1 Introduction	1
1.1 Les Troubles du Spectre Autistique	2
1.1.1 Diagnostic clinique	2
1.1.1.1 Evolution sémiologique	2
1.1.1.2 Evolution des classifications diagnostiques	4
1.1.1.3 Critères diagnostiques selon le DSM-5	5
1.1.1.4 Hétérogénéité clinique et Comorbidités	6
1.1.1.5 Diagnostics différentiels	7
1.1.1.6 Apport des recommandations récentes	8
1.1.2 Etiologies des TSA	9
1.1.2.1 Hétérogénéité étiologique	9
1.1.2.2 Causes environnementales des TSA	9
1.1.2.3 Étiologies génétiques	11
1.2 Diagnostic génétique des TSA	17
1.2.1 Évolution des techniques en génétique	17
1.2.2 Les outils diagnostiques	19
1.2.2.1 Les puces à ADN	19
1.2.2.2 Le séquençage de l'exome	21
1.2.3 L'apport des données partagées	22
1.3 Gènes, fonctions et TSA	23
1.3.1 Les gènes synaptiques	23
1.3.2 Les gènes codant les Neurologines dont <i>NGLN4</i>	27
2 Objectifs	31
2.1 Objectif 1 : Analyse clinique et identification de variants <i>de novo</i> dans plusieurs familles multiplexes	31

2.2	Objectif 2 : Etude phénotypique de patients avec anomalies des gènes <i>NLGN4X</i> et <i>NLGN4Y</i> : Analyse de réplication	32
3	Patients et Méthodes	33
3.1	Méthodes 1 : Analyse des familles multiplexes	33
3.1.1	Critères d'inclusion des familles, caractérisation clinique	33
3.1.2	Analyse de l'exome : Méthodes de séquençage, Alignement de séquence, Variant calling	35
3.1.3	Traitements des données d'exome, Pipeline d'analyse	36
3.1.4	Confirmation des variants <i>de novo</i>	37
3.1.5	Interaction Protéine-Protéine	38
3.1.6	Analyses statistiques	38
3.1.7	Détail de la famille MPX 11 : hypothèses de ségrégation	39
3.2	Méthodes 2 : Anomalies des gènes des Neuroligines	40
3.2.1	Méthodes de la méta-analyse des gènes codant les Neuroligines	40
3.2.2	Analyse d'une cohorte de patients présentant une anomalie du gène <i>NLGN4</i>	40
3.2.2.1	Inclusion, analyse des données cliniques des patients	40
3.2.2.2	Détection des CNV impliquant <i>NLGN4X</i> et/ou <i>NLGN4Y</i> par la technique de ddPCR	41
3.2.3	Analyses statistiques	41
4	Résultats	43
4.1	Analyse clinique et identification de variants <i>de novo</i> de 17 familles multiplexes	43
4.1.1	Caractérisation des variants <i>de novo</i> dans les familles MPX	43
4.1.2	Mutations <i>de novo</i> dans des gènes candidats aux TSA : <i>SRGAP3</i> , <i>SLC25A22</i> , <i>SHANK3</i>	45
4.1.3	Corrélation génotype-phénotype	46
4.2	Méta-analyse des gènes codant les Neuroligines dont <i>NGLN4</i>	55
4.2.1	<i>NGLN1</i> dans les Troubles du Spectre Autistique	56
4.2.2	<i>NGLN2</i> dans les Troubles du Spectre Autistique	58
4.2.3	<i>NGLN3</i> dans les Troubles du Spectre Autistique	60
4.2.4	<i>NGLN4X</i> dans les Troubles du Spectre Autistique	62
4.2.5	<i>NGLN4Y</i> dans les Troubles du Spectre Autistique	64
4.3	Identification de CNV impliquant <i>NLGN4</i>	67
4.3.1	CNV impliquant <i>NLGN4</i>	67
4.3.1.1	Dans les familles MPX	67
4.3.1.2	Dans la cohorte PARIS	68
4.3.2	Données cliniques des patients porteurs d'un CNV impliquant <i>NLGN4</i>	70
5	Discussion : Recherche clinique et génétique : Un service rendu aux patients	83
5.1	Intrications gènes et clinique	83
5.1.1	Mutations <i>de novo</i> et phénotype	83
5.1.2	Gènes synaptiques, Nouveaux gènes candidats, Pathways	86
5.1.3	Hypothèse du "Multiple Hit"	88
5.1.3.1	Analyse de ségrégation de la famille MPX11	89

5.1.3.2	Caractéristiques cliniques des individus de la famille MPX11	91
5.1.4	Imputabilité des mutations dans l'expression phénotypique des TSA	94
5.2	Implication des <i>NLGN</i> dans les TSA	94
5.2.1	<i>NLGN1</i> , <i>NLGN2</i> , <i>NLGN3</i> dans les TSA	95
5.2.2	<i>NLGN4X</i> , <i>NLGN4Y</i> dans les TSA	97
5.2.3	Anomalies de <i>NLGN4Y</i> dans la cohorte	97
5.3	La recherche au service des patients	98
5.3.1	Aller plus loin dans le diagnostic	98
5.3.1.1	Caractérisation clinique en fonction du sexe	98
5.3.1.2	Vers la définition d'endophénotypes?	99
5.3.1.3	Diagnostic génétique	100
5.3.2	Apport pour le conseil génétique	101
5.4	Les Limites de la cohorte, des technologies utilisées	102
5.4.1	Cohorte des 17 familles MPX	102
5.4.2	Méta-analyse des <i>NLGN</i>	103
5.4.3	Analyse des CNV des <i>NLGN4</i>	104
6	Conclusion	105
6.1	Phénotype des Troubles du Spectre Autistique	105
6.2	Relations Gènes, Fonctions et Neurodéveloppement	106
6.3	Corrélations génotype-phénotype dans les Troubles du Spectre Autistique	107
7	Perspectives : Innovations thérapeutiques	109
7.1	Repérage clinique et prise en charge précoces	109
7.2	Modèles animaux des TSA	109
7.3	Traitements pharmacogénétiques pour des terrains génétiques complexes : vers le développement d'essais cliniques et de traitements personnalisés	111
A	Annexes	113
A.1	Annexe 1 (chapitre 1)	113
A.2	Annexe 2 (chapitre 1)	114
A.3	Annexe 3 : protocole d'inclusion clinique (chapitre 3)	119
A.4	Annexe 4 (chapitre 3)	139
A.5	Annexe 5 (chapitre 4)	141
	Bibliographie	155

Table des figures

1.1	Évolution des intitulés diagnostiques des TSA en fonction des classifications	5
1.2	Expressions géniques dans le cerveau humain en fonction du temps	8
1.3	Hétérogénéité étiologique des Troubles du Spectre Autistique	10
1.4	Principales étiologies génétiques syndromiques et non syndromiques connues dans les TSA	16
1.5	Mutations <i>de novo</i> dans les TSA	18
1.6	Exemple de diagnostic de duplication en FISH dans le cadre d'un syndrome de Prader-Willi	19
1.7	Principe de la CGH-array	20
1.8	CNV et gènes impliqués dans les TSA référencés dans AutDB	23
1.9	"Gene scoring module", SFARI	24
1.10	TSA et gènes de réseaux neuronaux	25
1.11	Protéines synaptiques codées par des gènes impliqués dans les TSA	26
1.12	Interactions protéiques des gènes de la famille <i>SHANK</i> , <i>NRXN</i> , <i>NLGN</i>	26
1.13	Profil d'expression des gènes des Neurologines	27
1.14	Comparaison de l'homologie des protéines NLGN1, NLGN2, NLGN3, NLGN4X et NLGN4Y	27
1.15	Interactions des différents gènes <i>NLGN</i>	28
3.1	Distribution des individus des 17 familles MPX	34
3.2	Présentation des familles multiplexes de la cohorte	35
3.5	Pipeline d'analyse des données de séquençage	38
3.6	Exemple de validation visuelle (Logiciel IGV) et de chromatogramme de confirmation par méthode Sanger	39
4.1	Comparaison des évènements <i>de novo</i> chez les patients avec TSA et les sujets non atteints	44
4.2	Variants <i>de novo</i> par individu	44
4.3	Distribution des types de mutations <i>de novo</i> en fonction du statut	45
4.4	Variants <i>de novo</i> par individu dans les familles multiplexes 1	46
4.5	Variants <i>de novo</i> par individu dans les familles multiplexes 2	47
4.6	Variants <i>de novo</i> par individu dans les familles multiplexes 3	48
4.7	Interactions protéine-protéine des gènes touchés par des variants <i>de novo</i> dans les familles MPX (Dapple)	48
4.8	Données cliniques des familles MPX	49
4.9	Répartition des pathologies psychiatriques (toutes causes confondues) au sein des familles MPX	49

4.10 Répartition des pathologies psychiatriques au sein des familles MPX (par pathologie)	50
4.11 Histogramme représentant la répartition des pathologies psychiatriques au sein des familles MPX	51
4.12 Répartition des pathologies somatiques au sein des familles MPX	53
4.13 Détail des pathologies neurologiques dans la cohorte	53
4.14 Répartition des particularités sensorielles au sein des familles MPX	54
4.15 Articles sélectionnés pour la méta-analyse	55
4.16 Articles référencés dans SFARI	55
4.17 Anomalies génétiques de <i>NGLN1</i> et données cliniques issues de la littérature	57
4.18 Anomalies génétiques de <i>NGLN1</i>	57
4.19 Anomalies génétiques de <i>NGLN2</i> et données cliniques issues de la littérature	59
4.20 Anomalies génétiques de <i>NGLN2</i>	59
4.21 Anomalies génétiques de <i>NGLN3</i> et données cliniques issues de la littérature	61
4.22 Anomalies génétiques de <i>NGLN3</i>	61
4.23 Anomalies génétiques de <i>NGLN4X</i> et données cliniques issues de la littérature	63
4.24 Anomalies génétiques de <i>NGLN4X</i>	63
4.25 Anomalies génétiques de <i>NGLN4Y</i> et données cliniques issues de la littérature	65
4.26 Anomalies génétiques de <i>NGLN4Y</i>	66
4.27 Arbres généalogiques des familles MPX présentant un CNV de <i>NLGN4Y</i>	67
4.28 Délétion de <i>NLGN4Y</i> détectée par SNP-array	68
4.29 Duplication de <i>NLGN4Y</i> détectée par SNP-array	69
4.30 Puce à ADN (SNP array) de la région délétée détectée en ddPCR	70
4.31 Puce à ADN (SNP array) de la région dupliquée détectée en ddPCR	71
4.32 Caractéristiques cliniques de la famille MPX19	72
4.33 Représentation schématique des données cliniques du patient 1 et de ses apparentés	73
4.34 Comparaison des profils cliniques des patient 1, 2 et 3	76
4.35 Caractéristiques cliniques de la famille MPX19	77
4.36 Données cliniques et génétiques des patients 5 et 6	78
4.37 Comparaison des profils cliniques des patients 5, 7 et 8	79
4.38 Données cliniques de l'ensemble des patients présentant un CNV de <i>NLGN4Y</i>	80
4.39 Données cliniques de l'ensemble des patients présentant un CNV de <i>NLGN4Y</i>	81
5.1 Comparaison de l'enrichissement des gènes en fonction de la localisation et selon le statut clinique	87
5.2 Comparaison des grands CNV récurrents chez les patients TSA ou avec déficience intellectuelle	88
5.3 Analyse de ségrégation des variants de la famille MPX11 en fonction du phénotype clinique	91
5.4 Réseau d'interaction géniques des variants de la famille MPX11	92
5.5 Données cliniques des membres de la famille MPX11	93
5.6 Implication des gènes des TSA dans d'autres pathologies	95
5.7 Logiciel Cartagéria	101
7.1 Protéines synaptiques impliquées dans les TSA	112

A.1 Q-CHAT	115
A.5 ADI-R	120
A.11 ADOS	126
A.15 SRS	130
A.18 RBS	133
A.24 Séquences des primers utilisés pour <i>NLGN4</i> en ddPCR	139
A.25 Localisation de l'amorce d'amplification sur <i>NLGN4X</i> et <i>NLGN4Y</i> (Primer 1)	139
A.26 Localisation de l'amorce d'amplification sur <i>NLGN4X</i> et <i>NLGN4Y</i> (Primer 2)	140
A.27 Séquences des primers utilisés pour la validation des variants <i>de novo</i> en méthode Sanger	140

Abréviations

ADN	A cide D éoxyribo N ucléique
ARN	A cide R ibo N ucléique
ASD	A utism S pectrum D isorder (Troubles du Spectre Autistique)
AVC	A ccident V asculaire C érébral
CNV	C opy N umber V ariant (Variation du nombre de copie)
ddPCR	digital droplet P olymerase C hain R eaction
DI	D éficiência I ntellectuelle
EEG	E lectro- E ncéphlo G ramme
FISH	F luorescence I n S itu H ybridization (Florescence par Hybridation in situ)
Indel	I nsertion, D élétion
IPs cells	I nduced P luripotent s tem cells (Cellules souches pluripotentes induites)
IDM	I nfarctus D u M yocarde
IRM	I magerie par R ésonnance M agnétique
kb	K ilobase (Unité de mesure génétique correspondant à 1000 paires de bases)
Mb	M égabase (Unité de mesure génétique : 1 million de paires de bases)
MPX	famille multiplexe (plusieurs individus atteints dans une famille)
ncRNA	N on- C oding R NA (ARN non-codant)
NGS	N ext G eneration S equencing
RGO	R eflux G astro- O esophagien
SFARI	S imons F ondation A utism R esearch I nitiative
SnoRNA	S mall N ucleolar R NA (Petits ARN nucléolaires)
SNP	S ingle N ucleotide P olymorphism (Polymorphisme de simple nucléotide)
SPX	famille simplexe (un seul individu atteint dans une famille)
TCA	T roubles du C omportement A limentaire
TSA	T roubles du S pectre A utistique

UGD	U lcère G astro- D uodénal
VOUS	V ariant O f U nknown S ignificance (Variant de signification indéterminée)
WGS	W hole G enome S equencing

Chapitre 1

Introduction

Le Ministère des Affaires Sociales et de la Santé a déclaré en 2012 l'autisme comme grande cause nationale. En 2013, un plan Autisme a été mis en place et reconduit pour la 3ème fois jusqu'à 2017. A plusieurs reprises, la Haute Autorité de Santé a diffusé des recommandations concernant les objectifs à atteindre pour le diagnostic et le soin de cette pathologie. L'autisme et plus largement les troubles du spectre autistique (TSA) font l'objet de nombreuses études qui ont conduit à reconsidérer les étiologies de ces troubles.

La présente thèse a plusieurs objectifs : d'abord la recherche de variants *de novo* et leur implication dans les troubles observés dans plusieurs familles multiplexes (présentant plusieurs individus atteints sur une ou plusieurs générations), ensuite une analyse plus détaillée d'une de ces familles illustrant l'impossibilité d'expliquer le phénotype sans considérer les variants génétiques hérités, enfin la recherche de variants dans les gènes des neuroligines impliqués dans l'adhésion cellulaire des neurones, la mise en évidence de mutations génétiques et l'analyse clinique détaillée des patients présentant une anomalie génétique donnée afin de mieux comprendre la physiopathologie des Troubles du Spectre Autistique.

A plus long terme, ce travail vise à montrer comment la Recherche clinique et génétique permet un service rendu aux patients. Néanmoins, l'ensemble des recherches présentées sont à remettre dans leur perspective historique quant à la relativité des connaissances scientifiques limitées au temps de leur découverte.

1.1 Les Troubles du Spectre Autistique

1.1.1 Diagnostic clinique

Depuis la description sémiologique en 1943 de l'Autisme de Kanner [1] et du syndrome d'Asperger [2], de nombreuses classifications nosographiques se sont succédées. Suite à la parution du Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-5 (DSM-5) en 2013, le terme d'autisme a été élargi et remplacé par le diagnostic de Troubles du Spectre Autistique qui rend davantage compte de la forte hétérogénéité clinique de ces troubles [3].

Les TSA se caractérisent par la survenue avant l'âge de 36 mois d'une altération majeure de la communication sociale (verbale et non-verbale), des intérêts restreints et des comportements stéréotypés. Le sexe-ratio déséquilibré est de 1 fille pour 4 garçons à 1 fille pour 8 garçons selon l'importance du déficit intellectuel associé (respectivement sans et avec déficience intellectuelle) [4]. Cependant, ces données épidémiologiques pourraient tendre vers une rééquilibration du sexe-ratio selon l'idée qu'il existe un biais diagnostique dû en partie aux critères diagnostiques établis à partir de cohortes de garçons, ainsi qu'une meilleure adaptabilité symptomatique des filles présentant un autisme de haut-niveau et de la plus grande tolérance sociétale en terme de timidité et de réserve du comportement attendu chez les filles [5].

La fréquence de ces troubles est en constante augmentation et est actuellement estimée à environ 1% de la population générale [6], [7], [8], voire à 1.5% en Finlande, en Suède et au Danemark [9]. Cette augmentation peut être due à une réelle majoration de ces troubles, à un faible taux diagnostic antérieur, ainsi qu'à un élargissement des critères diagnostiques ou à une conjonction des ces différentes hypothèses. Les études épidémiologiques longitudinales à venir permettront de quantifier l'augmentation de la prévalence de ces troubles et préciser leurs étiologies.

1.1.1.1 Evolution sémiologique

Comme de nombreuses pathologies psychiatriques, les Troubles du Spectre Autistique ont fait l'objet de plusieurs remaniements quant à leur définition sémiologique.

Au début du XIXème siècle, les troubles de la communication sont les premiers symptômes mis en évidence. Itard est le premier à publier des observations d'enfants mutiques [10]. Puis Bourneville [11] décrit des tics moteurs et mouvements stéréotypés chez des enfants atteints de ce qu'il nomme la sclérose tubéreuse.

Au début du XXème siècle, trois grandes hypothèses diagnostiques émergent pour regrouper les symptômes.

Initialement, se pose la question d'un trouble démentiel :

- Démence précoce de Kraepelin à la fin du XIXème siècle [12]
- Démence infantile d'Heller en 1906.

Puis, de troubles schizophréniques, appartenant au champ de la psychose dans la théorie freudienne :

- Bleuler invente le premier le terme d'autisme pour décrire le repli de la schizophrénie [13],
- Puis Mélanie Klein travaille sur la démence précoce et la schizophrénie infantile [14].

Il faut attendre 1943 pour que soient décrits les troubles autistiques du contact affectif par Kanner comportant un isolement social extrême (« aloneness »), un besoin d'immuabilité (« sameness »), une rigidité du comportement associé à un langage atypique. Il tire de ces observations la notion de « mères réfrigérateurs » qui seraient à l'origine de l'absence de développement normal des patients [1].

La même année, Asperger énonce à partir de ses observations cliniques la psychopathie autistique qui comporte des perturbations du contact (empathie et anticipation limitées), des difficultés de communication et d'adaptation sociale, ainsi que des exploits intellectuels contrastant avec des capacités décrites comme lacunaires [2]. C'est Lorna Wing qui en 1981, utilise le terme de « syndrome d'Asperger » à propos de 4 patients présentant ces compétences sociales, linguistiques et cognitives particulières antérieurement décrites.

Le courant psychanalytique évoque le diagnostic de psychose infantile et de dysharmonie évolutive pour décrire les différentes formes cliniques, réservant le terme d'autisme à la description clinique "pure" de Kanner. Cette nosologie a été utilisée majoritairement en France. Le terme d'autisme étant utilisé pour une symptomatologie plus large aux Etats-Unis [15].

Pour certains écrits psychanalytiques, la cause principale de la survenue de l'autisme chez un bébé s'installe à un stade très précoce par l'impossibilité de mettre en place les enveloppes psychiques par la co-construction relationnelle avec la mère. Il s'agit pour les psychanalystes d'un développement anormal encore plus précoce que la psychose infantile qui consiste en une impossibilité d'individuation du bébé, la relation mère-bébé étant dans les deux cas la cause des traumatismes ne permettant pas de mettre en place un développement névrotique [16].

Bruno Bettelheim tente d'expliquer l'autisme en faisant l'homologie entre son expérience concentrationnaire durant la seconde guerre mondiale et les symptômes autistiques [17].

Ensuite, à cette époque, parmi ceux qui considèrent l'autisme comme un trouble spécifique, on trouve Margareth Mahler qui oppose l'autisme infantile, caractérisé selon elle par une "hallucination négative de la réalité", à la "psychose symbiotique ayant pour but de maintenir un lien délirant à une mère archaïque, projetée sur tous les objets" [18]. On peut encore citer Creak (1961) qui tente d'apporter une définition plus large des troubles autistiques en y incluant la schizophrénie infantile. Cette définition est par la suite complétée par les travaux de Rutter et Schopler [19].

Parallèlement, de précédents travaux ont cherché à doter la médecine d'une méthode scientifique, tel qu'en témoignent les travaux de Louis Pasteur et de Claude Bernard, fondateur de la médecine expérimentale [20]. Depuis cette avancée majeure qu'est l'invention de la médecine basée sur les preuves ("*evidence-based medicine*"), les progrès techniques majeurs ont permis l'accroissement des connaissances médicales notamment dans le domaine des neurosciences, permettant une lecture nouvelle des pathologies neurologiques et psychiatriques. Le développement des moyens de communication et des outils de recherche a mis en lumière la nécessité d'harmoniser les diagnostics afin que l'homogénéisation puisse servir de base aux différentes études clinique et de recherche internationales.

1.1.1.2 Evolution des classifications diagnostiques

De ce fait, plusieurs classifications diagnostiques ont été proposées.

En France, deux grands systèmes validés de classification des pathologies psychiatriques sont utilisés de façon prioritaire. Il s'agit de la Classification Internationale des Maladies (CIM) [21] et du Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) [3]. Il existe également la Classification Française des Troubles Mentaux de l'Enfant et de l'Adolescent (CFTMEA) [22] mise à jour en 2000, établie à partir de la théorie psychanalytique et globalement moins usitée sur le plan national et international.

La CIM-10 est une classification publiée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Elle sert de référence pour les études épidémiologiques portant sur les causes de morbidité et de mortalité en médecine. Le DSM a été conçu et publié par l'Association Américaine de Psychiatrie (APA) comme un manuel de référence catégorisant les pathologies psychiatriques. La cinquième version (DSM-5) actuelle est la plus utilisée au niveau international.

La figure 1.1 illustre les différents intitulés diagnostiques en fonction de l'évolution des classifications.

DSM-III (1980)	DSM-III-R (1987)	CIM-10 (1992)	CFTMEA (2000)	DSM-IV (1994)	DSM-IV-TR (2000)	DSM-V
Trouble Global du Développement	TED (1992)	TED (1993)	Psychoses précoces (TED)	TED (1996)		TSA (2013)
Autisme infantile	Trouble autistique	Autisme infantile	Autisme infantile précoce type Kanner	Trouble autistique		Trouble du spectre autistique
		Autisme atypique autres TED	Autres formes de l'autisme : Psychose précoce déficitaire	TED non spécifié		
Syndrome complet			Retard mental avec troubles autistiques	Syndrome de Rett		
Syndrome résiduel			Autres psychoses précoces ou autres TED			
			Dysharmonie psychotique			
		Syndrome de Rett	Troubles désintégratifs de l'enfance	Troubles désintégratifs de l'enfance		
		Autres troubles désintégratifs				
		Syndrome d'Asperger	Syndrome d'Asperger	Syndrome d'Asperger		inclus dans TSA
		Troubles hyperactifs avec retard mental et stéréotypies				
	TED non spécifié	TED sans précision		TED non spécifié (dont autisme atypique)		

FIGURE 1.1: Évolution des intitulés diagnostiques des TSA en fonction des classifications

Les versions antérieures qui ont permis d'aboutir au DSM-IV tendaient à introduire des catégories diagnostiques, tandis que le DSM-5 apporte une vision plus dimensionnelle, puisque n'est retenue qu'une seule entité, les Troubles du Spectre Autistique (TSA), dont le retentissement doit être évalué par diverses échelles de fonctionnement. C'est d'ailleurs ce que Rutter dans une revue de la littérature publiée en 2011 préconisait [23]. Il estimait que le nombre de diagnostics différents devait être réduit et que les approches catégorielles et dimensionnelles devaient être combinées.

1.1.1.3 Critères diagnostiques selon le DSM-5

Le DSM-5 définit les critères diagnostiques des troubles du spectre autistique comme une altération significative par rapport à ce qui est attendu pour l'âge de :

- Altération qualitative de la communication sociale (verbale et non-verbale),
- Caractère restreint, répétitif et stéréotypé des comportements, des intérêts et des activités [3].

Les symptômes doivent être présents depuis la petite enfance, même s'ils peuvent se manifester pleinement uniquement au moment où les demandes sociales dépassent les capacités individuelles. Ces symptômes doivent limiter ou altérer le fonctionnement quotidien. Et ces perturbations ne doivent pas être mieux expliquées par une déficience intellectuelle ou un retard global de développement (Annexe 1).

Le diagnostic de Syndrome d'Asperger a disparu du DMS-V, le diagnostic de TSA devant préciser s'il existe ou non un retard de langage et une déficience intellectuelle associés.

1.1.1.4 Hétérogénéité clinique et Comorbidités

Il existe une très grande hétérogénéité clinique des TSA rendant difficile leur diagnostic. En effet, les TSA représentent un ensemble de symptômes extrêmement hétérogène tant du point de vue de leur expression que de leur intensité. Le terme de Troubles du Spectre Autistique tend à prendre en compte ce caractère cliniquement contrasté en créant un continuum clinique entre normal et pathologique.

Les premiers symptômes peuvent apparaître très précocement dans le développement du bébé : dès les premiers mois des difficultés de sourire-réponse ou un contact visuel fluctuant ou insuffisant. Les symptômes peuvent correspondre vers 4 mois à un défaut d'attitude anticipatoire ou d'ajustement postural, vers 8-10 mois à un défaut d'attention conjointe et un défaut d'orientation vers les stimuli sociaux, vers 14-18 mois à une absence de pointage proto-déclaratif et vers 2 ans une absence d'accès au langage.

Dans une proportion non négligeable de cas, le développement précoce semble tout à fait normal pour l'âge, mais se produit vers 18 à 32 mois une régression comportementale et langagière sans qu'une comorbidité somatique, notamment neurologique, soit apparue et puisse expliquer le tableau régressif. Par ailleurs, apparaissent des intérêts restreints et des comportements stéréotypés comme un intérêt pour ce qui tourne, les détails des objets avec une absence de jeu conventionnel, des stéréotypies motrices (flapping) ou des comportements d'autostimulations visuelles, buccales, vestibulaires, vocales, sonores [24].

Un outil de dépistage clinique précoce, le M-CHAT (Modified-Check-List for Autism in Toddlers) [25] peut être utilisé pour les enfants âgés de plus de 18 mois par tout professionnel de la petite enfance. Le diagnostic clinique ne sera confirmé classiquement qu'après l'âge de 3 ans du fait de la très grande variabilité développementale des enfants à cet âge. Il fera suite à une évaluation clinique spécialisée en pédopsychiatrie à l'aide d'outils diagnostiques standardisés (ADI-R (Autism Diagnostic Interview Revised), ADOS (Autism Diagnostic Observation Schedule), échelles de réciprocité sociale (SRS), échelles de communication (ECSP, Mullen), bilan psychologique (Raven, WISC en fonction de l'âge et des compétences verbales des patients), bilan psychomoteur) [26].

Dans cette évaluation, il est fondamental de prendre en compte à la fois l'hétérogénéité clinique des TSA, ainsi que les comorbidités psychiatriques (Trouble/Déficit de l'Attention avec ou sans Hyperactivité (TDAH), troubles anxieux, dépression, schizophrénie principalement à l'âge adulte) troubles du sommeil (40-60%)[27] et somatiques (épilepsie associée (12,5%) [28], troubles digestifs [29] ou métaboliques). Environ un tiers des patients présentent une déficience intellectuelle associée [7, 30].

Même si la plupart des symptômes autistiques sont relativement stables entre 4 et 14 ans, plusieurs études ont montré que la trajectoire clinique de certains patients pouvait ne pas être linéaire. Approximativement 10% des enfants clairement atteints dans l'enfance accroissent rapidement leurs habilités sociales et de communication et ont une diminution considérable de l'impact de leur handicap à l'âge adulte [24].

Puisqu'il existe des trajectoires développementales différentes au sein de ces troubles, mais que celles-ci sont peu prévisibles, on comprend l'intérêt des stratégies d'interventions thérapeutiques précoces, adaptées et intensives qui montrent leur intérêt dans l'amélioration des fonctions cognitives et adaptatives des jeunes enfants atteints de TSA (figure 1.2).

1.1.1.5 Diagnostics différentiels

La question des diagnostics différentiels dépend de l'âge auquel le diagnostic de TSA est évoqué.

Chez les enfants, les principaux diagnostics différentiels à éliminer peuvent être séparés selon leurs causes somatiques ou psychiatriques.

Du point de vue somatique, on cherche à éliminer systématiquement :

- un trouble neuro-sensoriel (hypoacousie/surdité, troubles neurovisuels graves),
- une pathologie neurologique innée ou acquise (malformation, tumeur cérébrale, séquelles d'accident vasculaire cérébrale néonatal, de méningite, encéphalopathie épileptique),
- un syndrome polymalformatif grave n'entrant pas dans le cadre d'autisme syndromique,
- une maladie métabolique de surcharge (phénylcétonurie), une maladie mitochondriale.

Sur le plan psychiatrique, les principaux diagnostics différentiels à évoquer sont :

- une déficience intellectuelle sévère,
- un retard global de développement,
- une phobie sociale sévère,
- un retard de langage isolé,
- une carence relationnelle majeure (hospitalisme, maltraitance sévère).

Chez les adultes, on se pose la questions des diagnostics différentiels suivants :

- une schizophrénie principalement,
- une phobie sociale sévère,
- un trouble du langage expressif ou mixte
- un trouble grave de la personnalité.

Chez l'adulte, c'est la reprise anamnétique précise qui permet de faire la différence entre TSA et schizophrénie, avec le risque de biais de mémorisation du patient et de sa famille.

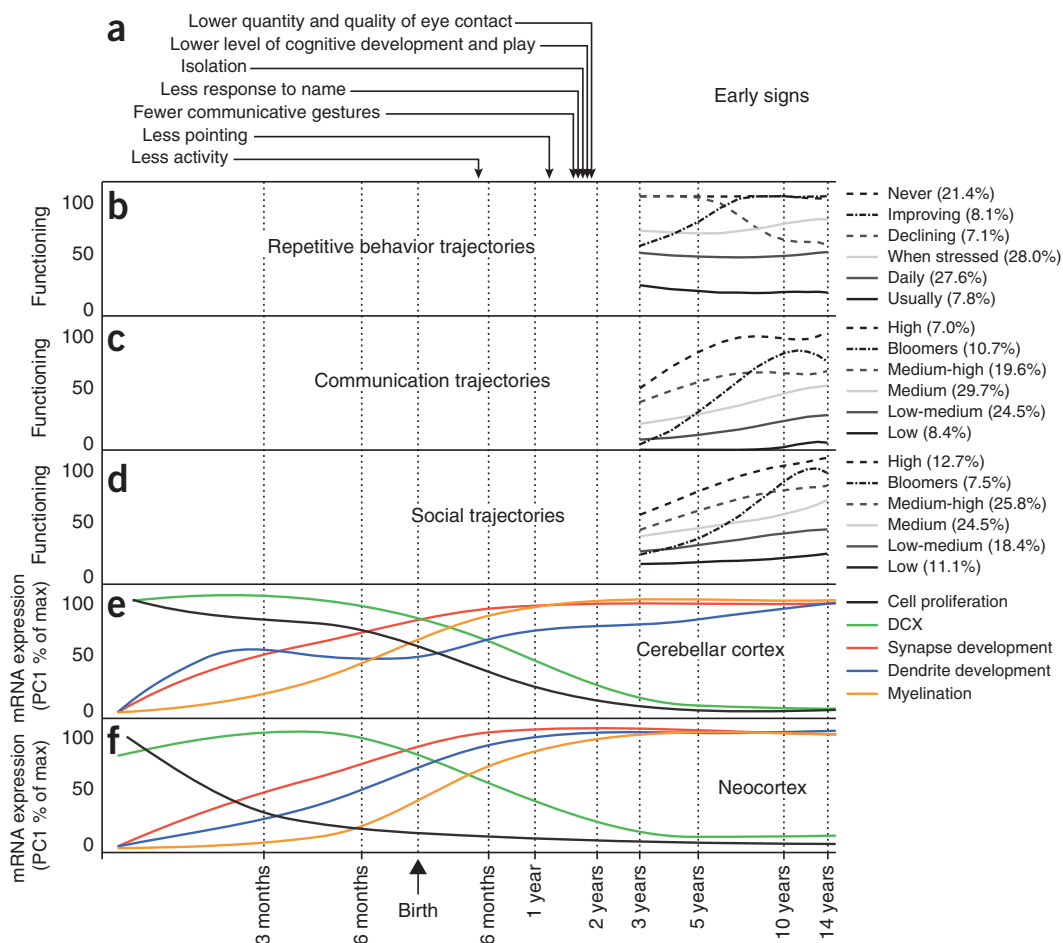


FIGURE 1.2: Expressions géniques dans le cerveau humain en fonction du temps, trajectoires développementales observées chez les patients avec TSA (a) Les premiers symptômes des TSA sont présents dans les 2 premières années de vie. (b-d) Trajectoires développementales de 6975 enfants avec TSA suivis du diagnostic à l'âge de 14 ans. 6 trajectoires distinctes étaient définies à partir de chaque signe cardinal de l'autisme (interactions sociales, communication sociale, intérêts restreints). Les pourcentages entre parenthèses indiquent la proportion de sujets qui montrent chaque trajectoire. (e-f) Trajectoires d'expression des gènes associés à la prolifération cellulaire, double-cortin immunopositive cells (DCX), dendrites, synapses et myélinisation dans le cortex cérébelleux et le néocortex humain. Source : Delorme, Nature medicine, 2012 [24]

1.1.1.6 Apport des recommandations récentes

Les recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS) concernant la prise en charge des Troubles du Spectre Autistique visent à standardiser l'approche diagnostique et thérapeutique de cette pathologie en fonction des connaissances médicales générées par l'"*evidence-based medicine*". La première version de ces recommandations datent de 2005, avec un complément en 2012 [26].

Cet avis comporte des recommandations de bonnes pratiques. Pour porter le diagnostic de

TSA, l'HAS recommande une évaluation clinique associée à l'utilisation d'outils standardisés (ADOS, ADI-R, CARS). Sur le plan psychiatrique, l'évaluation du retentissement des troubles comprend un bilan cognitif, un examen du langage et de la communication, ainsi qu'un examen du développement psychomoteur et sensorimoteur (Profil sensoriel de Dunn [31]).

Il est ensuite recommandé de procéder à un bilan étiologique et un bilan des comorbidités par l'interrogatoire des parents sur l'histoire de la grossesse, les antécédents personnels et familiaux, un examen clinique neurologique, dysmorphologique, auditif et ophtalmologique.

Un certain nombre d'investigations complémentaires doivent être réalisées de manière systématique :

- examen de la vision et de l'audition : Potentiels Évoqués Auditifs, Audiogramme,
- bilans neurométaboliques,
- EEG de veille et de sieste pour dépister une éventuelle épilepsie infraclinique,
- bilan neuropédiatrique : IRM cérébrale morphologique et avec spectroscopie pour dépister de façon non invasive un déficit en créatinine,
- examen génétique (c.f. Chap 1.3.2).

Ainsi ces investigations visent à éliminer un diagnostic différentiel, à déterminer une étiologie au TSA et à dépister une éventuelle comorbidité.

1.1.2 Etiologies des TSA

Les étiologies des TSA sont controversées, même si les théories analytiques sont aujourd'hui presque complètement exclues. Les TSA sont considérés comme un trouble neuro-développemental dans lequel intervient une conjonction complexe de facteurs génétiques, environnementaux et épigénétiques [32, 33].

1.1.2.1 Hétérogénéité étiologique

Les TSA sont à ce jour considérés comme les troubles neuropsychiatriques les plus héréditaires (56 à 95%) [34], argument très en faveur d'une origine génétique à ces troubles. La figure 1.3 résume les catégories étiologiques actuellement connues dans les TSA.

1.1.2.2 Causes environnementales des TSA

Du fait de nombreux facteurs confondants et de la difficulté de mener des études de cohorte longitudinales, les étiologies environnementales qui pourraient être impliquées

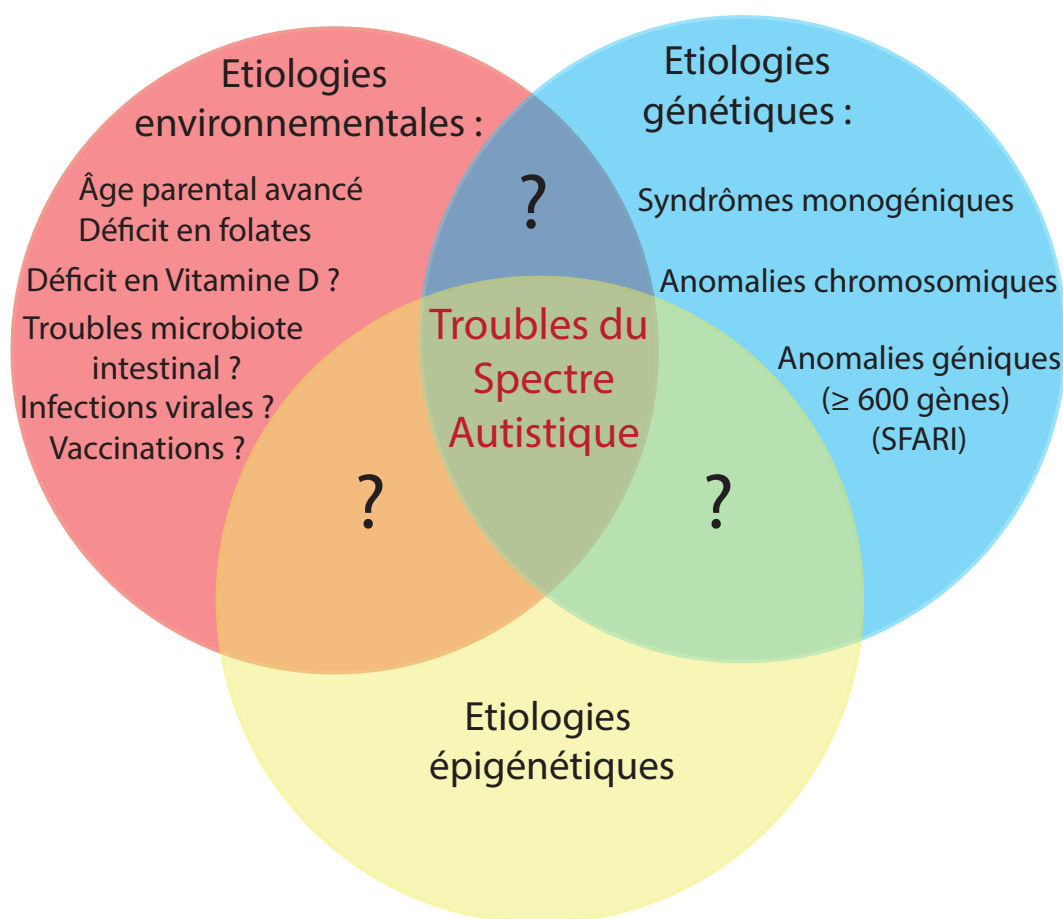


FIGURE 1.3: Hétérogénéité étiologique des Troubles du Spectre Autistique

dans les TSA sont difficiles à mettre évidence avec un bon niveau de preuve. A ce jour, seules quelques hypothèses environnementales ont pû être retenues.

L'âge parental avancé représente un facteur de risque environnemental important pouvant être dû à l'accumulation dans le temps de mutations dans la lignée germinale [35]. Également, l'absence de supplémentation en folates avant et durant le premier trimestre de la grossesse et la prématurité sont associés à une augmentation du risque de développement d'un TSA [36].

D'autres hypothèses environnementales comme les infections virales durant la grossesse ou les premiers mois de vie, ainsi que d'autres facteurs néonataux (hypoxie néonatale, exposition *in utero* ou précoce à des traitements) ou un déficit en vitamine D demeurent controversées [37, 38].

Certaines hypothèses n'ont pas à ce jour été retenues comme la vaccination, l'intoxication aux métaux lourds, les intolérances au gluten ou à la caséine. De même, la relation parents-enfant n'est pas une cause environnementale de TSA (même si le TSA a nécessairement un retentissement sur la relation parents-enfant).

D'autres hypothèses plus récentes d'interactions avec l'environnement émergent depuis plusieurs mois, mais n'ont pas encore été infirmées ou confirmées compte-tenu du peu d'études publiées. Il s'agit par exemple du déséquilibre du microbiote intestinal [39].

1.1.2.3 Étiologies génétiques

Les TSA sont à ce jour considérés comme la pathologie psychiatrique la plus héritable [40]. Cette forte hérédité des TSA fait envisager une forte composante génétique à ces troubles. Cette hérédité peut différer d'une famille à une autre. Les études familiales ont été réalisées afin de mieux comprendre la transmission des TSA. La phylogénie, la présence de traits autistiques chez les parents et de comorbidités psychiatriques dans la famille peuvent donner des informations sur les modes de ségrégation. Les études de jumeaux montrent un très fort taux de concordance chez les garçons (61%), moindre chez les filles (19%) et le risque relatif pour un enfant à naître dans une fratrie où un enfant est déjà atteint est de 2,25 [41].

Diagnostiquées chez plus de 25% des patients, les étiologies génétiques sont très hétérogènes [24, 42]. Le diagnostic des anomalies génétiques présentes chez les patients atteints de TSA dépend de l'évolution des technologies utilisées. Compte-tenu de leur évolution constante, ce nombre est amené à croître rapidement. Parmi les étiologies génétiques, plusieurs pathologies monogéniques sont aujourd'hui bien répertoriées, les autres étiologies comprennent les anomalies chromosomiques microscopiques ou inframicroscopiques, et les anomalies géniques.

Historiquement, les premières anomalies décrites correspondaient à des anomalies monogéniques dans le cadre d'autisme syndromique. Ensuite, ont été décrites des anomalies à l'échelle chromosomique, puis à l'échelle du gène.

Syndrômes mendéliens : Autisme syndromique

Les cas d'autisme syndromique sont décrits chez des patients de même phénotype autistique et dysmorphique qui sous-tendent des anomalies génétiques récurrentes. Il s'agit le plus souvent d'un modèle d'anomalies monogénétiques qui ségrègent de façon dominante, récessive ou liée à l'X selon un modèle mendélien.

- **Le syndrome de Rett** est un syndrome autistique particulier (dans le DSM-5) qui se caractérise cliniquement, chez les filles uniquement, par la survenue, après une période d'environ un an de développement normal, d'une régression rapide des acquisitions. Le tableau clinique est dominé par des stéréotypies manuelles majoritairement sur la ligne médiane associées à un retrait social, une absence de langage et des troubles de la marche avec ou sans épilepsie associée. Il existe une

atrophie cérébrale diffuse, affectant surtout la substance grise se traduisant par une décélération de la croissance du périmètre crânien et à terme une microcéphalie. La mutation responsable est située sur le gène *MeCP2* (methyl-CpG-binding protein 2) situé sur le bras long du chromosome X, dans la région Xq28. La prévalence de ce syndrome est estimée à 1/15000 en Europe. Les mutations du gène *MeCP2* se produisant généralement *de novo*, le risque de récurrence empirique est faible (estimé à moins de 1/300) [43]. Chez les garçons, des mutations du gène *MeCP2* sont associées à des encéphalopathies, tableau clinique différent n'entrant pas dans le cadre du syndrome de Rett. Ce syndrome a récemment été associé à des mutations des gènes *CDKL5*, *Nétrine G1*.

- **Le syndrome de l’X-fragile (FXS)** est la cause la plus fréquente de retard mental d’origine génétique, il peut aussi entraîner des symptômes autistiques. Sa prévalence estimée est entre 1/2500 à 1/4000. Du point de vue développemental, il existe un retard des acquisitions psychomotrices et langagières. Le déficit intellectuel et les troubles du comportement de type autistique y sont variables et plus sévères chez les garçons. Les filles peuvent ne présenter que des troubles des apprentissages avec QI normal jusqu’à des symptômes autistiques d’intensité généralement moins sévère. La plupart des garçons et environ 30% des filles ont un déficit intellectuel significatif à l’âge adulte [44]. Chez les garçons et 50% des filles, les troubles intellectuels s’associent à des troubles du comportement et/ou à des signes dysmorphiques caractéristiques : visage étroit et allongé, oreilles et front proéminents, hyperlaxité des doigts, pieds plats et macro-orchidie chez le garçon après la puberté. Le FXS est dû à des anomalies du gène *FMR1* (Xq27.3), causées par l’expansion de la répétition de triplets (CGG)_n dans sa région 5’ non traduite. Ces mutations complètes proviennent d’allèles instables, prémutés (55 à 200 répétitions de CGG). La transmission est dominante liée à l’X, à pénétrance incomplète chez les filles. De rares cas de mutations ponctuelles intragéniques de *FMR1* sans expansion de répétitions CGG ont été décrits. Le gène *FMR1* code FMRP, une protéine de liaison à l’ARNm qui régule la synthèse protéique et d’autres voies de signalisation dendritiques. L’inhibition transcriptionnelle de la protéine FMR1 réduirait la plasticité et la modulation synaptique dans l’ensemble du cerveau [45].

- **La sclérose tubéreuse de Bourneville** : De transmission autosomique dominante, elle présente une prévalence de 8,8/100 000. Elle se caractérise par des symptômes autistiques et une déficience intellectuelle variable dans plus de 50%

des cas. Le diagnostic est évoqué cliniquement principalement par la présence de lésions évocatrices : angiofibromes cutanéofaciaux, tumeurs de Koenen, plaques fibreuses du front et du cuir chevelu, angiomyolipomes rénaux, nodules sous-épendymaires ou tubers corticaux multiples, hamartomes rétiens. Il existe dans 60% des cas une épilepsie souvent résistante. Deux locus majeurs ont été identifiés, l'un en 9q34 (*TSC1*), l'autre en 16p13 (*TSC2*) (gènes suppresseurs de tumeur) avec une grande variabilité dans leur expression [46].

Anomalies cytogénétiques

Les anomalies cytogénétiques sont classées en deux grands groupes : les anomalies chromosomiques et les remaniements chromosomiques cryptiques.

Les anomalies chromosomiques détectées par le caryotype conventionnel comptent pour 3 à 7% des cas de Troubles du Spectre Autistique [47]. Tous les chromosomes ont été impliqués au moins une fois chez les patients.

Il s'agit d'anomalies du nombre de chromosomes en particulier de trisomies ou de délétions et de duplications de fragments de chromosomes. L'utilisation de la technologie d'hybridation *in situ* (FISH) a permis de mettre en évidence des réarrangements de petits fragments chromosomiques dans de nombreux cas d'autisme syndromique comme par exemple :

- **Le syndrome d'Angelman** : Anciennement appelé "Happy Puppet Syndrome", le syndrome d'Angelman se caractérise cliniquement par une hypotonie précoce avec retard global de développement. Après 2 ans, sont au premier plan une déficience intellectuelle sévère, une absence de langage, des symptômes autistiques avec flapping provoqués par des éclats de rire. Le développement moteur est retardé avec une ataxie entraînant une démarche raide et dandinante de "pantin". Des éléments dysmorphiques regroupent une microcéphalie, une macrostomie, une hypoplasie maxillaire, un prognatisme, une hypopigmentation iridienne (évatrice d'une délétion de la région 15q11). Le comportement apparaît souvent joyeux, avec une hyperactivité sans agressivité, des troubles attentionnels et une hyperexcitabilité. Souvent il existe une hypersensibilité à la chaleur, ainsi qu'une fascination pour l'eau. Dans de nombreux cas, une épilepsie est associée avec des anomalies EEG spécifiques (activité delta triphasique à prédominance frontale). Sa prévalence mondiale est estimée de 1/20000 à 1/10000. Ce syndrome est causé par différentes anomalies génétiques de la région 15q11.2-q13 : délétion de la région dans 60 à 75% des cas, disomie uniparentale paternelle dans 2 à 5% des cas,

défaut d’empreinte dans 2 à 5% ou mutation du gène *UBE3A* dans 10% des cas (et plus rarement *UBE3B*) [48].

- **Le syndrome de Prader-Willi** est une maladie génétique rare (1/25000 naissances). Une hypotonie majeure pendant la période néonatale et les deux premières années de vie entraîne des troubles de la déglutition qui s’améliorent avec le temps. Un syndrome dysmorphique est présent et comporte un front étroit, des yeux en amande, une lèvre supérieure fine avec des coins de la bouche tombants. Les extrémités sont courtes, avec des petits pieds et des petites mains. Il existe un retard statural dû à un déficit en hormone de croissance et un développement pubertaire incomplet. Après l’âge de deux ans, s’instaurent des troubles du spectre autistique avec déficit intellectuel modéré, associés à des difficultés d’apprentissage et des troubles du comportement, notamment alimentaires avec une hyperphagie importante par absence de satiété entraînant un risque d’obésité morbide [49]. Ce phénotype est associé à des anomalies du chromosome 15 très hétérogènes sur le plan génétique apparaissant le plus souvent de façon accidentelle et sporadique, il est souvent retrouvé une délétion de la région 15q11-q13 d’origine paternelle (70% des cas), une translocation déséquilibrée *de novo* (5%), une disomie uniparentale maternelle (25-30%), un défaut d’empreinte (1-2%) [50] ou encore une mutation des gènes SnoRNA [51]. Les cas familiaux sont très rares.

Les remaniements chromosomiques cryptiques comprennent les syndromes microdélétionnels et microduplicationnels.

Parmi ces anomalies, on peut citer :

- **Le syndrome de Digeorge**, encore appelée syndrome de microdélétion 22q11.2, quelque fois suspectée *in utero* se caractérise par l’association d’une cardiopathie conotruncale congénitale (77% des cas) et une dysmorphie faciale mineure (ptosis, hypertélorisme, épicanthus, base nasale proéminente, hypoplasie malaire), pouvant aller jusqu’à des formes complètes avec un syndrome vélocardiofacial. A la naissance, se manifestent un déficit immunitaire en lien avec une hypoplasie du thymus et une hypocalcémie néonatale due à une anomalie des parathyroïdes. Il existe des troubles du comportement associé à des traits autistiques d’intensité variable. Le retard du développement est fréquent.

Le syndrome est lié à une délétion de 3Mb récurrente (3% des cas), affectant notamment le gène *TBX1*. L’incidence de la microdélétion 22q11 dans la population est estimée à 1/5 000 naissances. La microdélétion 22q11 est présente chez plus

de 95% des patients et se transmet selon un mode dominant et dans 10 à 20% des cas, l'un des deux parents est porteur de cette anomalie. Cependant, dans la plupart des cas, l'accident chromosomique survient *de novo* [52].

- **Le syndrome de Sotos** : Le diagnostic clinique repose sur la présence de symptômes cardinaux : croissance excessive pendant l'enfance, macrocéphalie, dysmorphie évocatrice (visage étroit et allongé, menton pointu, front large et bombé, cheveux fins et parsemés, hypertélorisme, fentes palpébrales obliques, en bas et en dehors) et des degrés variables de difficultés d'apprentissage. D'autres symptômes inconstants peuvent être présents comme des anomalies cardiaques, squelettiques, une épilepsie, des retards du développement psycho-moteur, des symptômes autistiques et un sur-risque de développement de tumeurs. Il est dû dans 75% des cas à des mutations ou des délétions du gène *NSD1* situé sur le chromosome 5q35 et codant une histone-méthyltransférase impliquée dans la régulation transcriptionnelle. Les mutations surviennent dans la plupart des cas *de novo*. Mais des cas de transmission autosomique dominant ont été décrits. Le risque de récurrence est <1%.

Dans un certain nombre de cas, des TSA ont été décrits chez des patients atteints du syndrome de Sotos. Trois variants faux-sens ont été diagnostiqués, sans que le domaine fonctionnel de la protéine soit touché. L'étude de la ségrégation des allèles de ce locus a montré que les variants étaient hérités de parents porteurs sains et dans deux cas, les frères et sœurs n'étaient pas atteints pour un même génotype, faisant envisager dans ces cas une autre cause génétique. Ceci suggère que le syndrome de Sotos est une cause rare de TSA et que l'absence de mutation du gène *NSD1* en cas de TSA avec macrocéphalie n'élimine pas le diagnostic de syndrome de Sotos [53].

La figure 1.4 résume les principales étiologies génétiques syndromiques et non syndromiques connues dans les TSA.

Anomalies à l'échelle du gène

Plusieurs syndromes ont été décrits dans les TSA :

- **Le syndrome de Smith-Lemli-Opitz** : Les patients atteints du Smith-Lemli-Opitz peuvent également présenter des symptômes autistiques, avec déficit intellectuel et troubles du sommeil. Il existe au plan morphologique des anomalies

Syndromes génétiques connus	Anomalie génétique correspondante	Anomalies non syndromiques	Principaux gènes impliqués
syndrome de Rett	→ gène <i>MECP2</i> (Xq28)	chr1q21.1	<i>SHANK1/2/3</i>
syndrome de l'X-fragile	→ gène <i>FMR1</i> (Xq27.3)	chr2q37	<i>NRXN1/2/3</i>
sclérose tubéreuse de Bourneville	→ <i>TSC1</i> (9q34), <i>TSC2</i> (16p13)	chr6p22.3-p23	<i>NLGN1/2/3/4X/4Y</i>
FRAXE	→ gène <i>AFF2</i> (Xq28)	chr7q31-q36	<i>ANK3</i>
syndrome d'Angelman	→ gène <i>UBE3A</i> (15q11-q13)	chr1p12-p13	<i>AUTS2</i>
syndrome de Prader-Willi	→ délétion 15q11-q13	chr15q11-13	<i>CACNA1C</i>
syndrome de Digeorge	→ microdélétion 22q11	chr15q24	<i>CHD8</i>
syndrome de Sotos	→ gène <i>NSD1</i> (5q35)	chr16p11.2	<i>CNTNAP2</i>
syndrome de Phelan-McDermid	→ délétion 22q13	chr17q12	<i>DISC1</i>
syndrome de Smith-Magenis	→ délétion interstitielle 17p12	chr17p13.1	<i>HOXA1</i>
		chrXp22.2 à Xp22.3	<i>PTEEN</i>
		chrXp22.3-pter	<i>RBFOX1</i>
		chrXq12-q13.3	<i>SYNGAP1</i>

FIGURE 1.4: Principales étiologies génétiques syndromiques et non syndromiques connues dans les TSA

telles qu'une microcéphalie (80%), un rétrécissement bitemporal, une ptose palpébrale, une racine du nez courte et élargie, des narines antéversées (90%), un petit menton, une fente labio-palatine (30%) et une micrognathie. Une cataracte, un strabisme et un nystagmus peuvent être observés. Les extrémités présentent une polydactylie des mains et des pieds, une syndactylie des 2e et 3e orteils (95%) et un pouce court et proximale implanté. Les garçons présentent très fréquemment des anomalies génitales (petit pénis, hypospade, organes génitaux ambigus). Des anomalies cérébrales peuvent être observées telles qu'une hypoplasie ou agénésie du corps calleux ou une holoprosencéphalie. Des anomalies cardiovasculaires, gastro-intestinales peuvent aussi être présentes. Ce syndrome est lié à une anomalie de la synthèse du cholestérol due à des mutations du gène *DHCR7* (11q13.4) de transmission autosomique récessive. Il est plus fréquent en Europe centrale et en Europe du Nord avec une incidence estimée à 1/20 000-1/40 000 naissances [54, 55].

- **Le syndrome de Phelan-McDermid** : Aussi connu sous le nom de syndrome de microdélétion 22q13.3, ce syndrome se caractérise par une hypotonie néonatale, un retard global de développement, une croissance normale ou accélérée, une absence ou un retard sévère d'acquisition de la parole, un autisme, ainsi qu'une dysmorphie mineure (oreilles grandes ou de forme inhabituelle, mains relativement larges, ongles de pieds dysplasiques, sourcils épais, cils longs, dolicocephalie, joues pleines, nez bulbeux, menton pointu) [56]. Le sexe-ratio est équilibré, la prévalence de cette anomalie est à ce jour inconnue. Le gène candidat est le gène *SHANK3*, responsable de TSA avec déficience intellectuelle [57].

Plus récemment, le développement des techniques de séquençage à haut débit ("*next generation sequencing*" (NGS)) permet le séquençage de l'exome et du génome complet ("*whole genome sequencing*" (WGS)) et donc la recherche d'étiologies à l'échelle du gène.

Des études de cohortes de patients avec TSA ont confirmé que les mutations *de novo* d'un seul gène peuvent être responsables du trouble [58]. Ces technologies permettent également la découverte de nouveaux gènes candidats pour les TSA [59].

Néanmoins, la plupart des études récentes mettent en évidence le caractère polygénique complexe des anomalies génétiques dans les TSA. La physiopathologie évoquée résulte alors de la combinaison pour un patient de facteurs hérités et *de novo*.

A ce jour, plus de 700 gènes ont été impliqués dans le déterminisme des TSA à des degrés différents [60]. Chaque anomalie présente une très faible prévalence (souvent inférieures à 1%). La figure 1.5 fait la revue de toutes les mutations *de novo* connues représentées par chromosome. Certains gènes sont impliqués dans un réseau d'interactions protéiques à rôle synaptique.

1.2 Diagnostic génétique des TSA

1.2.1 Évolution des techniques en génétique

Les Troubles du Spectre Autistique représentent un ensemble phénotypique hétérogène qui peut être mis en parallèle avec les étiologies génétiques hétérogènes et complexes qui les sous-tendent. L'évolution des techniques génétiques permet de remettre en question l'idée d'anomalie monogénique isolée permettant d'expliquer les maladies complexes que sont les pathologies psychiatriques.

Mis au point en 1956, le caryotype standard, longtemps examen de référence, renseigne sur les anomalies chromosomiques de nombre ou de structure de grande taille (de plus de 5 à 10 Mb). Cet examen est aujourd'hui réservé à quelques indications précises telles que le diagnostic d'anomalies chromosomiques équilibrées familiales et éventuellement dans l'urgence en cas de diagnostic prénatal. Il n'est plus l'examen de référence pour les TSA et la déficience intellectuelle.

Les techniques de fluorescence par hybridation *in situ* (FISH) développées dans les années 1980 représentent une avancée indéniable dans la détection de petits réarrangements chromosomiques. Cette technique cytogénétique consiste en l'utilisation de marqueurs fluorescents présentant un haut degré de complémentarité de séquence avec la séquence d'ADN d'intérêt afin de mettre en évidence des CNV des régions étudiées. Après marquage et intégration de marqueurs fluorescents associés à la séquence d'intérêt, les chromosomes sont observés en microscopie à fluorescence. La localisation et le nombre de marqueurs fluorescents renseignent sur les anomalies de nombre et d'éventuelles translocations équilibrées ou déséquilibrées (figure 1.6) [62].

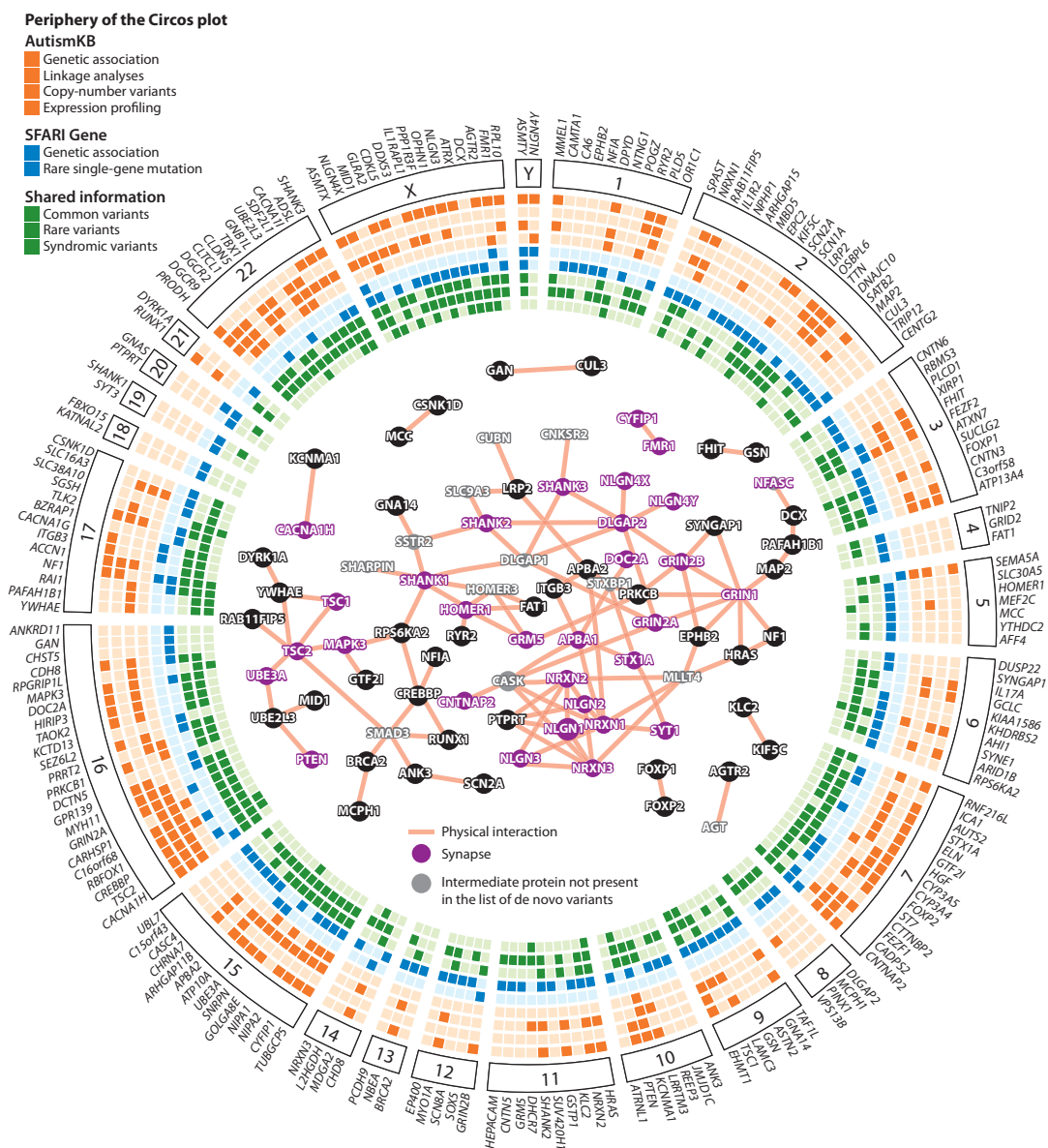


FIGURE 1.5: Mutations *de novo* dans les TSA représentées par chromosome (périphérie), réseau d'interactions protéiques à rôle synaptique (centre).

Source : Huguet, Ey, Bourgeron, Annu Rev Genomics Hum Genet., 2013 [61]

Ceci a permis aux cliniciens un accroissement du diagnostic génétique proposé aux patients par la mise en évidence de syndromes microdélétionnels ou microduplicationnels. Cependant cette technique est une analyse ciblée du génome et ne permet donc de rechercher que des anomalies déjà connues.

De façon plus récente, l'utilisation des puces à ADN représente une analyse globale du génome à haute résolution.

L'avènement de nouvelles techniques de biologie moléculaire (FISH et puces à ADN à haute résolution) permet de mettre en évidence de petites anomalies chromosomiques récurrentes chez les patients. Environ 10% des TSA sont imputables à des variations du

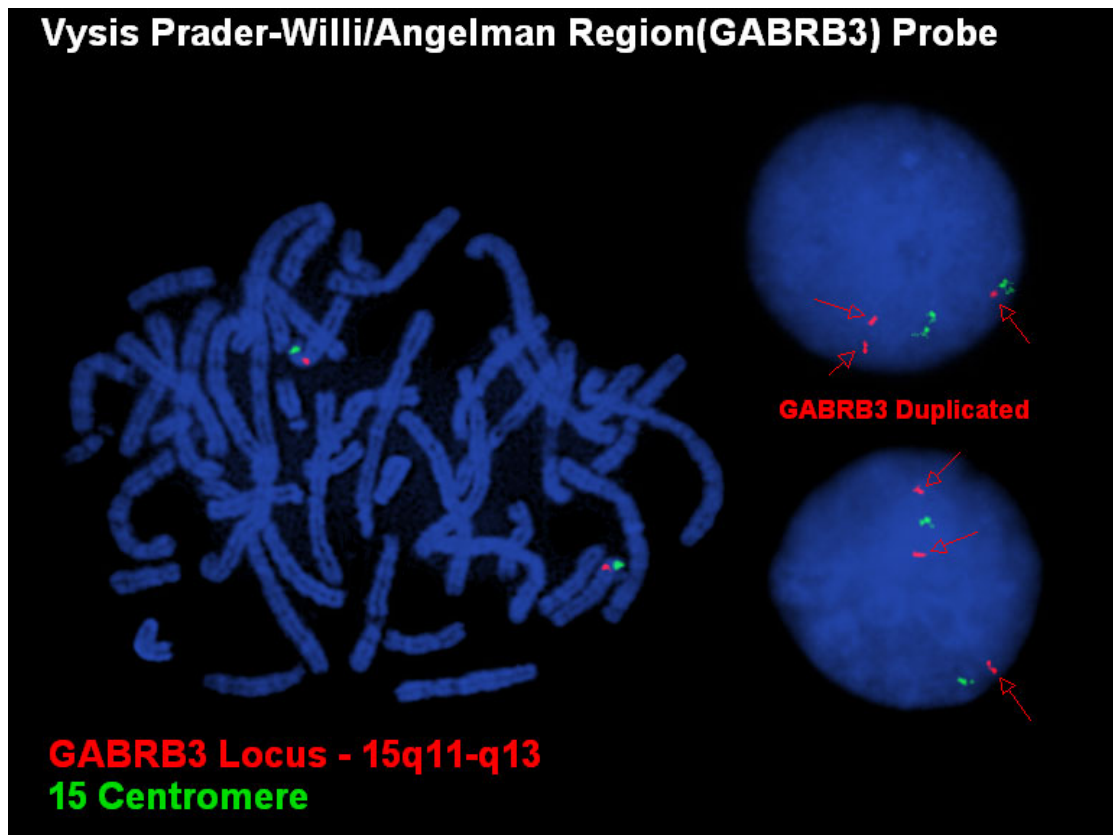


FIGURE 1.6: Exemple de diagnostic de duplication en FISH dans le cadre d'un syndrome de Prader-Willi. Source : University of Wisconsin-Madison [63]

nombre de copies, qui peuvent être des délétions ou des duplications, de taille variable (de plusieurs kb à 1Mb) [64]. Mais chacune des anomalies est rare [65].

1.2.2 Les outils diagnostiques

1.2.2.1 Les puces à ADN

Deux types de puces à ADN sont utilisées en diagnostic pour la détection des variations du nombre de copies (CNV), il s'agit des CGH-arrays et des SNP-arrays.

CGH-array signifie "*Array Comparative Genomic Hybridization*", il s'agit d'une technique de comparaison de l'ADN d'un patient marqué par un isotope fluorescent avec l'ADN d'un sujet contrôle marqué par un second isotope fluorescent. Les échantillons d'ADN sont hybridés à une séquence connue appelée sondes. Après hybridation, l'intensité de la fluorescence de chaque spot est mesurée. Les différences de fluorescence des deux isotopes (patient et contrôle) reflètent les différences de nombres de copies entre le génome de référence et celui du patient. Les caractéristiques des sondes utilisées (taille et nombre) permettent de connaître la taille des CNV mis en évidence. Ceci permet de

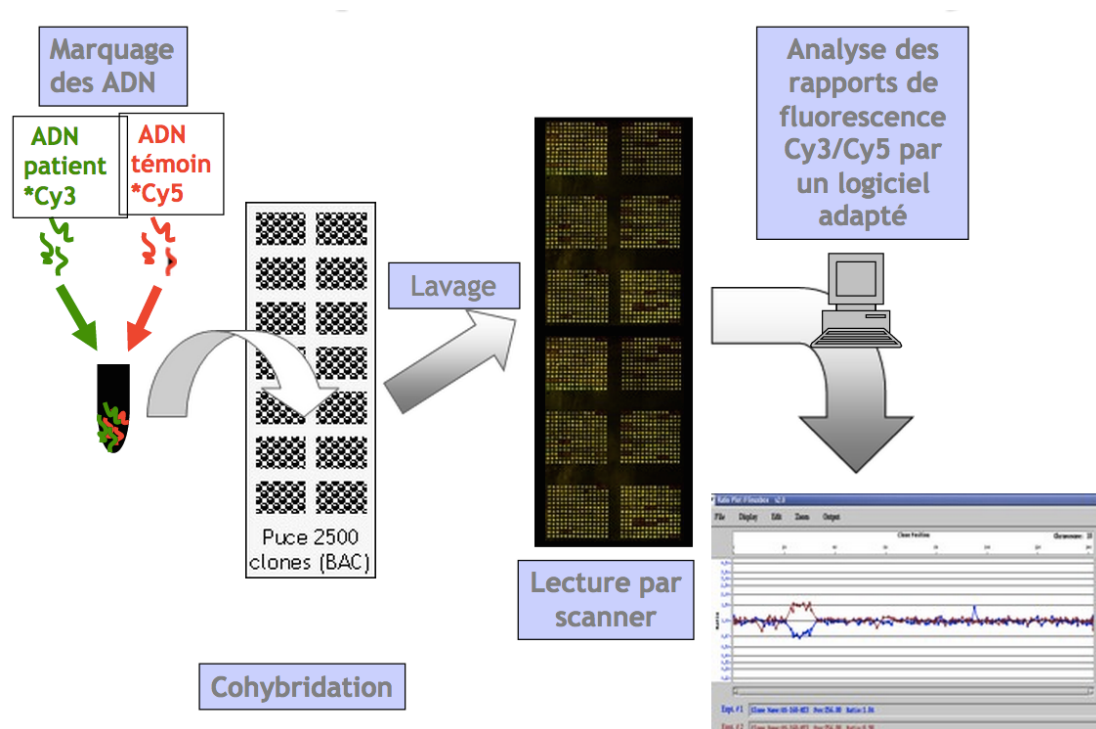


FIGURE 1.7: Principe de la CGH-array.

Source : Laboratoire de cyogénétique, Hôpital Robert Debré [67]

révéler un manque (délétion) ou un surplus (duplication) de fragments chromosomiques par rapport à ce qui est attendu (figure 1.7)[66].

Les puces de type SNP-arrays utilisent une autre méthode, mais permettent de mettre en évidence les mêmes anomalies que la CGH-array. SNP-array signifie *Single Nucleotide Polymorphism genotyping-array*. Il s'agit de l'étude d'un site génique pour lequel deux allèles sont présents en population générale. Le génotypage des SNP est une technique basée sur la comparaison de l'intensité de fluorescence entre deux marqueurs. S'il existe une délétion (perte d'un allèle), l'intensité de la fluorescence est inférieure au témoin qui possède les deux allèles. Les duplications se manifestent par une sur-intensité. Les SNP peuvent aussi être utilisés afin d'identifier de grands fragments d'homozygotie dans le génome pouvant révéler une consanguinité ou une disomie uniparentale impossible à détecter avec la technique de CGH-array [68, 69].

Ces technologies permettent de détecter en routine de petites variations du nombre de copies (CNV) qui sont impliqués chez environ 10% des patients avec TSA [64]. Il peut s'agir de fragments d'un kilobase (kb) à quelques mégabases (Mb) ou encore toucher un chromosome entier (trisomies, monosomies). Ces CNVs peuvent impliquer un ou plusieurs gènes.

Les délétions peuvent être présentes à l'état hétérozygote (une des deux copies manquantes), à l'état homozygote (deux copies manquantes) ou encore hémizygotes (délétions sur l'X chez un homme). Leur pouvoir pathogène est variable selon les gènes ou les régions génomiques touchés.

Ainsi les CNV sont classés en fonction de leur pathogénie [70] :

- les CNV bénins peuvent se situer dans des régions codantes ou non-codantes, on les considère comme des polymorphismes sans conséquence sur le phénotype ;
- les CNV pathogènes sont le plus souvent des délétions (70% des cas) d'une taille de plus de 1,5 Mb, ils surviennent souvent *de novo* ;
- les CNV pathogènes à pénétrance incomplète ou à expressivité variable qui pourrait à eux-seuls expliquer la maladie, mais qui sont présents chez des apparentés sains ;
- les VOUS ("*Variant Of Unknown Significance*") dont le caractère pathogène est indéterminé (10% des cas) et représentent des difficultés diagnostiques, la plupart sont héritées d'un parent.

Ces techniques de microarrays sont maintenant largement utilisées pour le caryotype moléculaire des patients avec déficience intellectuelle, anomalies congénitales et/ou TSA.

1.2.2.2 Le séquençage de l'exome

L'exome représente la proportion d'ADN qui code l'information protéique via les ARN messagers, soit 1,5% du génome. Le séquençage de l'exome vise à mettre en évidence des anomalies à l'échelle du gène comme des mutations ponctuelles ou des substitutions d'acide aminé. Leur interprétation tient compte notamment de leur conséquence fonctionnelle prédite [71] :

- les variants synonymes n'entraînent pas de modification de l'acide aminé traduit et sont donc considérés comme bénins ;
- les variants non-synonymes entraînent une modification d'un acide aminé et peuvent donc être à l'origine d'une modification de la fonction protéique, on parle de mutations faux-sens ;
- les mutations non-sens entraînent un changement de nucléotides qui crée un codon stop et entraînent un arrêt prématuré de la traduction protéique, ces variants sont fortement délétères pour la fonction protéique car la protéine est tronquée ou absente ;
- les "indel" sont des insertions ou des délétions d'un seul ou plusieurs nucléotides qui peuvent entraîner des modifications du cadre de lecture et la synthèse d'une protéine anormale ou tronquée.

L'ensemble de ces variations peuvent survenir de façon *de novo* ou être hérité d'un des deux parents. La fréquence en population générale, ainsi que les caractéristiques des

variants vont permettre de déterminer la causalité de la mutation dans le phénotype clinique.

De façon plus récente, des données de séquençage du génome complet sont disponibles et se pose la question de l'analyse des régions non-codantes et des régions régulatrices. Ces techniques sont aujourd'hui réservées à la recherche.

1.2.3 L'apport des données partagées

Les données informatiques liées à l'utilisation des nouvelles technologies (puces à ADN, séquençage nouvelle génération (NGS)) représentent un volume très important et nécessitent une forte capacité de calcul et d'analyse bioinformatique.

Concernant les données issues du séquençage, "1000 genomes" est un des premiers projets de compilation des données du génome humain qui vise à explorer sa diversité dans son ensemble [72]. Dans le domaine de la génétique des TSA, deux grands projets ont vu le jour afin de compiler les données des études génétiques réalisées. Il s'agit de AutDB [73] et SFARI ("*Simons Foundation Autism Research Initiative*") [60]. Initialement pensés comme des bases de données en ligne, ces sites permettent l'accès à l'ensemble des données des articles de la littérature scientifique dans le domaine. Il existe à ce jour des 6082 articles référencés dans PubMed traitant de la génétique des TSA, dont 714 uniquement durant l'année 2014 [74].

Ces bases de données référencent les publications en lien avec des CNV pathogènes et gènes impliqués dans les TSA chez l'Homme, ainsi que les publications correspondant aux modèles animaux de TSA et les interactions protéiques. Depuis la dernière mise à jour en décembre 2014, AutDB référence 667 gènes impliqués à des degrés différents dans les TSA, 2087 loci de CNV, 187 gènes étudiés par des modèles expérimentaux (modèles murins, cellules souches neuronales (IPs cells), modèles génétiques divers) et 314 protéines impliquées dans les études d'interactions [73]. Depuis mars 2015, SFARI référence 706 gènes impliqués, 2110 loci de CNV, 187 gènes étudiés par des modèles animaux et 339 protéines impliquées dans 30780 interactions [60] (Figure 1.8).

Par ailleurs, Eichler et ses collaborateurs ont étudié les déterminants génétiques impliqués dans les TSA et la déficience intellectuelle et établi une "morbidity map" référencant de nombreux gènes responsables de ces troubles chez l'Homme. Une première version a été publiée en 2011 [75] et son actualisation est actuellement disponible depuis 2015 [76].

Un nouveau module du site SFARI est mis en ligne depuis décembre 2014 afin de créer de façon collaborative des catégories permettant de classer les SNP et CNV en fonction de

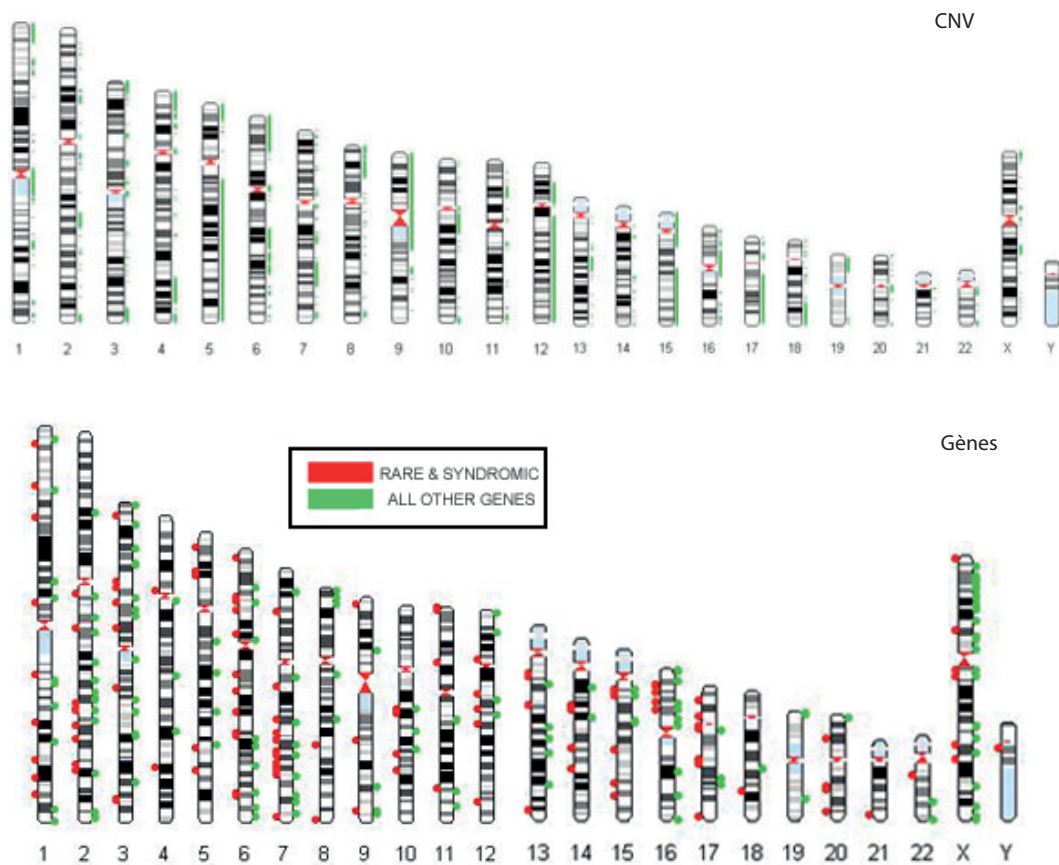


FIGURE 1.8: CNV et gènes impliqués dans les TSA référencés dans AutDB : 2087 loci et 667 gènes. Source : AutDB [73]

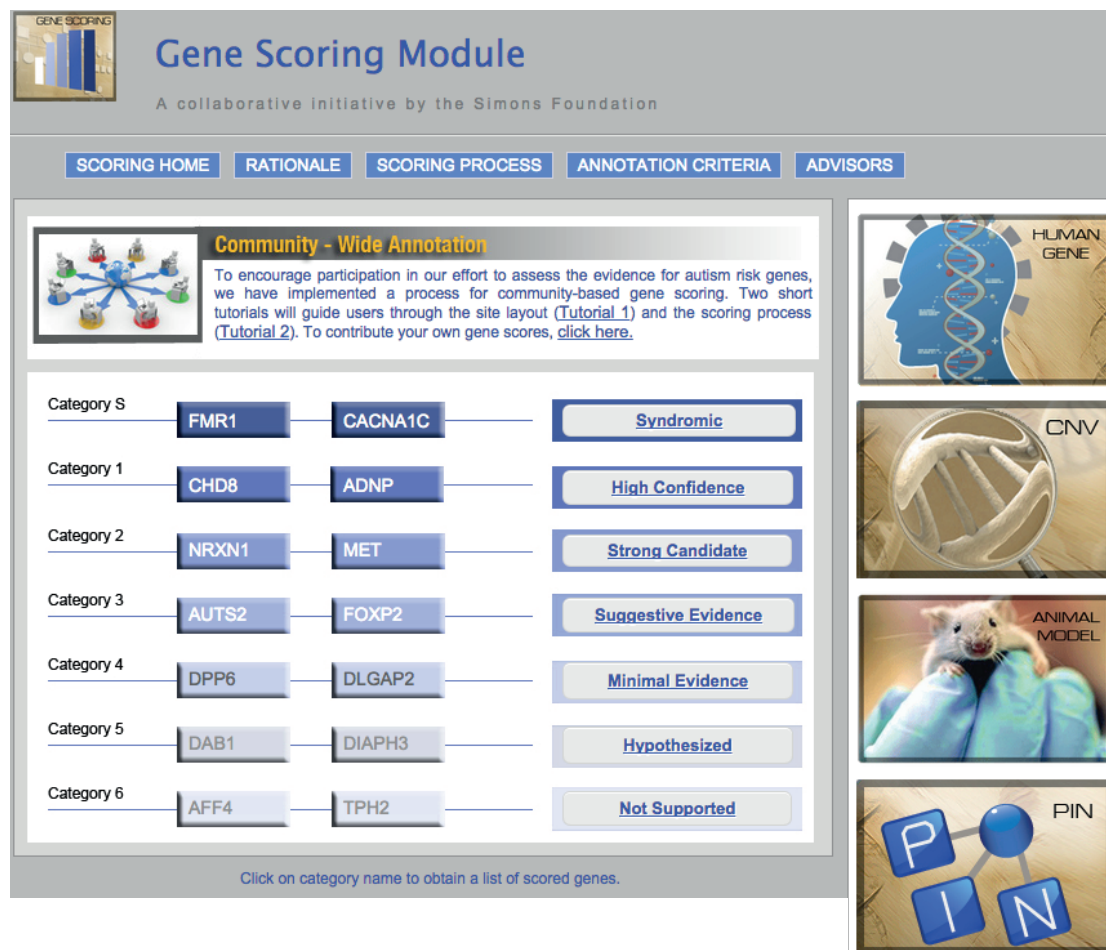
leur "poids" génétique dans la survenue de cette pathologie chez un individu (Figure 1.9) [77].

Ces bases de données mises au point à des fins de recherche initialement représentent des aides précieuses pour l'interprétation des données de nouvelles études génétiques, ainsi que dans le domaine de la génétique clinique.

1.3 Gènes, fonctions et TSA

1.3.1 Les gènes synaptiques

Ainsi les nombreux gènes mis en évidence comme étant impliqués dans les TSA ne présentent pas une responsabilité égale dans la pathogénie. Certains sont des gènes connus pour être pathogènes lorsqu'ils sont mutés, d'autres sont des gènes candidats, d'autres sont associés aux TSA sans que le niveau de preuve soit encore suffisant.



Gene Scoring Module
A collaborative initiative by the Simons Foundation

SCORING HOME RATIONALE SCORING PROCESS ANNOTATION CRITERIA ADVISORS

Community - Wide Annotation
To encourage participation in our effort to assess the evidence for autism risk genes, we have implemented a process for community-based gene scoring. Two short tutorials will guide users through the site layout ([Tutorial 1](#)) and the scoring process ([Tutorial 2](#)). To contribute your own gene scores, [click here](#).

Category S	FMR1	CACNA1C	Syndromic
Category 1	CHD8	ADNP	High Confidence
Category 2	NRXN1	MET	Strong Candidate
Category 3	AUTS2	FOXP2	Suggestive Evidence
Category 4	DPP6	DLGAP2	Minimal Evidence
Category 5	DAB1	DIAPH3	Hypothesized
Category 6	AFF4	TPH2	Not Supported

Click on category name to obtain a list of scored genes.

HUMAN GENE
CNV
ANIMAL MODEL
PIN

FIGURE 1.9: Outil collaboratif permettant de donner un score à chaque gène impliqué dans les TSA. Source : SFARI [60]

Pris dans leur intégralité, ces gènes présentent un enrichissement statistiquement significatif dans certaines voies métaboliques communes à :

- l'homéostasie cérébrale,
- au neurodéveloppement,
- la signalisation des neurones,
- la synapse (fonction et architecture),
- la régulation du remodelage chromatinien,
- ou à l'organisation du cytosquelette [78][79].

La figure 1.10 regroupe en quatre grandes voies les gènes impliqués dans les TSA :

- l'adhésion cellulaire (voie du TGF-beta),
- la voie de neurodégénérescence,
- la voie de la communication cellulaire et de la transmission synaptique,
- et la voie de la régulation transcriptionnelle.

Ainsi certains gènes ont une expression ubiquitaire, permettant d'émettre des hypothèses

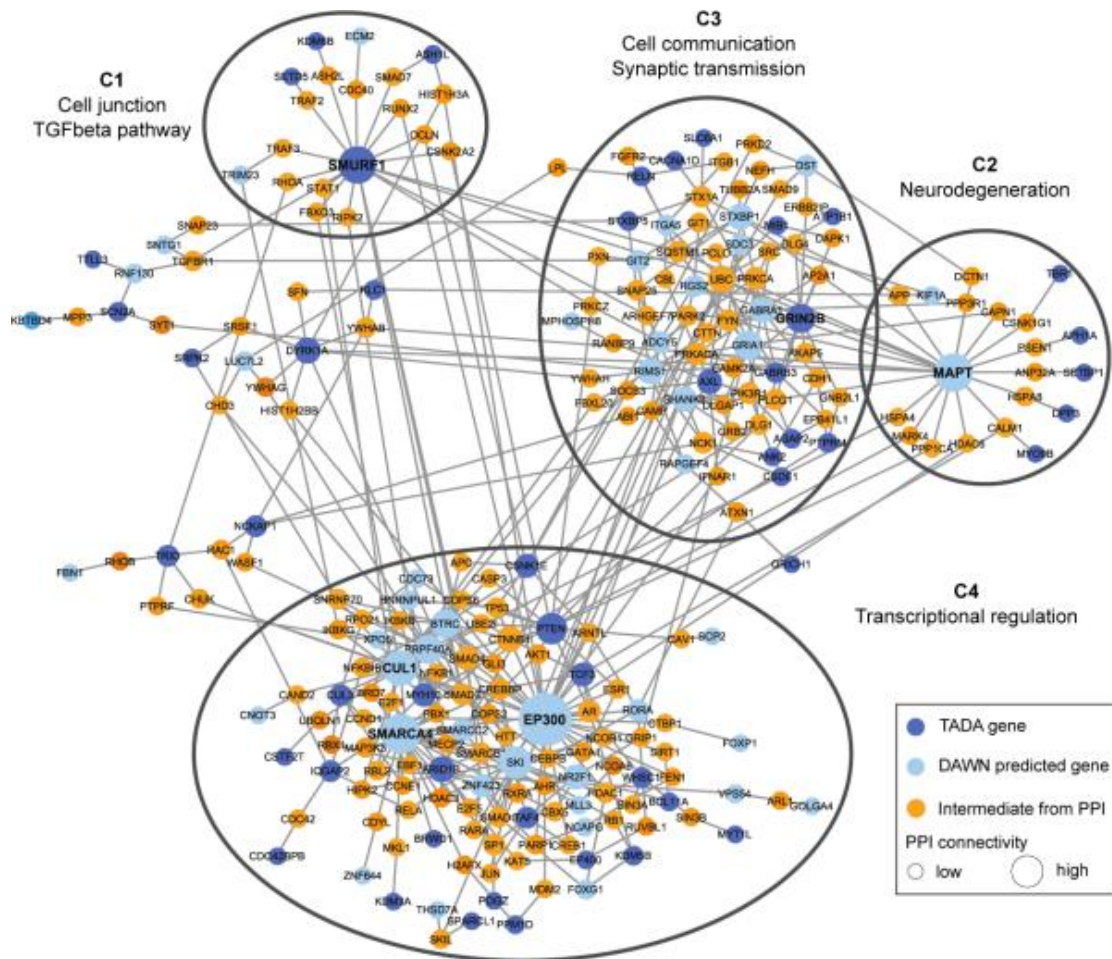


FIGURE 1.10: TSA et gènes de réseaux neuronaux : Réseau d'interactions protéine-protéine. (4 groupes sont délimités par des ellipses noires (C1 : Jonctions cellulaires et voie du TGFbeta, C2 : Neurodégénérescence, C3 : Communication cellulaire et transmission synaptique, C4 : Régulation transcriptionnelle) La taille des noeuds montrent le degré de connectivité.) Source : Buxbaum, Nature, 2014 [78]

quant à certaines comorbidités somatiques et psychiatriques présentées par les patients, d'autres présentent une expression cérébrale exclusive. La figure 1.11 montre les principaux gènes synaptiques impliqués dans les TSA avec leurs interactions *in situ*.

Parmi les gènes les plus fréquemment cités dans les TSA et intervenant dans ces voies neuronales, on peut évoquer :

- *SHANK3*, qui code une protéine d'échaffaudage post-synaptique, et qui a été un des premiers gènes décrits dans les TSA [80][81], a ensuite été découvert le rôle de *SHANK1* et *SHANK2* dans l'autisme ;
- *NRXN*, une famille de gènes impliqués dans l'adhésion cellulaire, et en particulier *NRXN1*, codant une molécule d'adhésion pré-synaptique et interagissant avec les neurologines [82] ;
- *NGLN*, une famille de gènes interagissant avec les NRXN, dont le gène *NGLN4X* qui

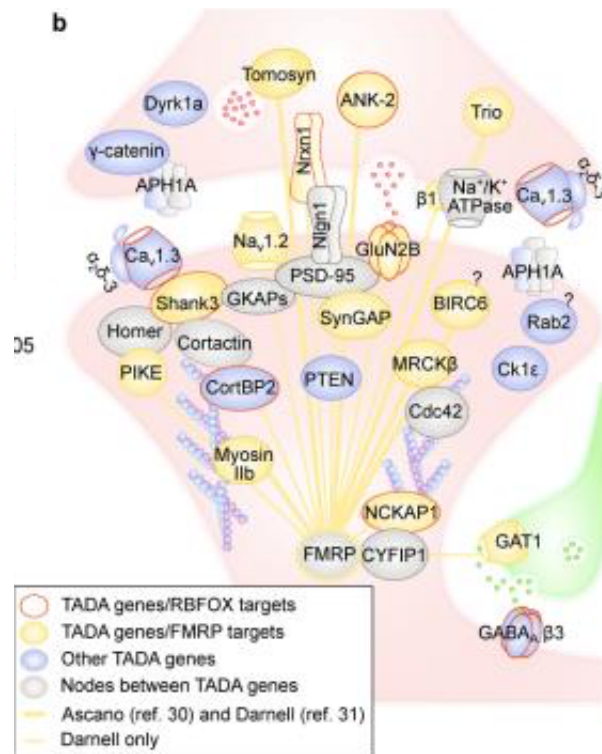


FIGURE 1.11: b. Protéines synaptiques codées par des gènes impliqués dans les TSA
 Source : Buxbaum, Nature, 2014 [78]

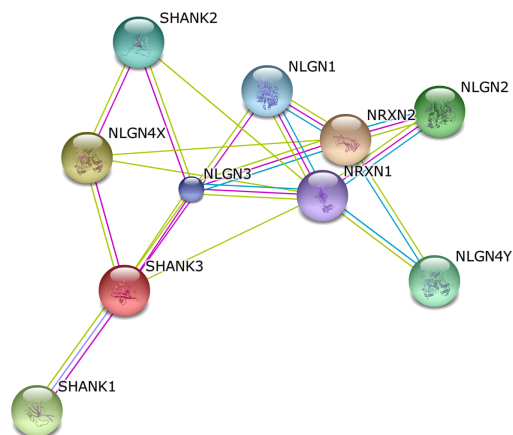


FIGURE 1.12: Interactions protéiques des gènes de la famille *SHANK*, *NRXN*, *NLGN*
 (Image obtenue avec l'outil String)

code la protéine Neurologine 4 et qui a été décrite par Jamain dans le laboratoire du Pr Bourgeron [83] (Figure 1.12).

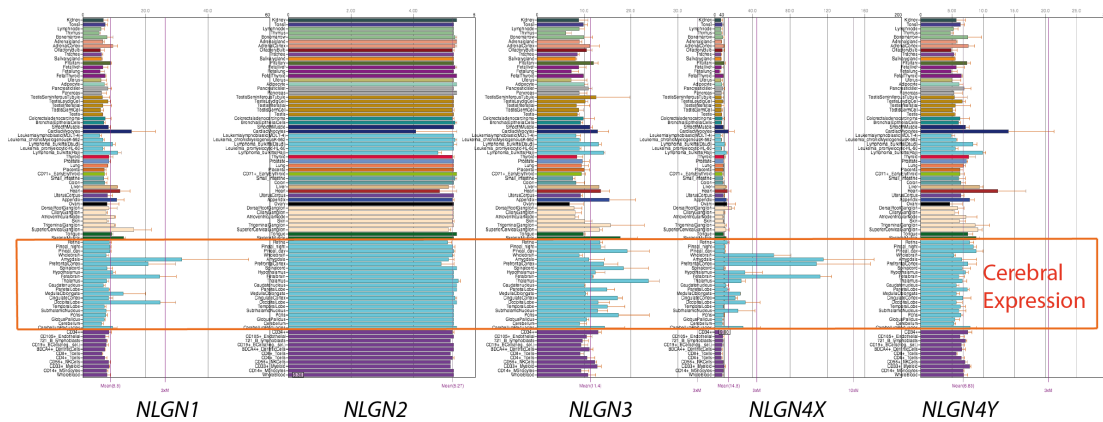


FIGURE 1.13: Profil d'expression des gènes des Neuroligines au sein des différents organes chez l'Homme (à l'âge adulte)

Type	Ancestral taxonomy	Gene name	Location	Target %id	Query %id
Paralogue	Euteleostomi	NLGN4X <i>neuregulin 4, X-linked</i>	ChrX:5758678-6146904	63	64
Paralogue	Euteleostomi	NLGN4Y <i>neuregulin 4, Y-linked</i>	ChrY:16634518-16957530	67	69
Paralogue	Euteleostomi	NLGN3 <i>neuregulin 3</i>	ChrX:70364681-70391051	73	72
Paralogue	Euteleostomi	NLGN2 <i>neuregulin 2</i>	Chr17:7308193-7323179	72	71

FIGURE 1.14: Comparaison de l'homologie des protéines NLGN2, NLGN3, NLGN4X et NLGN4Y par rapport à la séquence protéique de référence de NLGN1

1.3.2 Les gènes codant les Neuroligines dont *NLGN4*

Les Neuroligines (NLGN) sont une famille de protéines transmembranaires de type 1 impliquées dans l'adhésion cellulaire et exprimées notamment au niveau de la membrane post-synaptique. Elles sont composées d'un large domaine extracellulaire, une région transmembranaire et d'une région cytoplasmique contenant un "PDZ-binding domain". Elles sont exprimées majoritairement dans le système nerveux central. Les profils d'expression protéique dans les différents tissus sont représentés en figure 1.13.

Les protéines Neuroligines sont impliquées dans la morphologie neuronale, la neuroplasticité, elles influencent la physiologie synaptique et restent exprimées tout au long de la vie.

Il existe 5 gènes différents codant les protéines correspondantes : *NLGN1*, *NLGN2*, *NLGN3*, *NLGN4X* sur l'X, *NLGN4Y* sur l'Y. Ces 5 gènes sont dits des gènes paralogues, c'est-à-dire que du point de vue évolutif, ils sont apparus après duplication d'un gène ancestral commun et ont ensuite évolué pour leur propre compte vers des fonctions différentes, même si l'homologie des séquences protéiques se situe autour de 70%. Cette famille de gènes est bien conservée au sein des mammifères (Figure 1.14).

Chaque protéine NLGN présente un réseau d'interactions comme le montre la figure 1.15.

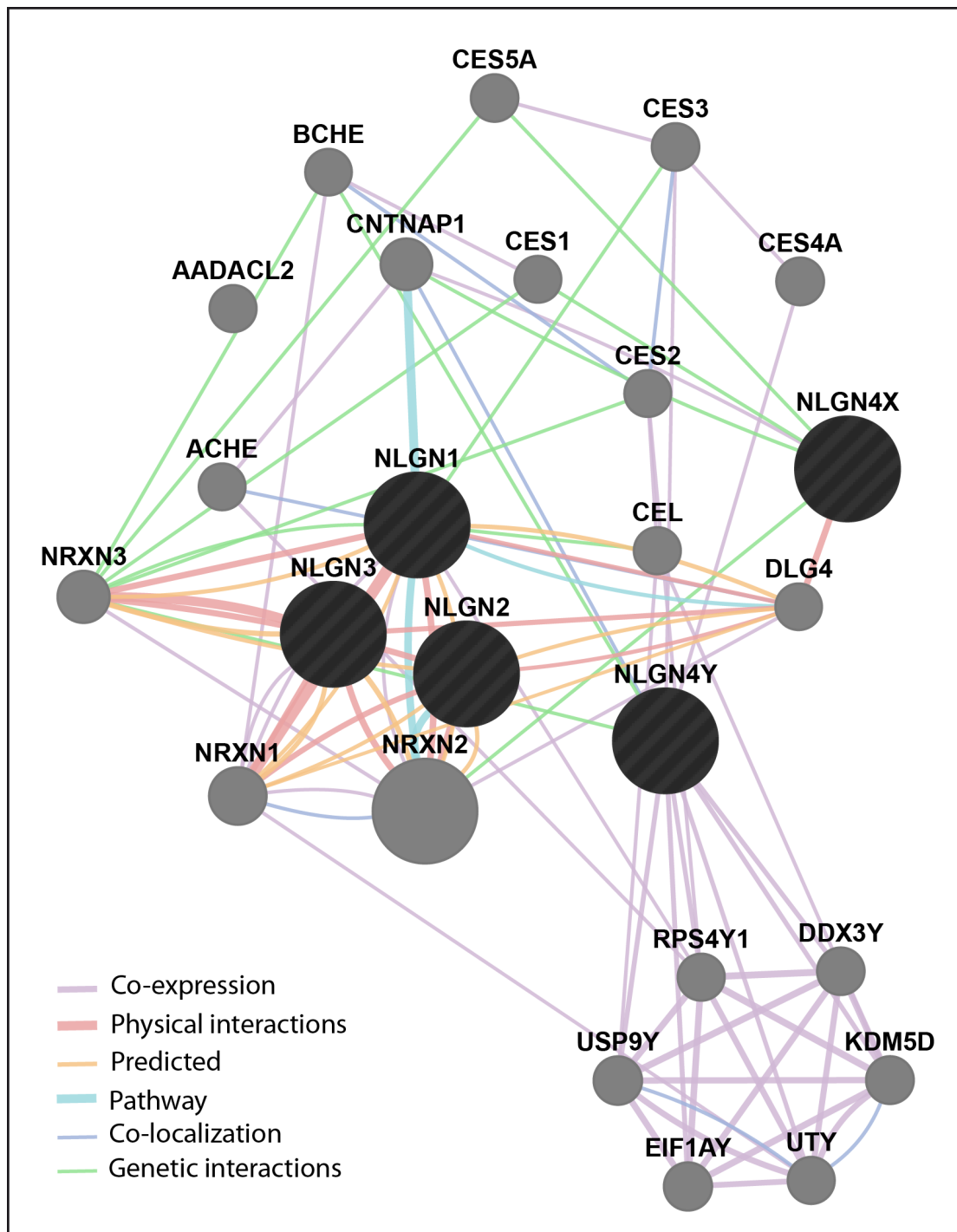


FIGURE 1.15: Interactions des différents gènes *NLGN* (réalisé avec l'outil Genemania)
 (Les *NLGN* sont représentées en gris anthracite rayé, les interacteurs en gris clair, la taille des points est proportionnelle au nombre d'interactions connues pour chaque protéine, les couleurs des liens détaillent la qualité de l'interaction.)

De nombreuses études sont disponibles concernant les gènes *NGLN1*, *NGLN2*, *NGLN3*, *NGLN4X*, même si aucune méta-analyse n'a été publiée, à ce jour. Seul le gène *NGLN4Y* demeure très peu étudié et notamment dans les TSA. La fréquence des mutations et CNV impliquant *NGLN4Y* chez les patients avec TSA n'est pas connue.

Chapitre 2

Objectifs

2.1 Objectif 1 : Analyse clinique et identification de variants *de novo* dans plusieurs familles multiplexes

L'analyse de la phylogénie, la présence de traits autistiques chez les apparentés des patients atteints de TSA et les autres pathologies psychiatriques présentes à travers les générations renseignent sur les modes de ségrégation des étiologies qui sous-tendent les TSA. Ainsi, pour l'étude génétique, on distingue les familles simples (SPX) et multiplexes (MPX).

Dans les familles simples, un seul individu est atteint par une pathologie, tandis que plusieurs individus sont affectés sur une ou plusieurs générations au sein des familles multiplexes. Dans ces familles, une anomalie génétique donnée peut être partagée par différents membres à travers les générations, mais l'expression phénotypique observée peut être extrêmement différente d'un individu à l'autre [84].

Des études récentes montrent l'apport des technologies nouvelles en particulier le NGS pour la mise en évidence de mutations *de novo* chez les patients atteints des familles simples [58, 59]. La fréquence de ces mutations est d'environ 1,02 par patient [85]; elles affectent préférentiellement les gènes à expression cérébrale chez les patients par rapport aux sujets contrôles [86]. Les données ne sont pas encore aussi précises pour les familles multiplexes.

Il semble que les mutations *de novo* ne peuvent expliquer à elles-seules l'hétérogénéité phénotypique observée dans une famille MPX. La complexité de la ségrégation phénotypique intrafamiliale fait évoquer un modèle dans lequel les effets délétères ou protecteurs de variants génétiques s'additionnent. Ceci peut être résumé par le "Multiple Hit Model" évoqué par le Pr Bourgeron [87]. L'hypothèse d'un "multiple-hit" également connue sous

le nom d'hypothèse de Knudson [88] a été décrite en 1971 dans la physiopathologie du cancer. Il s'agit d'expliquer le cancer comme une accumulation de mutations de l'ADN qui, arrivant à un seuil, confère un potentiel de malignité aux cellules. Cette hypothèse, translatée aux TSA, peut permettre d'envisager la maladie par l'accumulation de variants délétères transmis aux sujets atteints et de variants protecteurs chez les sujets sains. Ce modèle pourrait expliquer l'hétérogénéité au plan clinique des TSA au sein d'une même famille.

Le premier objectif de la présente thèse est de tenter d'appréhender les déterminants génétiques responsables des symptômes autistiques au sein de familles multiplexes et de les mettre en lien avec les phénotypes cliniques observés. Elle consiste d'abord en la recherche des variants *de novo* dans ces familles, puis en l'analyse détaillée des symptômes des patients et des apparentés afin de tenter d'établir une corrélation génotype-phénotype. Une de ces familles sera analysée plus en détail (variants *de novo* et hérités) pour tenter d'expliquer l'hétérogénéité intrafamiliale des phénotypes psychiatriques.

2.2 Objectif 2 : Etude phénotypique de patients avec anomalies des gènes *NLGN4X* et *NLGN4Y* : Analyse de réplication

Parmi les gènes d'architecture synaptiques impliqués dans les TSA [80–83], les gènes de la famille des neurologines pourraient aussi représenter des gènes candidats. Mais l'implication de ces gènes n'est pas clairement démontrée, en particulier pour *NLGN4X* et *NLGN4Y* portés respectivement par les chromosomes X et Y.

Parmi les familles multiplexes incluses dans la cohorte PARIS (Paris Autism Research International Sibpairs), deux présentent un CNV affectant le gène *NLGN4Y*. Leur implication dans le phénotype du patient reste incertaine, car peu d'articles étudient la clinique des patients porteurs d'une anomalie de ce gène .

La seconde partie de cette thèse vise à procéder à une étude de réplication concernant la présence de CNV impliquant les gènes *NLGN4X* et *NLGN4Y* au sein de 212 patients atteints de TSA de sexe masculin issus de la cohorte PARIS afin d'estimer la fréquence des anomalies touchant les gènes *NLGN* et de comparer les données cliniques de ces patients à celles de la littérature.

Chapitre 3

Patients et Méthodes

3.1 Méthodes 1 : Analyse des familles multiplexes

3.1.1 Critères d'inclusion des familles, caractérisation clinique

La première analyse est réalisée chez 17 familles multiplexes recrutées au sein de la cohorte multicentrique et internationale PARIS (Paris Autism Research International Sibpairs) à laquelle participent le service de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent du Pr Delorme au CHU Robert Debré et le laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives du Pr Bourgeron à l'Institut Pasteur de Paris. Une famille bordelaise est incluse grâce à la collaboration du Service de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent du Pr Bouvard au CHS Charles Perrens à Bordeaux.

Les patients présentant un TSA sont évalués cliniquement à l'aide de :

- l'"Autism Diagnosis Interview-Revised" (ADI-R) : un hétéroquestionnaire réalisé avec les parents du patient,
- l'"Autism Diagnosis Observation Schedule" (ADOS) : une évaluation réalisée par des pédopsychiatres ou des psychologues,
- la « Social Responsiveness Scale » (SRS) : un hétéroquestionnaire réalisé avec les parents du patient,
- et la « Repetitive Behaviour Scale » (RBS) : un hétéroquestionnaire réalisé avec les parents du patient (Annexe 3).

Les membres de la famille non atteints sont explorés sur le plan de leurs comorbidités psychiatriques et somatiques, et du QI (Échelle de Raven). L'examen clinique est complété par un examen morphologique et neurologique. Les patients présentant des anomalies chromosomiques ou un diagnostic d'X fragile sont exclus de la cohorte. Un

Repartition of individuals according to their sex and status

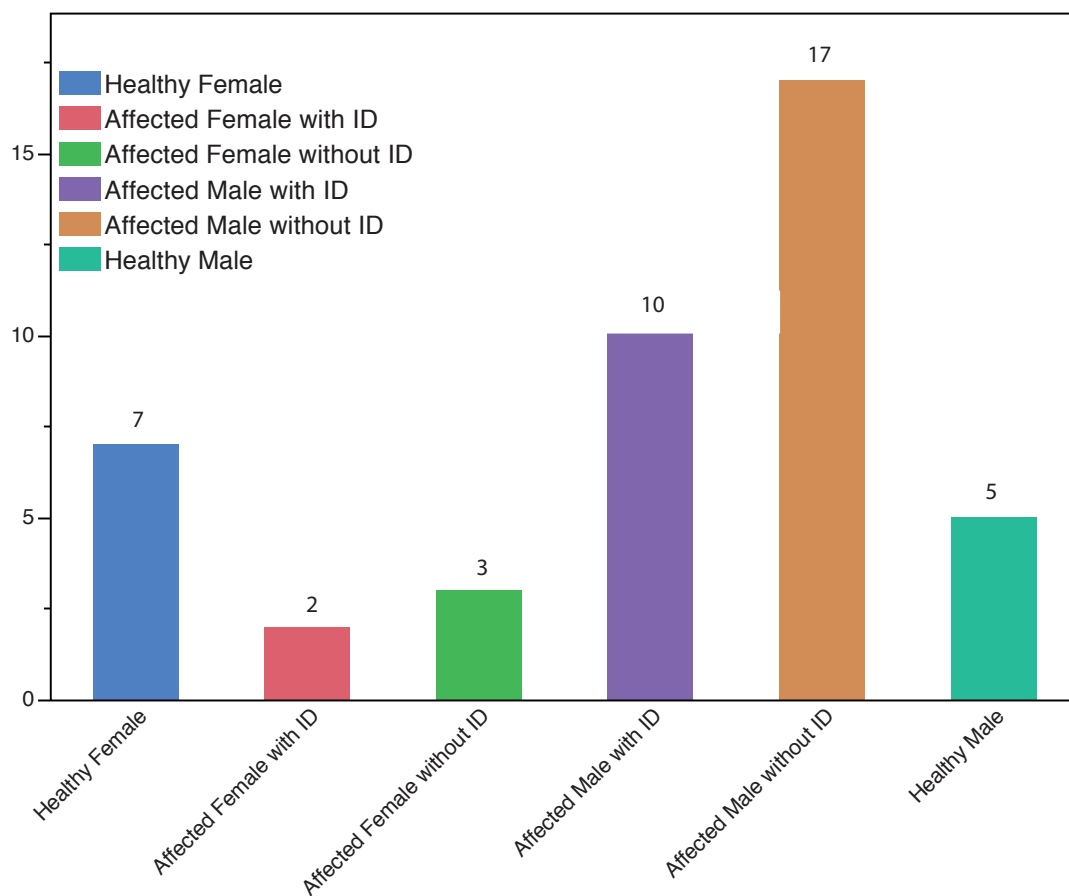


FIGURE 3.1: Distribution des individus en fonction de leur genre et de leur statut clinique

électroencéphalogramme et une IRM cérébrale sont réalisés avec l'accord des patients et des apparentés.

Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique national et un consentement écrit a été signé pour chaque participant.

L'ensemble des données cliniques est recueillie et compilée afin de décrire les caractéristiques phénotypiques des patients et de leurs apparentés.

La cohorte est composée de 49 individus provenant de 17 familles multiplexes. Les patients avec TSA représentent 67% de la cohorte ($n=33$) et les frères et sœurs non atteints 33% ($n=16$). Au sein des patients, 36% présentent une déficience intellectuelle modérée à sévère, tandis que 64% ont un QI dans la norme. Le sexe-ratio est de 1 fille pour 5,4 garçons, comme ce qui est retrouvé dans la littérature (Figure 3.1).

Les familles MPX recrutées pour l'étude des variants *de novo* sont représentées figures 3.2, 3.3 et 3.4.

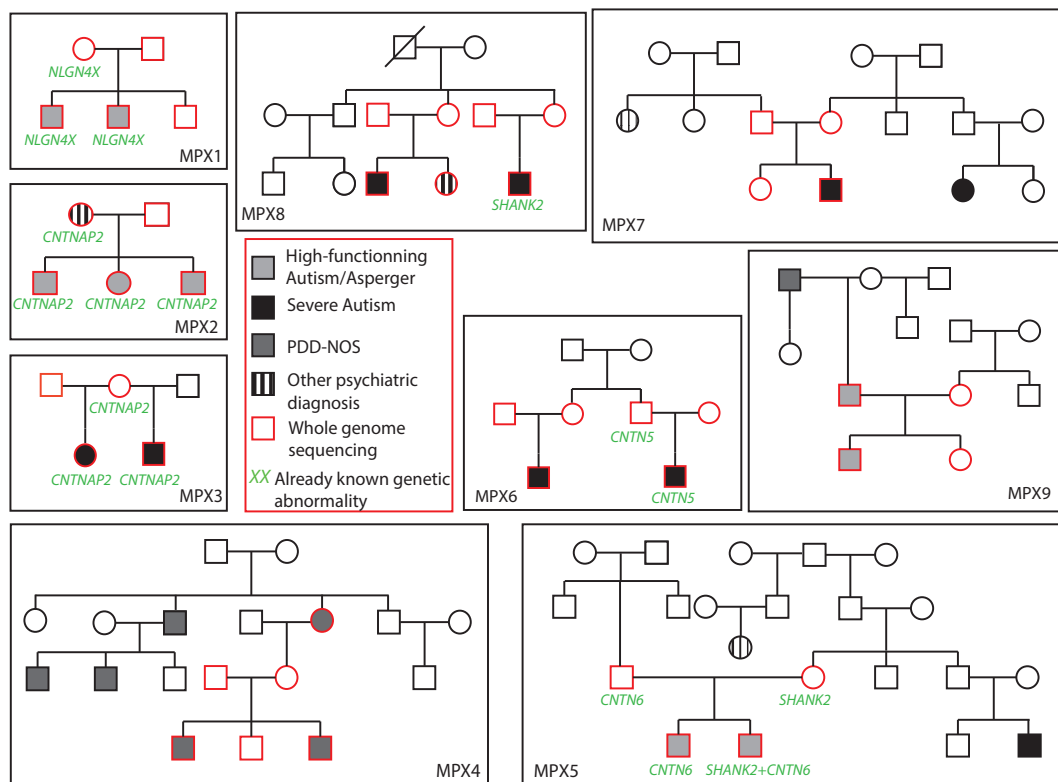


FIGURE 3.2: Présentation des familles multiplexes de la cohorte (Les délétions de *CNTNAP2* et *SHANK2* et les mutations dans les gènes *NLGN4X* et *SHANK3* avaient déjà été décrites par SNP arrays. Le *Whole genome Sequencing* a été réalisé pour tous les individus en rouges.)

3.1.2 Analyse de l'exome : Méthodes de séquençage, Alignement de séquence, Variant calling

Un prélèvement de sang périphérique est obtenu pour les patients inclus et leurs apparentés dans les différents centres d'investigation. L'ADN est extrait des leucocytes sanguins et conservé dans la banque de l'unité INSERM U679 (IFR des Neurosciences, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris).

Le séquençage de l'exome est réalisé par une machine Illumina. La longueur moyenne des fragments est de 313 pb, et la couverture moyenne de 44X. Les séquences obtenues par IlluminaHiSeq 2000 sont alignées au génome humain de référence (version hg19) à l'aide du logiciel "Isaac Alignment Software" et un fichier d'alignement binaire est généré ("*.bam"). Le "Variant Calling" est réalisé avec le logiciel "Isaac Variant Caller" pour obtenir un fichier final gVCF. Le "Variant Calling" est un fichier final qui répertorie l'ensemble des variants trouvés chez au moins un individu à la suite de l'alignement.

Ces analyses sont réalisées grâce à la contribution des bioinformaticiens de l'unité de recherche. Les analyses génèrent trois type de fichier : un fichier VCF par individu,

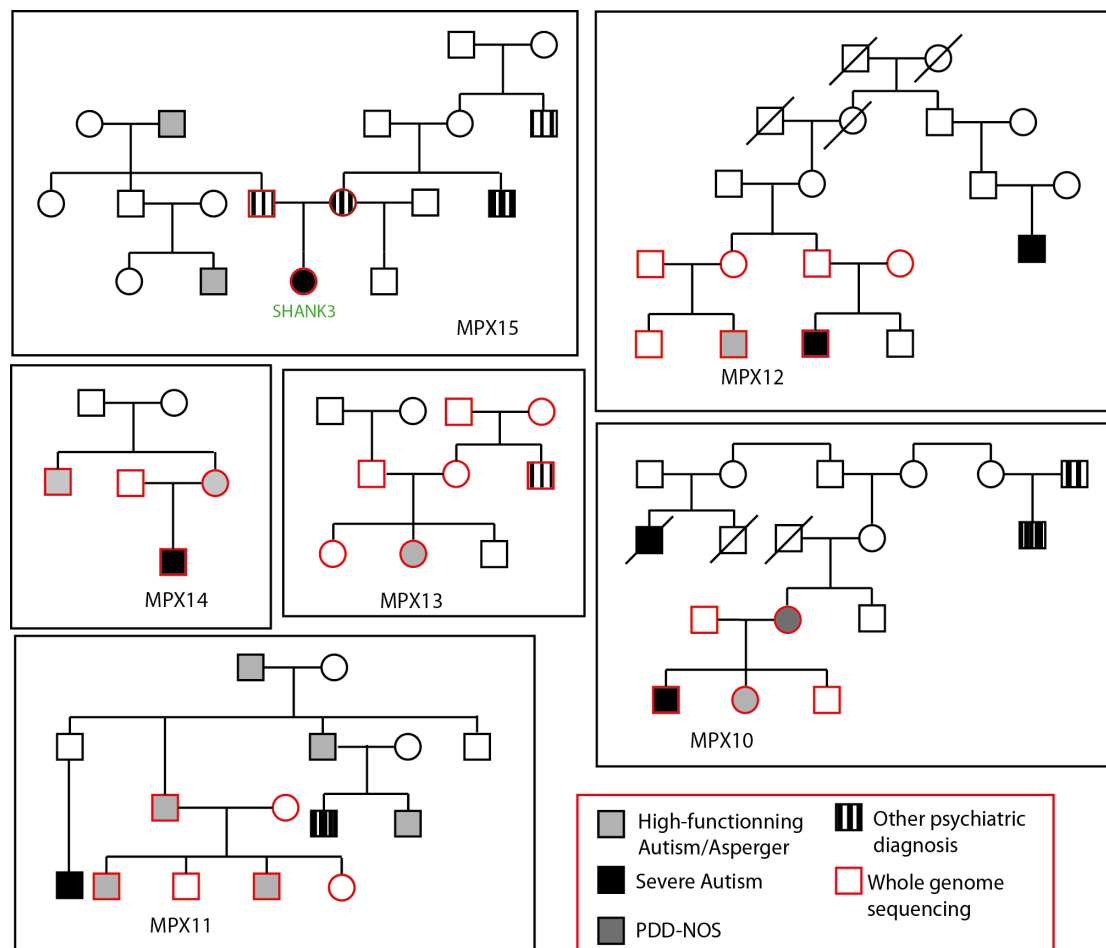


FIGURE 3.3: -Suite- Présentation des familles multiplexes de la cohorte (Les délétions de *CNTNAP2* et *SHANK2* et les mutations dans les gènes *NLGN4X* et *SHANK3* avaient déjà été décrites par SNP arrays. Le *Whole genome Sequencing* a été réalisé pour tous les individus en rouges.)

un VCF par famille et un pour la cohorte entière. Les variations identifiées peuvent être visualisées grâce au logiciel Illumina Genome Viewer (IGV) à partir des fichiers "*.bam".

3.1.3 Traitements des données d'exome, Pipeline d'analyse

Dans un soucis de simplification initiale, seules les données d'exome sont analysées. L'interprétation des données tient compte de critères de qualité conformes aux publications récentes dans le domaine :

- score de qualité : $GQX < 30$ et couverture $< 10X$,
- conservation uniquement des variants de simple nucléotide (SNV) (les indel pouvant correspondre à des erreurs de lecture).

Ensuite, pour minimiser les faux-positifs liés à des erreurs d'alignement, les variants présents dans des régions de duplication segmentaires sont exclus. Puis seuls les variants

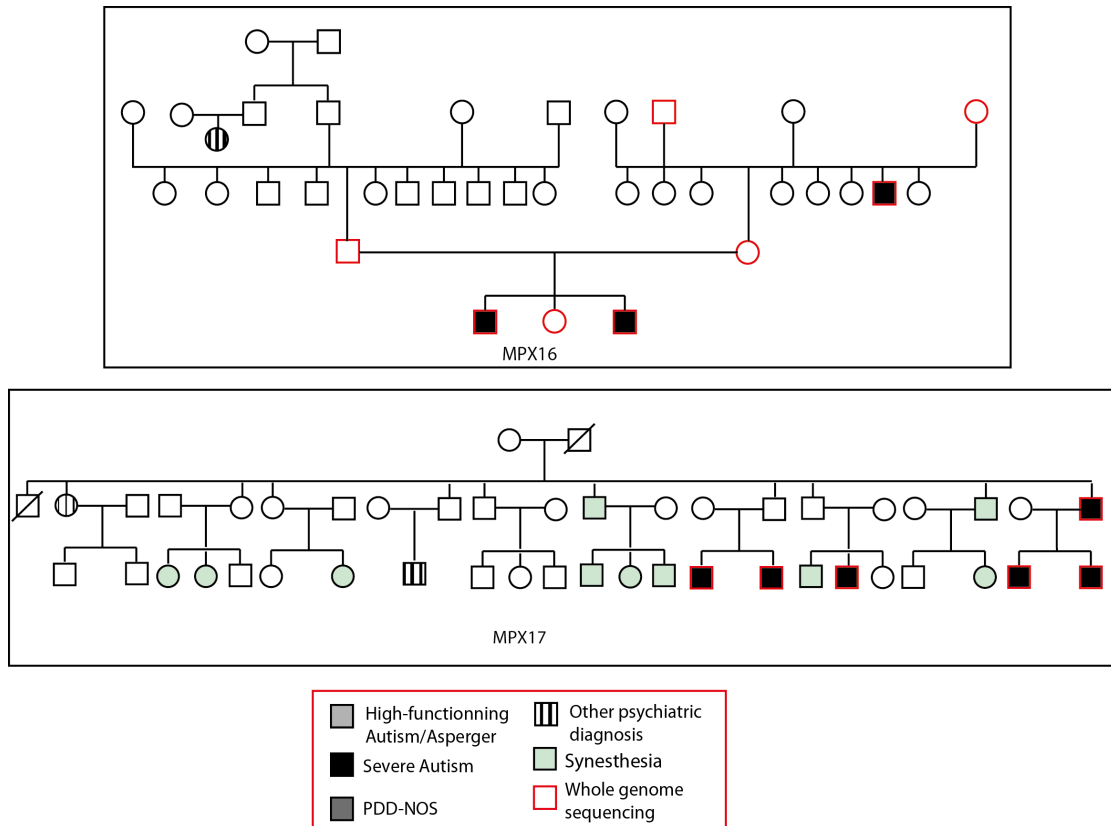


FIGURE 3.4: -Suite- Présentation des familles multiplexes de la cohorte (Les délétions de *CNTNAP2* et *SHANK2* et les mutations dans les gènes *NLGN4X* et *SHANK3* avaient déjà été décrites par SNP arrays. Le *Whole genome Sequencing* a été réalisé pour tous les individus en rouges.)

présents chez le probant et absent chez les parents (*variant de novo*) sont analysés. Parmi les variants identifiés, ceux déjà répertoriés dans les bases de données génomiques : Exome Variant Server [89], 1000 Genomes Project [72], dbSNP (build 137) [90] sont considérés comme polymorphiques (Figure 3.5).

Ensuite, chaque variant restant est visualisé manuellement à partir des fichier BAM sur le visualisateur IGV pour confirmer le caractère *de novo* (Figure 3.6).

3.1.4 Confirmation des variants *de novo*

Pour confirmer le caractère *de novo* des variants avec une méthode indépendante, un séquençage des exons d'intérêt par la méthode de Sanger est réalisé. Les amorces d'amplification des régions correspondantes sont choisies sur le site Primer3plus [91] et commandées à la société Sigma. La spécificité des amorces est testée à l'aide de l'outil "UCSC in silico PCR" [92]. Les séquences des amorces, ainsi que le protocole d'amplification sont détaillées dans l'annexe 4.

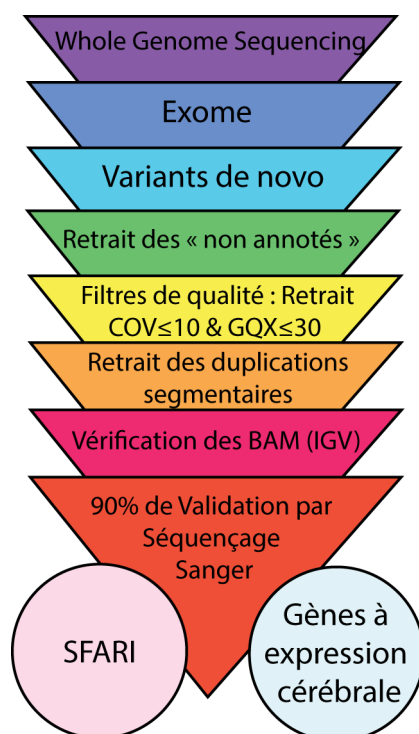


FIGURE 3.5: Pipeline d'analyse des données de séquençage

Les variants *de novo* confirmés sont filtrés avec les bases de données de gènes impliqués dans les TSA (SFARI et AutismKB) (c.f. chap.1.4.1).

3.1.5 Interaction Protéine-Protéine

L'implication fonctionnelle des gènes mutés est prédite par l'étude des voies biologiques dans lesquelles le gène est impliqué. Cette analyse est réalisée par la confrontation des données avec les outils en ligne "Dapple" [93] et "10000permutations" pour mettre en évidence d'éventuels enrichissements des grandes voies (pathways analysis).

3.1.6 Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel JMP Pro 10.0.0. Du fait d'une distribution non-gaussienne des données, les tests statistiques utilisés sont non paramétriques et catégoriels : test de Wilcoxon à deux échantillons, Fisher exact test, test ANOVA et test du chi² de Pearson. Une correction de Bonferroni n'est pas appliquée car un seul test statistique est effectué pour chaque comparaison et ce de façon indépendante.

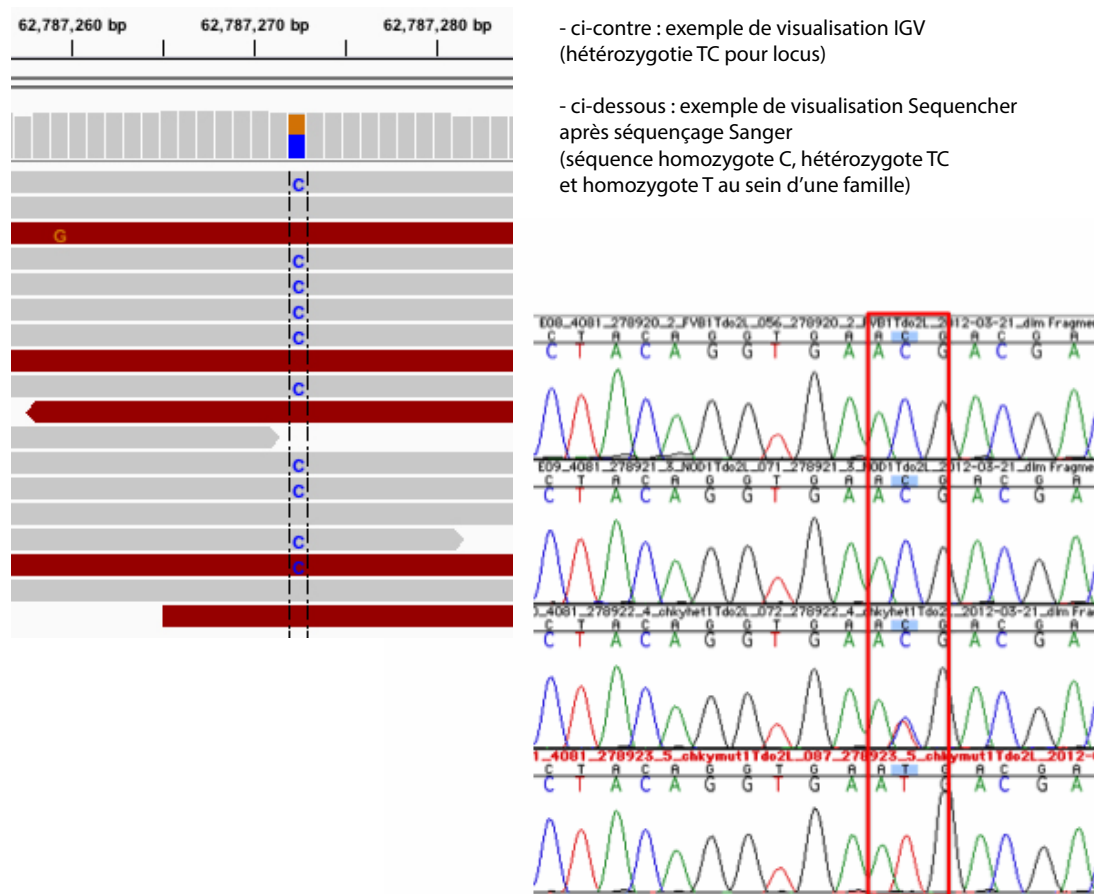


FIGURE 3.6: Exemple de validation visuelle (Logiciel IGV) et de chromatogramme de confirmation par méthode Sanger

3.1.7 Détail de la famille MPX 11 : hypothèses de ségrégation

La famille MPX11 est étudiée plus en détail du point de vue phénotypique et génétique. L'arbre généalogique de la famille MPX11 est présenté en figure 3.3. Cette famille regroupe sur trois générations 7 patients avec TSA (1 avec un TSA sévère et 6 présentant un syndrome d'Asperger) et une personne avec un autre diagnostic psychiatrique, tous issus de la branche paternelle de la famille. Un autre individu est décédé par suicide dans une génération antérieure. Tous les sujets atteints sont de sexe masculin. L'analyse de l'exome a été réalisée chez 8 individus. Les mêmes filtres de qualité sont utilisés pour la sélection des variants de la famille MPX11. Les variants sont ensuite sélectionnés en fonction de leur ségrégation.

3.2 Méthodes 2 : Anomalies des gènes des Neuroligines

3.2.1 Méthodes de la méta-analyse des gènes codant les Neuroligines

Dans un premier temps, une méta-analyse portant sur les patients présentant des anomalies impliquant l'un des gènes de la famille des neuroligines est réalisée. La recherche se fait sur les bases de données PubMed [74] et SFARI [60]. Dans PubMed, les mots-clés utilisés pour la recherche sont : « neurologine », « neurologine and autism », « neurologine 1 and autism », « neurologine 2 and autism », « neurologine 3 and autism », « neurologine 4 and autism », « neurologine 4X and autism », « neurologine 4Y and autism ». Dans SFARI, tous les articles référencés en lien avec une anomalie du gène d'intérêt ou un CNV de la région chromosomique correspondante sont pris en compte.

Parmi les articles sélectionnés dans SFARI et PubMed avec ces mots-clé, les critères d'inclusion des articles portent les termes évocateurs présents dans le titre de l'article, le résumé, le corps du texte ou les figures et tableaux de données brutes de chaque article. Les articles inclus sont des études cas-témoins (patients atteints de TSA versus contrôles), des rapports de cas (case-report), des études de cohorte de témoins, des études cas-témoins d'autres pathologies psychiatriques.

Les articles ne sont pas retenus si :

- aucun élément évocateur du sujet d'intérêt n'est présent dans le titre, l'abstract ou le corps du texte,
- aucune anomalie génétique des gènes des neuroligines dans les cohortes de patients et/ou de témoins n'est détectée,
- les articles traitent de modèles animaux, de cellules souches neuronales ou d'études scientifiques fondamentales.

3.2.2 Analyse d'une cohorte de patients présentant une anomalie du gène *NLGN4*

3.2.2.1 Inclusion, analyse des données cliniques des patients

Pour l'étude de petits CNV des gènes *NLGN4X* et *NLGN4Y*, la cohorte comportait 212 garçons atteints de TSA issus de la cohorte PARIS et inclus selon les mêmes modalités que celles décrites précédemment.

L'ensemble des données cliniques est recueillie et compilée afin de décrire les caractéristiques phénotypiques des patients. Afin d'homogénéiser un sous-groupe de patients, seules

les données cliniques des patients présentant une anomalie de *NLGN4X* ou *NLGN4Y* sont réanalysées.

3.2.2.2 Détection des CNV impliquant *NLGN4X* et/ou *NLGN4Y* par la technique de ddPCR

Les variations du nombre de copie des gènes *NLGN4X* et *NLGN4Y* sont recherchées à l'aide de la technique de "Droplet Digital Polymerase Chain Reaction" (ddPCR). Le principe de cette technique consiste en la comparaison du nombre de copie des gènes d'intérêt et d'un gène de référence en mesurant la fluorescence de chaque gène. Le gène *HMBS* est utilisé comme référence, du fait de l'absence de CNV connu pour ce gène dans les bases de données (DGV, [94]).

Le protocole est testé à l'aide des deux familles MPX avec une délétion ou une duplication du gène *NLGN4Y* comme témoins positifs. Les amorces sont conçues pour éviter les zones de polymorphisme, de sorte qu'aucun primer ne vient se fixer sur un variant déjà répertorié (rs), et ce pour minimiser les faux positifs. De même, deux couples de primers sont utilisés de façon systématique afin d'éviter les faux positifs. Et lorsque qu'un CNV était mis en évidence parmi les 212 patients testés, une duplication de l'expérimentation est réalisée. De même, les résultats discordants sont considérés comme des erreurs de lecture et l'expérimentation est renouvelée.

Deux paires de primers sont générées dans les régions d'homologies des deux gènes d'intérêt, une seule paire est utilisée pour *HMBS*. Le premier couple d'amorces amplifie l'exon 2 de *NLGN4Y* et l'exon 2 de *NLGN4X*, tandis que le second couple amplifie respectivement les exons 7 et 6.

Le détail des séquences des amorces et du fluorochrome et du protocole de ddPCR est consultable en annexe 5.

A l'issue de cette expérience, les données des patients pour lesquels un CNV sont mis en évidence sont réévaluées afin de caractériser leur phénotype précis et de comparer les patients entre eux.

3.2.3 Analyses statistiques

Pour cette partie, la significativité des différences observées entre cohortes de patients et contrôles est déterminée à l'aide de tests statistiques. Du fait d'une distribution non-gaussienne des données, les tests statistiques utilisés sont non paramétriques et catégoriels : Fisher's exact test, Exact binomial test pour les données inférieures à 5. Une

correction de Bonferroni n'est pas appliquée car un seul test statistique est effectué pour chaque gène des Neurologines et ce de façon indépendante. Les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel R.

Chapitre 4

Résultats

4.1 Analyse clinique et identification de variants *de novo* de 17 familles multiplexes

4.1.1 Caractérisation des variants *de novo* dans les familles MPX

Avant filtres, les données d'exome montrent environ 1400 variants *de novo* par individu par exome. Après filtres de qualité et de fréquence présentés précédemment (Chap. 3), 68 variants *de novo* sont visualisés (BAM) sur la cohorte entière. 42 de ces mutations sont confirmées par séquençage Sanger.

Comme on peut l'attendre compte-tenu de la faible fréquence de chaque évènement *de novo* en population générale, aucun de ces variants ne touche le même gène chez plusieurs individus. Les variants non confirmés par séquençage Sanger (n=22) sont dus à des échecs de mise au point d'amorces ou à de l'ADN manquant chez un membre d'un trio. Parmi les variants séquencés, seuls 4 sont des faux positifs.

Au total, 1,48 mutations *de novo* par individu sont mises en évidence (1,68 chez les patients avec TSA contre 1,07 chez les sujets sains (p=0,22)).

Les gènes mutés sont classés selon leur expression cérébrale et/ou leur association précédente avec les TSA (base de données SFARI [60]). Sur les 42 gènes présentant un variant *de novo*, 25 présentent une expression cérébrale et 4 sont déjà référencés dans la base de données SFARI.

La figure 4.1 montre les résultats des tests statistiques pour les comparaisons du nombre d'évènements survenus *de novo* entre patients avec TSA et apparentés :

- a. pour l'ensemble des gènes (p-value=0,17),

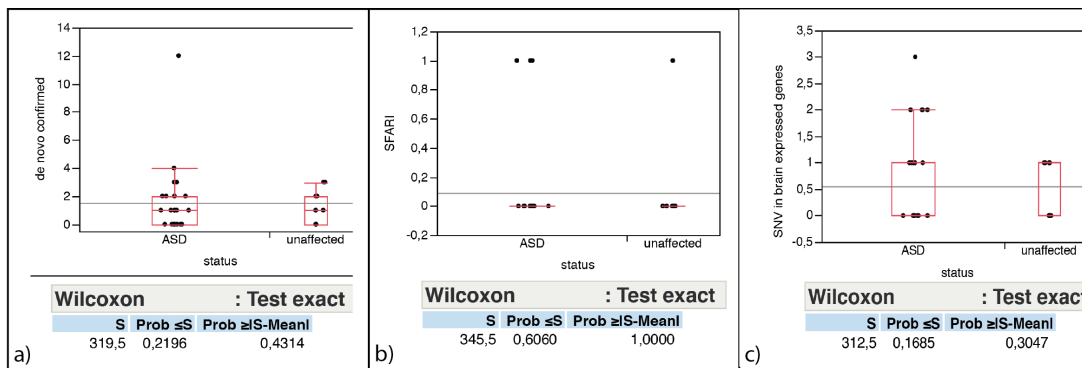


FIGURE 4.1: Comparaison des évènements *de novo* chez les patients avec TSA et les sujets non atteints, Tests statistiques correspondants. (a. tous les gènes, b. gènes à expression cérébrale, c. gènes répertoriés dans SFARI)

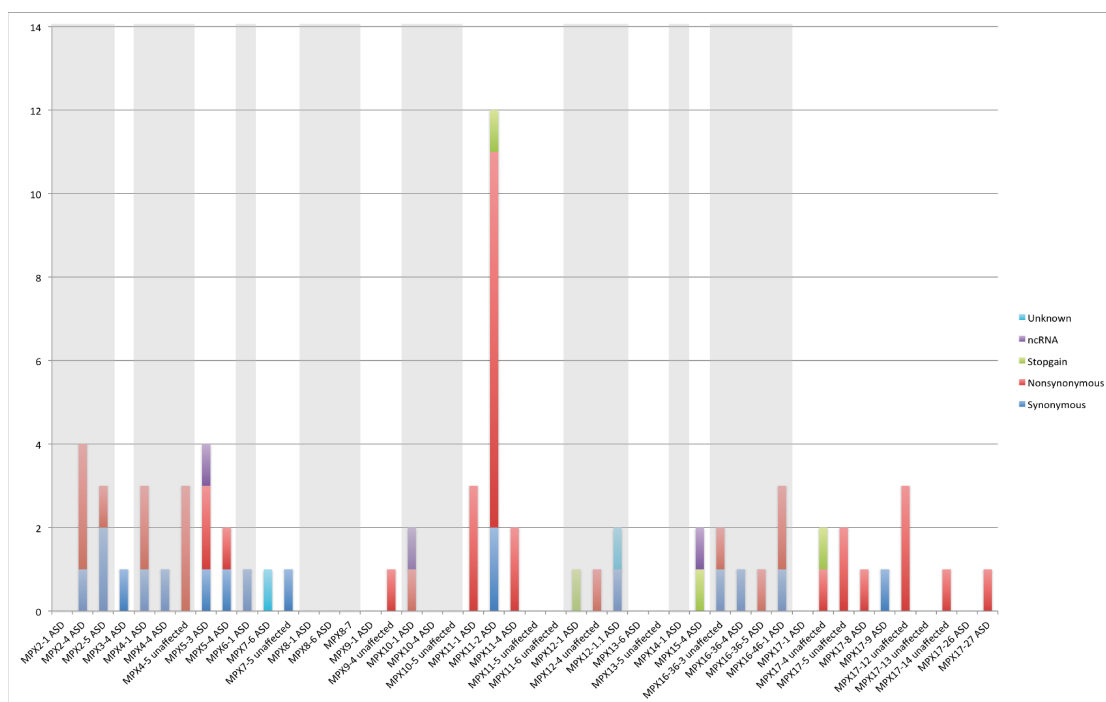


FIGURE 4.2: Variants *de novo* par individu. Les couleurs indiquent le type de mutations (en bleu foncé : synonyme, en rouge : non-synonyme, en vert : stop, en violet : ncRNA, en bleu clair : inconnu)

- b. pour les gènes à expression cérébrale (p-value=0,61),
- c. pour les gènes déjà référencés dans SFARI (p-value=0,30).

Les caractéristiques des mutations *de novo* par individu et en fonction du statut sont résumées par la Figure 4.2.

Les variants *de novo* sont ensuite analysés selon leur pathogénie potentielle pour la fonction protéique en croisant les données obtenues par les logiciels SIFT [95] et PolyPhen [96]. Il existe une surreprésentation des mutations synonymes chez les patients par

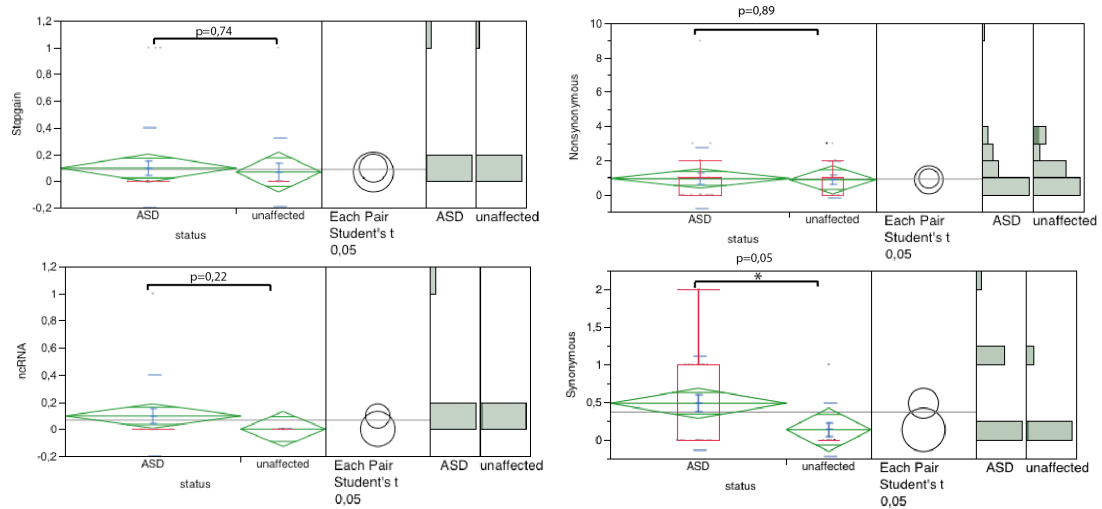


FIGURE 4.3: Distribution des types de mutations *de novo* en fonction du statut

rapport aux apparentés sains (différence significative ($p=0.05$)). Les autres types de mutations (stopgain, non-synonymes ou ncRNA) ne présentent pas de différence statistique ($p=0.74$, $p=0.89$, $p=0.22$ respectivement) (Figure 4.3).

Résumé des variants *de novo* dans les familles MPX

Les arbres généalogiques présentent pour chaque famille multiplexe les anomalies génétiques déjà connues (en vert), ainsi que les mutations *de novo* stopgain, non-synonymes, synonymes/inconnues (en orange, bleu et noir respectivement) (Figures 4.4, 4.5, 4.6).

4.1.2 Mutations *de novo* dans des gènes candidats aux TSA : *SRGAP3*, *SLC25A22*, *SHANK3*

Dans les variants *de novo* de la cohorte, 3 mutations considérées comme délétères pour la fonction protéique font partie des gènes candidats aux TSA.

- La première est une mutation non-synonyme du gène *SRGAP3* (c.G1627A p.D543N NM 001033117), prédite pour endommager la fonction protéique par les deux principaux algorithmes SIFT [95] (score=0,08) et Polyphen [96] (HVAR score=0,972).
- Le même patient (Famille MPX2) présente également une mutation *de novo* touchant le gène *SLC25A22* (NM 001191060 exon8 :c.C732A ; p.N244K). L'analyse du second allèle n'a pas mis en évidence de variant chez ce patient.
- Une mutation stop *de novo* a été également confirmée dans le gène *SHANK3* (c.C3685T ; p.Q1229X NM 033517 exon 21) chez un patient (famille MPX15).

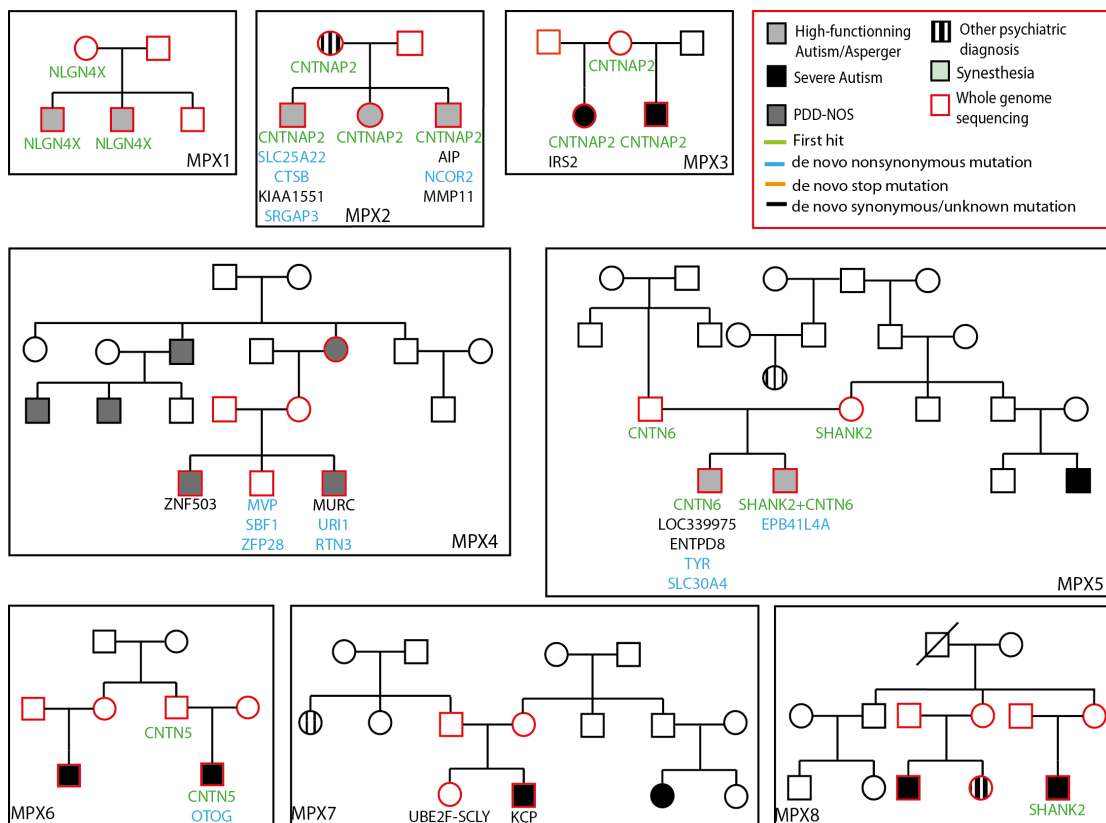


FIGURE 4.4: Variants *de novo* par individu dans les familles multiplexes (Les couleurs des noms de gènes correspondent au type de mutation. Les mutations en vert étaient déjà connues, les mutations stop sont en orange, non-synonymes en bleu, synonymes en noir)

Ensuite, une analyse des interactions protéiques des gènes touchés par les mutations *de novo* est effectuée. Aucun enrichissement dans une voie biologique n'est mis en évidence à l'aide des outils en ligne "Dapple" [93] (Figure 4.7) ou "Gene-ontology" [97].

4.1.3 Corrélation génotype-phénotype

Alors que la cohorte des 17 familles multiplexes incluses dans cette étude comporte 47 patients atteints de TSA et 88 individus apparentés sans TSA, les données cliniques complètes ne sont disponibles que pour 38 individus présentant un TSA et pour 73 apparentés.

Le sexe-ratio est de 6.8 chez les patients avec TSA et de 1 chez les apparentés. L'âge maternel moyen à la naissance est respectivement chez les patients et chez les contrôles de 28,8 et 27,7 ans (p-value=0,046). L'âge paternel moyen à la naissance est respectivement chez les patients et chez les contrôles de 32,2 et 31,4 ans (p-value=0,037).

Parmi les patients, 27 présentent un diagnostic de TSA de haut niveau (c'est-à-dire sans déficience intellectuelle associée) dont 8 patients avec diagnostic de syndrome d'Asperger ;

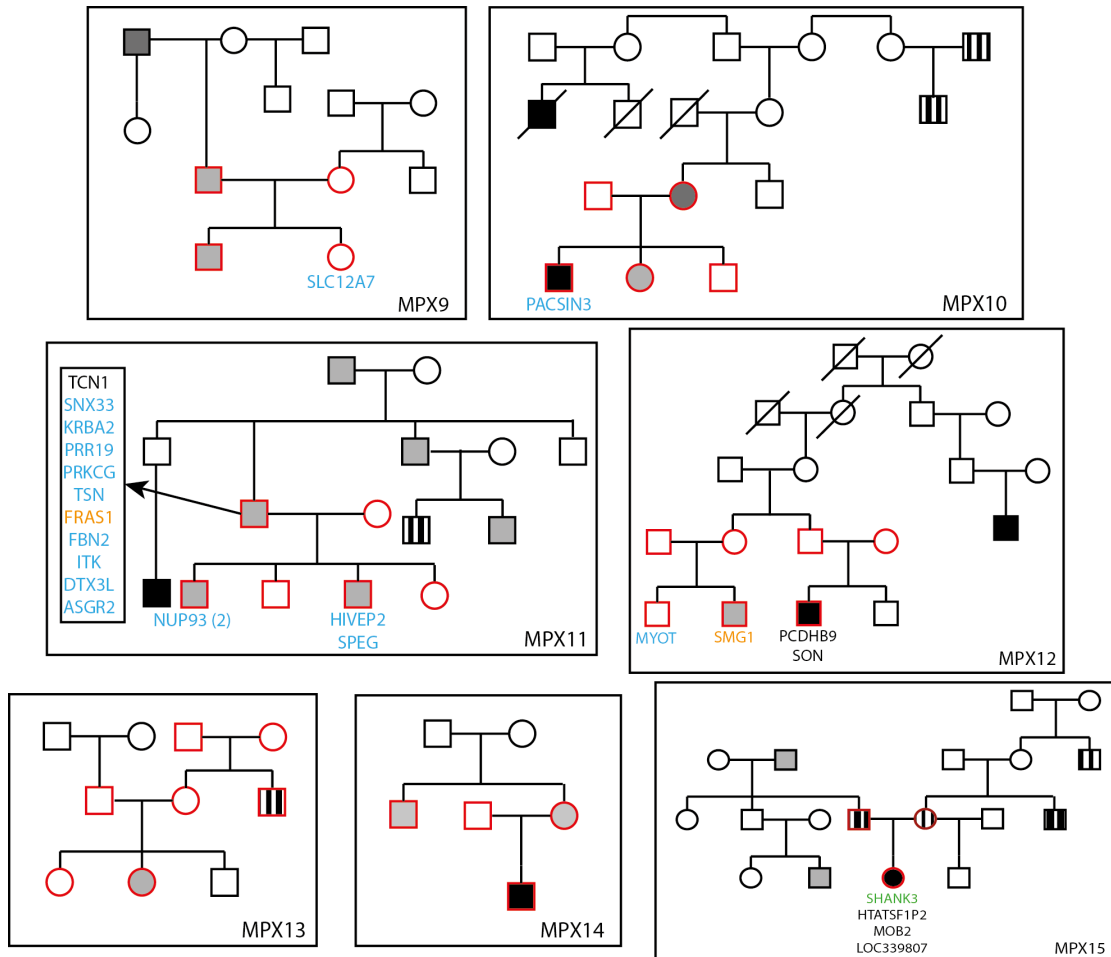


FIGURE 4.5: Variants *de novo* par individu dans les familles multiplexes (Les couleurs des noms de gènes correspondent au type de mutation. Les mutations en vert étaient déjà connues, les mutations stop sont en orange, non-synonymes en bleu, synonymes en noir)

10 patients sont atteints d'un TSA avec déficience intellectuelle et le niveau intellectuel n'est pas précisé chez 10 patients. Le QI moyen des patients et des apparentés ne présente pas de différence significative (QI=90 [$<40-148$] pour les patients, QI=113 [79-141] chez les apparentés) (p-value=0,093).

La figure 4.8 résume les données énoncées ci-dessus.

Parmi les patients, 28 présentent des comorbidités psychiatriques (73,7%). Les apparentés présentent un diagnostic psychiatrique dans 51 cas sur 73 (70%, F=27, M=24) (p-value = 0,88) (Figure 4.9).

Les détails des pathologies psychiatriques de la cohorte sont les suivants : - La représentation du TDAH chez les patients avec TSA est de 14 patients soit 36,6%, contre 15 chez les apparentés, soit 20,5%, (p-value=0,21).

- 5 patients, soit 39,5% contre 28 apparentés, soit 38,4% montrent des troubles anxieux

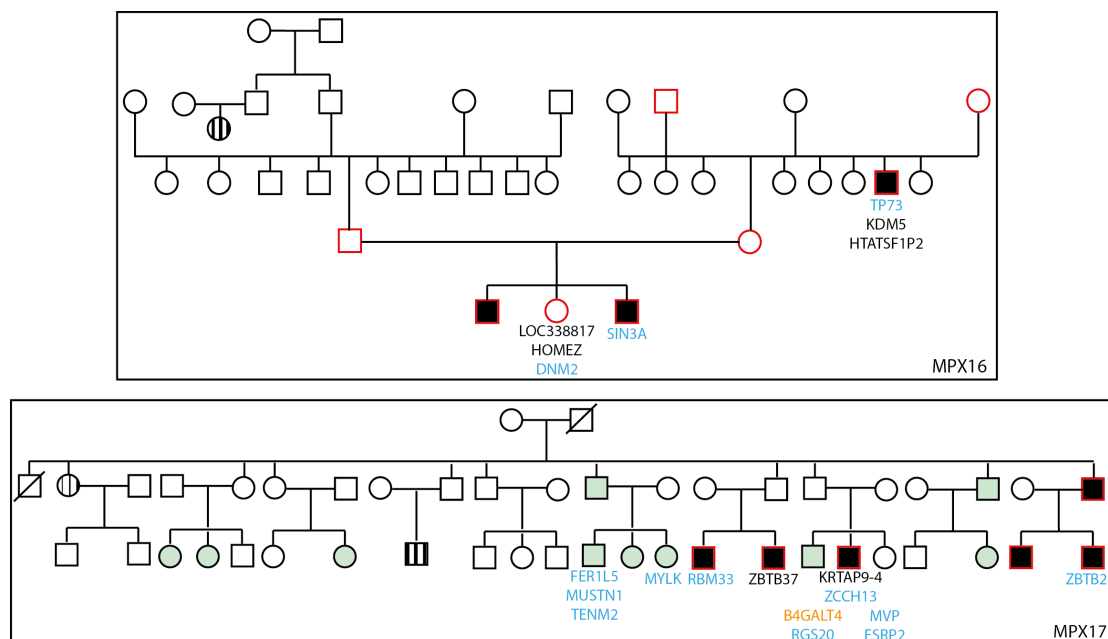


FIGURE 4.6: Variants *de novo* par individu dans les familles multiplexes (Les couleurs des noms de gènes correspondent au type de mutation. Les mutations en vert étaient déjà connues, les mutations stop sont en orange, non-synonymes en bleu, synonymes en noir)

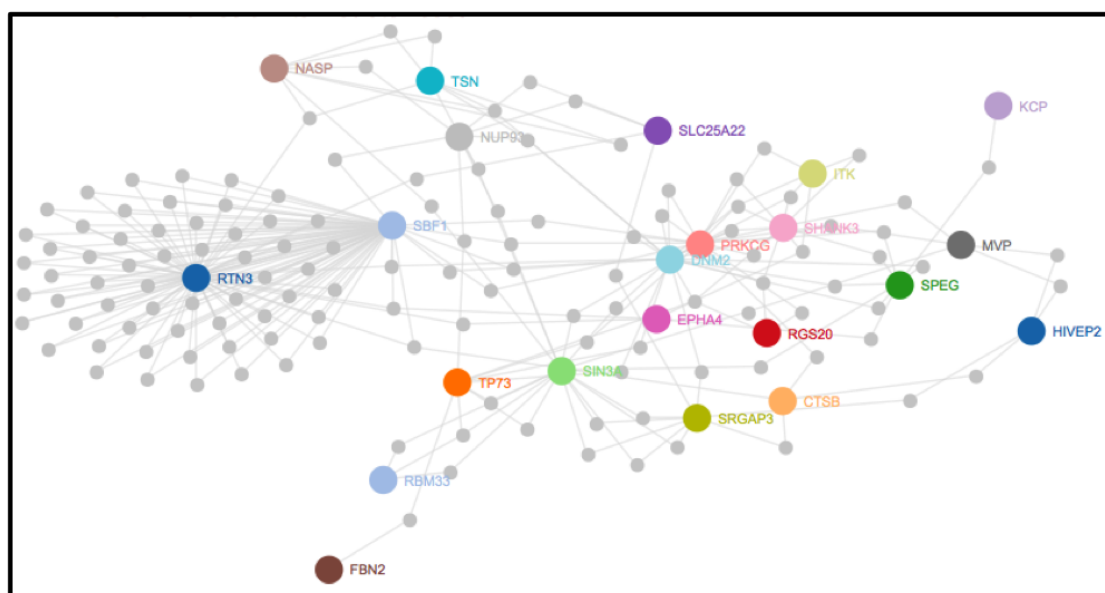


FIGURE 4.7: Interactions protéine-protéine des gènes touchés par des variants *de novo* dans les familles MPX (réalisé avec l'outil en ligne Dapple)

	TSA (n=47)	Controles (n=88)	Fisher exact test (p-value)
Diagnostic	- TSA haut niveau (dont Asp) (n=27), - Asperger (n=8), - TSA avec DI (n=10), - TSA sans précision QI (n=10)	- Diagnostic psy (n=51, 70%) (F=27, M=24), - Absence de Dg psy (n=20, 27,4%) (F=9, M=11), - Données cliniques manquantes (n=15)	-
Données cliniques détaillées disponibles	n=38 (80,9%)	n=73 (83%)	-
Sexe	M (n=41), F (n=6)	M (n=44), F (n=44)	-
Sex-ratio	6,8	1	-
âge maternel (moyenne)	28,8	27,7	0.046 *
âge paternel (moyenne)	32,2	31,4	0.037 *
QI moyen	90	113	0.093
Trb sommeil	15	23	-
% trb sommeil	39,4%	31,5%	0.56
Dysmorphie/ Malformations	4	1	-
%	10,5%	1,4%	0.056
Sp moteurs	3	1	-
%	7,9%	1,4%	0.13

FIGURE 4.8: Données cliniques des familles MPX

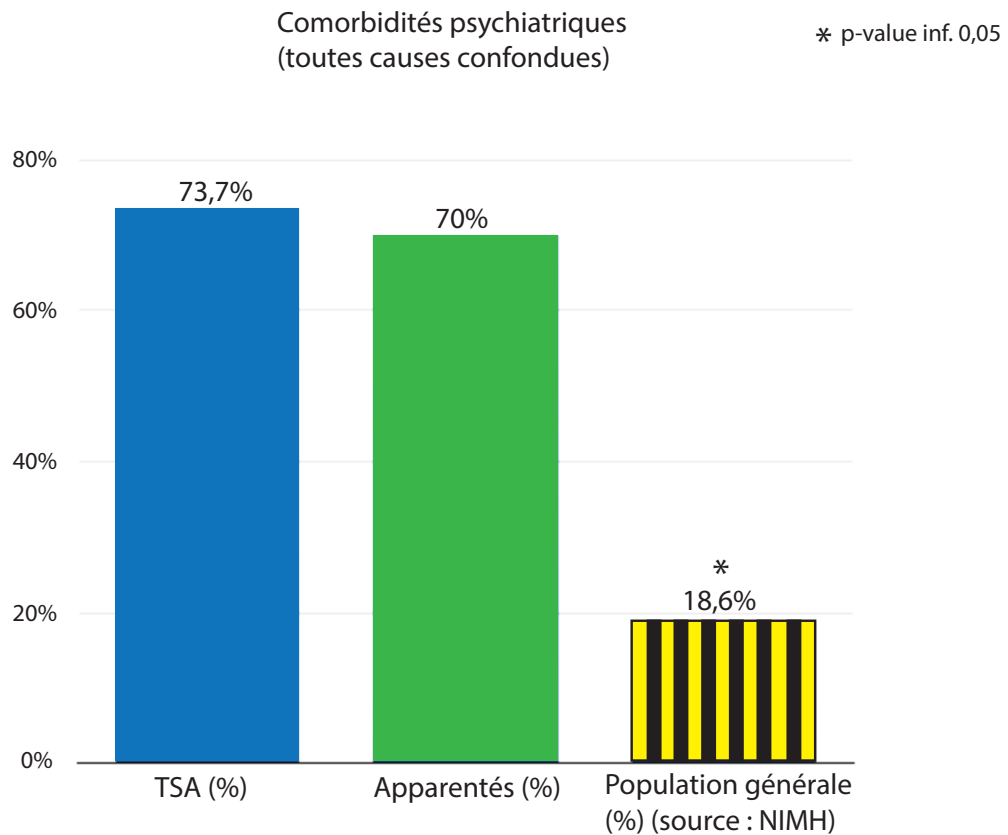


FIGURE 4.9: Répartition des pathologies psychiatriques (toutes causes confondues) au sein des familles MPX, comparaison avec les prévalences en population générale

	TSA (n=38)	TSA (%)	Controles (n=73)	Controles (%)	Prévalence en pop générale (source : NIMH)	TSA vs controles Fisher Exact test (p-value)	TSA vs pop générale Exact binomial test (p-value)	Controles vs pop générale Exact binomial test (p-value)
Comorbidités psy (toutes causes)	28	73,7%	51	70%	18,6%	0,88	2.3e-13 *	2.3e-13 *
Phobie sociale	-	-	13	17,8%	6,8%	-	-	< 2.2e-16 *
TDAH	14	36,8%	15	20,5%	9%	0,21	2.7e-06 *	2.7e-06 *
Trb anxieux	15	39,5%	28	38,4%	18,1%	1	0.0021 *	0.0021 *
EDM/trb humeur	11	28,9%	29	40%	9,5%	0,45	0.0006 *	0.0006 *
TOC, tics, Gilles de la Tourette	12	31,6%	19	26%	1,0%	0,68	2.1e-15 *	2.1e-15 *
Trb apprentissages	8	21,1%	9	12,3%	-	0,42	-	-
TCA	1	2,6%	1	1,4%	2,7%	1	1	1
SCZ/schizotypie	1	2,6%	2	2,7%	1,1%	1	0,34	0,34
Addiction	1	2,6%	4	5,5%	-	0,66	-	-

FIGURE 4.10: Répartition des pathologies psychiatriques au sein des familles MPX, (par pathologie) comparaison avec les prévalences en population générale

(p-value=1).

- Les pathologies psychiatriques de type "TOC, tics, syndrome de Gilles de La Tourette" sont présentes chez 12 patients, soit 31,6%, contre 19 apparentés, soit 26%, (p-value=0,68).
- Les épisodes dépressifs majeurs (EDM) et troubles de l'humeur sont diagnostiqués pour 11 patients soit 28,9%, contre 29 chez les apparentés, soit 40%, (p-value=0,45).
- Des troubles des apprentissages sont retrouvés chez 8 patients soit 21,1%, contre 9 chez les apparentés, soit 12,3% (p-value=0,42).
- Les troubles du comportement alimentaire (hors particularités/sélectivités alimentaires) sont présents chez 1 patient, soit 2,6% et 1 apparenté, soit 1,4% (p-value=1).
- La schizophrénie et la schizotypie sont diagnostiquées chez 1 patient, soit 2,6% et 2 apparentés, soit 2,7% (p-value=1).
- Les addictions sont présentes chez 1 patient, soit 2,6% contre 4 apparentés, soit 5,5% (p-value=0,66).
- Le diagnostic de phobie sociale est posé chez 13 apparentés sur 73, soit 17,8%.

Concernant l'ensemble de comorbidités psychiatriques entre patients et apparentés dans ces 17 familles MPX, il n'existe pas de différence statistique.

Les figures 4.10 et 4.11 résument ces résultats.

Les prévalences des troubles psychiatriques en population générale ont été obtenues grâce aux bases de données épidémiologiques du National Institute of Mental Health (NIMH) (USA) [98]. Celles-ci sont comparées aux valeurs obtenues dans la cohorte, d'une part avec les patients atteints de TSA et avec les apparentés d'autre part.

Il existe une différence statistiquement significative importante entre les patients et les apparentés en comparaison avec la population générale pour toutes les pathologies psychiatriques confondues : 73,7% chez les patients avec TSA, 70% chez les apparentés sans

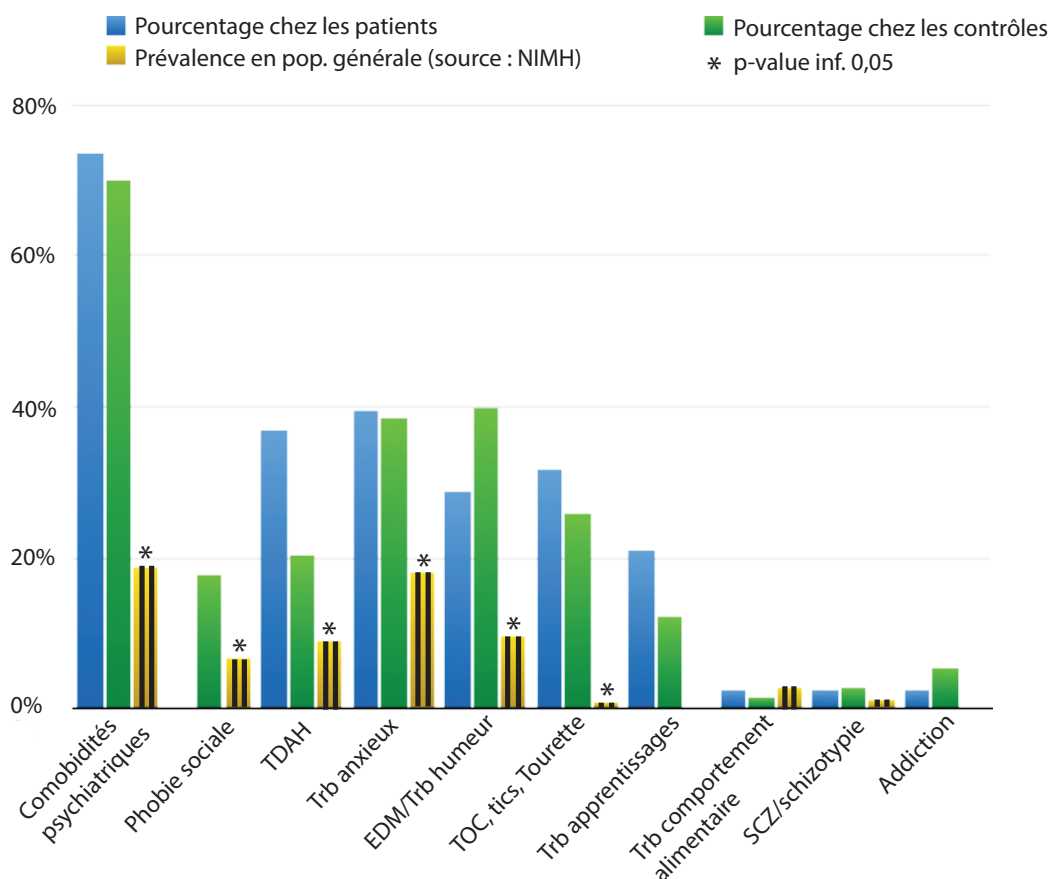


FIGURE 4.11: Histogramme représentant la répartition des pathologies psychiatriques au sein des familles MPX, comparaison avec les prévalences en population générale

TSA, contre 18,6% en population générale (p-values identiques à $2,3e-13$) [99].

De même, le détail par pathologie montre des différences significatives importantes :

- **Phobie sociale** : 17,8% chez les apparentés, contre 6,8% en population générale (p-value inférieure à $2,2e-16$) [100],
- **TDAH** : 36,6% chez les patients, 20,5% chez les apparentés, contre 9% en population générale (p-values identiques à $2,7e-6$) [101],
- **Troubles anxieux** : 39,5%, 38,4% respectivement, contre 18,1% en population générale (p-values identiques à 0,0021) [102],
- **EDM et Troubles de l'humeur** : 28,9%, 40% respectivement, contre 9,5% en population générale (p-values identiques à 0,0006) [103],
- **TOC, tics, Syndrome de Gilles de la Tourette** : 31,6% et 26% respectivement, contre 1,0% en population générale (p-values identiques à $2,1e-15$) [104].

Il n'existe pas de différence significative entre les patients et les apparentés en comparaison avec la population générale pour les :

- Troubles du comportement alimentaire : 2,6% et 1,4% respectivement, contre 2,7% en

population générale (p-values identiques à 1) [105],

- Schizophrénie, schizotypie : 2,6% et 2,7% respectivement, contre 1,1% en population générale (p-values identiques à 0,34) [105].

Du point de vue des pathologies somatiques mises en évidence dans la cohorte, 24 des 38 patients avec TSA (63,2%) sont atteints de comorbidités somatiques, contre 46 (63%) pour les apparentés (p-value=1) (Figure 4.12, ??).

Les patients présentent des troubles du sommeil dans 39,4% des cas (15 patients), contre 31,5% chez les apparentés (23 individus) (p-value=0.56). Il existe une dysmorphie ou des malformations dans 3 cas sur 38 patients soit 10,5%, tandis que seul 1 apparenté sur 73 montre ce type d'anomalie, soit 1,4% (p-value=0,056). 3 patients (7,9% sont atteints de symptômes moteurs (troubles de la motricité globale, articulaires et de la marche), contre seulement 1 chez les apparentés (1,4%) (trouble de la motricité fine) (p-value=0,13) (Figure 4.8). Aucune différence n'est mise en évidence entre les deux groupes.

Concernant le détail des comorbidités somatiques, les patients avec TSA ne présentent pas de différence significative au point de vue des anomalies neurologiques (8 patients, soit 21,2% contre 15 apparentés, soit 20,5% (p-value=1), néanmoins il existe une sur-représentation des cas d'épilepsie chez les patients (4 cas pour 38 patients, soit 10,5%, contre 1 cas chez les apparentés, soit 1,4%) (p-value=0,05). Les autres anomalies neurologiques ne montrent pas de différence entre les deux groupes. Les détails des pathologies sont représentés en figure 4.12 et 4.13

Les autres pathologies ne montrent pas non plus de différences de survenue entre les deux groupes (malformations, maladies auto-immunes, pneumologiques/ORL, gastro-entérologiques, allergologiques, cardiologiques, néphrologiques, endocrinologiques, ophtalmologiques) (Figure 4.12).

Des particularités sensorielles sont présentes chez 15 patients (39,5%) et 20 individus contrôles (27,4%) (p-value=0,42). La seule différence mise en évidence entre les deux populations concerne l'hypersensibilité aux bruits chez les patients (p-value=0,03). Les autres particularités sensorielles sont réparties de manière équivalente dans les deux cohortes (Figure 4.14).

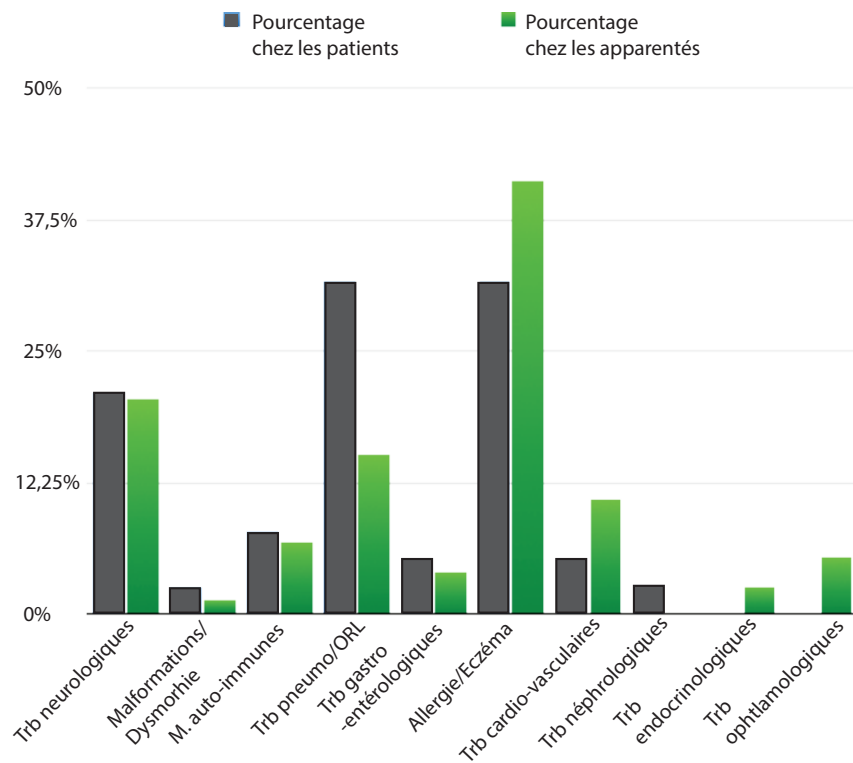


FIGURE 4.12: Répartition des pathologies somatiques au sein des familles MPX

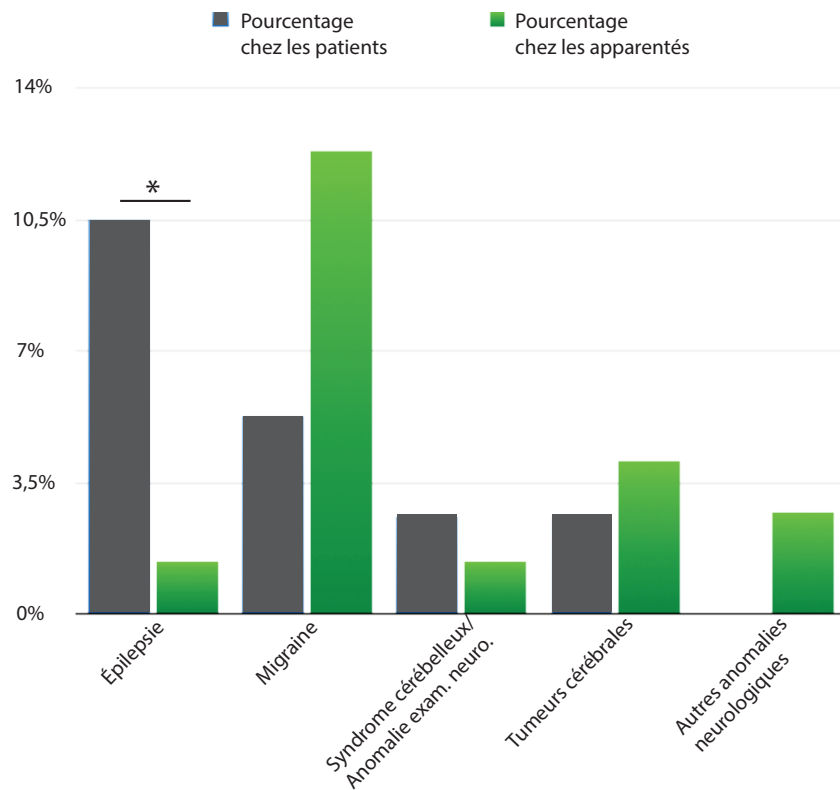


FIGURE 4.13: Détail des pathologies neurologiques dans la cohorte

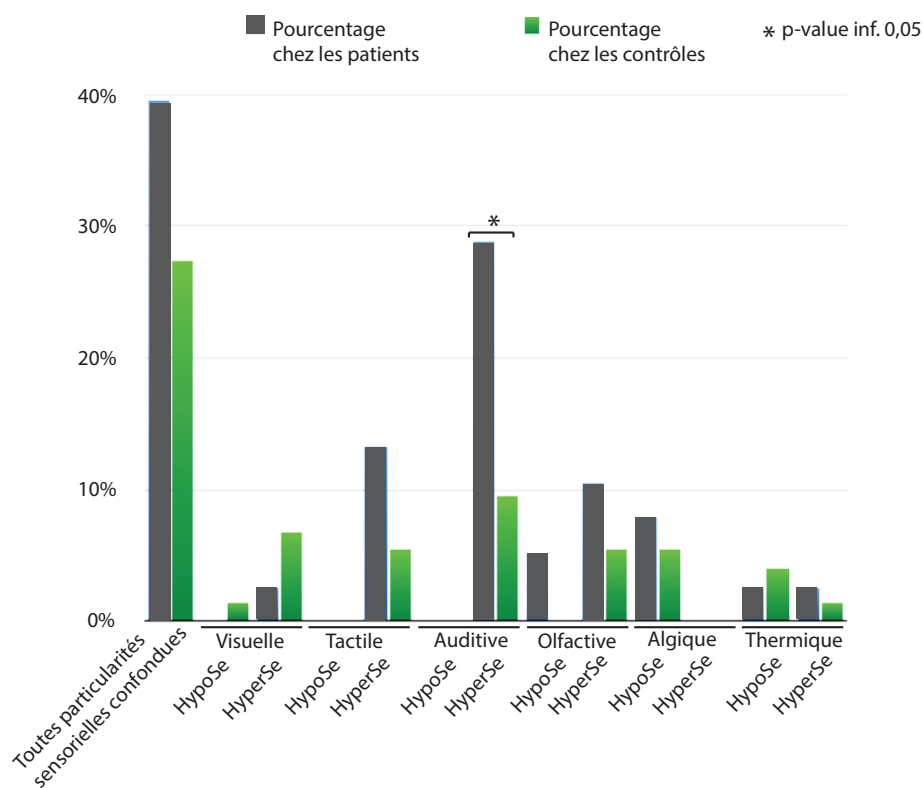


FIGURE 4.14: Répartition des particularités sensorielles au sein des familles MPX

mai-15	Nb d'articles "neuroligin"	Nb d'articles "neuroligin" et "autism"	Nb d'articles cliniques inclus	Dates de parution
Total	1676	859		
"neurolig	322	181	22	1981-2015
"neurolig	146	96	9	2011-2015
"neurolig	508	466	17	2003-2015
"neurolig	424	413	-	-
"neurolig	194	144	30	1999-2014
"neurolig	67	37	9	2005-2015

FIGURE 4.15: Articles sélectionnés pour la méta-analyse en fonction des mots-clé

	Articles SFARI	Articles SFARI et TSA	Articles SFARI et CNV	"Gene score"	Détails "Gene score"
NLGN1	14	6	12	4	Rapports multiples, mais insuffisants
NLGN2	2	2	19	inconnu	-
NLGN3	28	13	12	3	Lien avec autres gènes impliqués dans TSA, mutations
NLGN4X	23	16	28	3	Lien avec autres gènes impliqués dans TSA, mutations
NLGN4Y	3	1	2	4	Rapports multiples, mais insuffisants

FIGURE 4.16: Articles référencés dans SFARI, Score d'implication dans les TSA par gène

4.2 Méta-analyse des gènes codant les Neuroligines dont *NGLN4*

Les figures 4.15, 4.16 résument le nombre d'articles référencés initialement dans PubMed et SFARI en fonction des mots-clé, puis le nombre d'articles utilisés pour les analyses finales. Un score d'implication dans la pathogénie des TSA est proposé pour chaque gène par la base de données SFARI.

La méta-analyse qui suit concerne les CNV et SNP de tous les membres de la famille des Neuroligines. Dans un soucis de présentation, les références de tous les articles retenus ne sont pas référencés. Le détail des articles utilisés dans l'analyse finale est consultable en annexe 6. D'un point de vue général, les articles étudiant les variants génétiques des populations autistes ne détaillent pas le phénotype des patients, ce qui explique pourquoi les données suivantes sont peu renseignées sur le plan clinique et parfois sur les coordonnées exactes des anomalies des gènes.

4.2.1 *NGLN1* dans les Troubles du Spectre Autistique

Le gène *NGLN1* est situé sur le chromosome 3 (position 3q26.31).

De 322 articles référencés dans PubMed, 181 articles restent avec les mots-clé "Neurologine 1" et "autism". Parmi ceux-ci, 22 articles parus entre 1981 et 2015 référencent des anomalies du gène *NGLN1* chez des patients.

9 études cas-témoins permettent de mettre en évidence 356 anomalies génétiques du gène *NGLN1* chez 9859 patients présentant un TSA diagnostiqué selon les critères du DSM-IV (soit 3,6%), contre 154 anomalies du gène chez 14768 sujets contrôles (soit 1%), ce qui représente une différence statistiquement significative (p-value=4.21e-41).

2 articles ne recensent que des patients avec TSA, ils décrivent 5 anomalies chez 241 patients (soit 2,1%).

2 études tentent de mettre en évidence la fréquence des anomalies de *NGLN1* dans des cohortes d'individus contrôles. Sur 2296 individus, 3 anomalies de *NGLN1* sont rapportées (soit 0,1%) (2 variants déjà connus (rs3853390, rs1488545) et 1 duplication (dup chr3 :174685932-174693754)).

Au total, les anomalies de *NGLN1* chez les patients avec TSA sont décrites dans les figures 4.17 et 4.18, il s'agit de :

- une mutation faux-sens survenue *de novo*, reconnue comme délétère car entraînant une modification d'acide aminé (p.V320I) [106];
- 2 SNP déjà connus (rs3853390, rs1488545) identiques aux sujets contrôles;
- 5 délétions survenues chez 5 garçons avec autisme, dont 3 récurrentes (3 del chr3 :175453161-175628632) [107];
- 353 duplications dont 62 duplications introniques survenues chez des patients avec TSA.

Au plan clinique, tous les patients avec une anomalie de *NGLN1* présentent une déficience intellectuelle d'intensité variable associée au TSA. 2 études décrivent 9 patients présentant un syndrome de duplication 3q, les caractéristiques cliniques de ces patients montrent un retard global de développement, une dysmorphie aspécifique, une hypotonie, des malformations cardiaques dans un cas ou une paresthésie du nerf facial dans un autre.

Des anomalies sont dépistées au sein du gène *NGLN1* dans des publications étudiant d'autres pathologies. 2 études cas-témoins de patients présentant un déficience intellectuelle ou un retard global de développement mettent en évidence 4 délétions chez 15768 patients et aucune parmi 8329 témoins (p-value=0,31).

NLGN1	Études cas-témoins		Cohortes de patients	Cohortes de contrôles	Autres pathologies									
	Patients	Contrôles	Patients avec TSA	Contrôles	Patients	Patients	Contrôles	Patients	Patients	Contrôles	Patients	Contrôles	Patients	Contrôles
Nb de publications	9		2	2	2	2		2	1		1		1	
Nb d'individus	9859	14768	241	2296	9	15768	8329	72	1346	1594	8624	16622	216	314
Nb d'anomalies	356	154	5	3	9	4	0	2	1	0	1	0	1	0
Fréquence	3,6%	1%	2,1%	0,1%	-	0,03%	-	-	-	-	-	-	-	-
Fisher's exact test (p-valeur)	4.21e-41 *		-	-	-	0,31	-	-	-	-	-	-	-	-
Type de mutations														
SNP	1	0	2	2	0	0	0	1	-	-	-	-	-	-
mut. troncante	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mut. délétère	1	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mut. bénigne	-	-	-	-	-	-	-	1 (rs)	1 (rs)	-	1 (rs)	-	1 (rs)	-
CNV	355	154	3	1	9	4	0	1	-	-	-	-	-	-
del (total/M/F)	4/4/0	0		1/nc/nc	-	4/nc/nc	-	-	-	-	-	-	-	-
dup (total/M/F/intronic)	351/nc/nc/60	154/nc/nc/62		-	dup 3q/nc/nc/exonique	-	-	1/nc/nc/exonique	-	-	-	-	-	-
Diagnostic	TSA	contrôles	TSA	contrôles	Sd dup 3q	DI/Retard de dvpt		épilepsie/épilepsie du lobe temporal	Dépression récurrente	contrôles	AVC		Dystrophie cornéenne granulaire (type II)	
QI	DI	-	DI	-	Retard global de dvpt	DI modérée à sévère	-	normal	-	-	-	-	-	-
Autres	-	-	-	-	dysmorphie, hypotonie, malformation cardiaque, paresthésie nerf facial	dans 1 cas, hypotonie, microcéphalie, anomalies IRM	-	TDAH chez 1 patiente	-	-	-	-	-	-

FIGURE 4.17: Anomalies génétiques de *NLGN1* et données cliniques issues de la littérature

NLGN1 chromosome 3

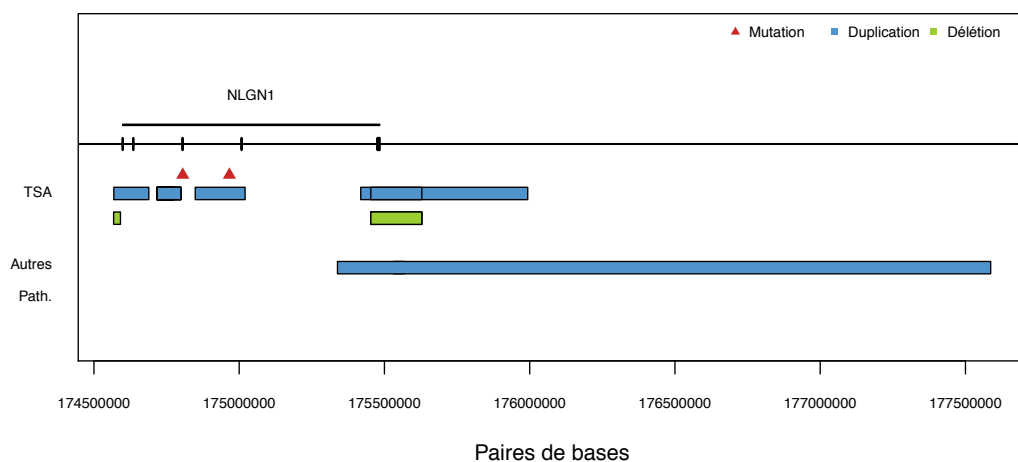


FIGURE 4.18: Anomalies génétiques de *NLGN1* dans la littérature (Seules les anomalies dont les coordonnées précises sont disponibles dans les articles sont représentées)

2 autres articles étudient l'épilepsie dans une cohorte de 72 patients. 2 SNP déjà connus (rs), ainsi qu'une duplication exonique sont mises en évidence. Une patiente porteuse d'une duplication de *NGLN1* présente une épilepsie, ainsi qu'un TDAH avec une efficacité intellectuelle normale [108].

Ensuite, 3 articles retrouvent un SNP déjà connu du gène *NGLN1* chez des patients présentant respectivement des dépressions récurrentes (rs13074924) (p-value=0,45), un accident vasculaire cérébral (rs976683) (p-value=0,34) et une dystrophie cornéenne granulaire de type II (rs6445141) (p-value=0,41) (ces SNP étant absents de la population contrôle des études).

4.2.2 *NGLN2* dans les Troubles du Spectre Autistique

Le gène *NGLN2* est situé sur le chromosome 17 (position 17p13.1).

De 146 articles référencés dans PubMed, 96 articles restent avec les mots-clé "Neurologine 2" et "autism". Parmi ces articles, 9 articles parus entre 2011 et 2015 référencent des anomalies du gène *NGLN2* chez des patients. 3 études cas-témoins permettent de mettre en évidence 5 anomalies génétiques du gène *NGLN2* chez 4284 patients présentant un TSA (soit 0,1%), sans qu'aucune anomalie du gène soit retrouvée parmi 12818 sujets contrôles, avec une différence statistiquement significative (p-value=0.00099).

2 articles n'étudient que des cohortes de patients avec TSA, elles décrivent 2 anomalies chez 438 patients (soit 0,5%).

Aucune cohorte d'individus contrôles ne retrouve d'anomalie de *NGLN2* chez les sujets sains.

Les anomalies de *NGLN2* chez les patients avec TSA sont décrites dans les figures 4.19 et 4.20, il s'agit de 7 CNV :

- 3 délétions survenues chez 3 patients indépendants, (2 garçons présentant un TSA et une déficience intellectuelle associée et 1 fille avec TSA) (del chr17 :4500000-7500000) [109-111];
- 4 duplications exoniques (dup chr17 : 6329934-7352107 [112]) [110, 113].

Au plan clinique, certains patients avec un CNV de *NGLN2* présentent une microcéphalie avec des éléments dysmorphiques aspécifiques sans déficience intellectuelle associée au TSA.

Des anomalies sont dépistées au sein du gène *NGLN2* dans d'autres pathologies. 2 articles rapportent 3 patients avec déficience intellectuelle porteurs de 3 duplications exoniques

NLGN2	Études cas-témoins		Cohortes patients	Autres pathologies				
	Nb de publications			1		1		
	Patients	Contrôles	Patients avec TSA	Patients	Patients	Contrôles	Patients	Contrôles
Nb d'individus	4284	12818	438	3	584	549	255	2349
Nb d'anomalies	5	0	2	3	8	2	1	0
Fréquence	0,1%	0	0,5%	-	1,4%	0,4%	0,4%	0
Fisher's exact test (p-value)	0.00099 *		-	-	0,11		0,098	
Type de mutations								
SNP	0	0	0	0	6	2	0	0
mut. troncante	-	-	-	-	-	-	-	-
Mut. délétère	-	-	-	-	6	2	-	-
Mut. bénigne	-	-	-	-	-	-	-	-
CNV	5	0	2	3	0	0	1	0
del (total/M/F)	2/1/01	-	1/1/0	0	-	-	-	-
dup (total/M/F/intronic)	3/2/nc/exonic	-	1/nc/exonic	3/nc/nc/exonic	-	-	1/nc/nc/exonic	-
Diagnostic	TSA	contrôles	TSA	DI	Schizophrénie		Agénésie Corps calleux	
QI	-	-	DI	DI	-	-	-	-
Autres	-	-	microcéphalie, dysmorphie	dysmorphie, convulsions hyperthermique, macrocéphalie, kyste plexus choroïde (IRM)	-	-	-	-

FIGURE 4.19: Anomalies génétiques de *NGLN2* et données cliniques issues de la littérature

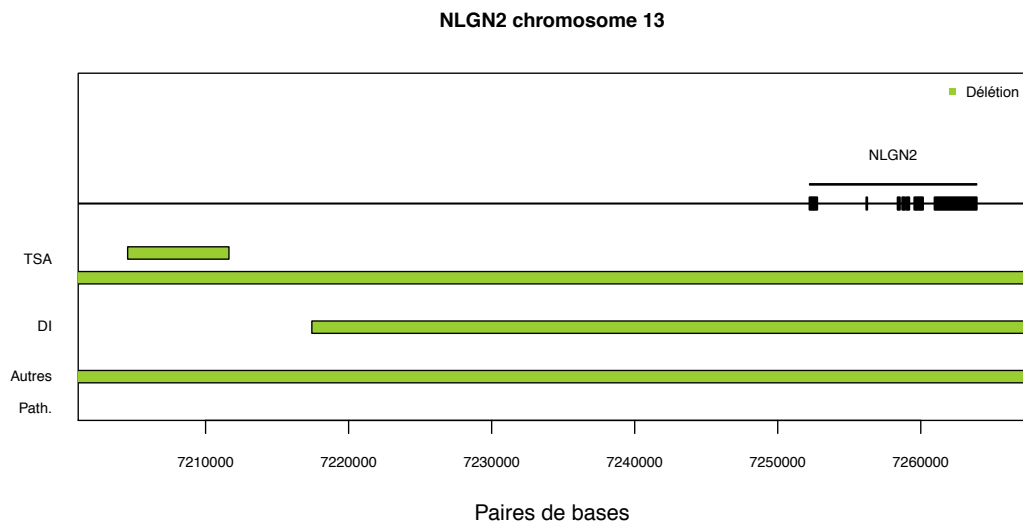


FIGURE 4.20: Anomalies génétiques de *NGLN2* dans la littérature (Seules les anomalies dont les coordonnées précises sont disponibles dans les articles sont représentées)

de 134, 780 et 790 kb, survenues *de novo*[114, 115]. Ces patients présentent une déficience intellectuelle modérée à sévère, une macrocéphalie et des éléments dysmorphiques aspécifiques. Le patient porteur de la plus grande duplication présente en plus une épilepsie, ainsi qu'un diabète de type II avec obésité et syndrome métabolique, ainsi qu'une hypothyroïdie. Son imagerie cérébrale montre un kyste du plexus choroïde [114].

Ensuite, 1 étude cas-témoins retrouve 8 SNP du gène *NGLN2* chez 584 patients présentant une schizophrénie (soit 1,4%), contre seulement 2 variants parmi 549 sujets contrôles (soit 0,4%) (p-value=0.11). Une autre étude cas-témoins étudiant l'agénésie du corps calleux retrouve 1 duplication du gène *NGLN2* chez 255 patients (soit 0,4%), sans qu'aucune anomalie ne soit présente parmi 2349 contrôles (p-value = 0.098).

4.2.3 *NGLN3* dans les Troubles du Spectre Autistique

Le gène *NGLN3* est situé sur le chromosome X (position Xq13.1).

De 508 articles référencés dans PubMed, 466 articles restent avec les mots-clé "Neurologine 3" et "autism". Parmi ceux-ci, 17 articles parus entre 2003 et 2015 référencent des anomalies du gène *NGLN3* chez des patients. 10 études cas-témoins permettent de mettre en évidence 15 anomalies génétiques du gène *NGLN3* chez 5285 patients présentant un TSA (soit 0,3%), contre 2 anomalies du gène chez 7140 sujets contrôles (soit 0,03%) (p-value=0.0002).

6 articles ne recensent que des patients avec TSA, elles décrivent 34 anomalies chez 509 patients (soit 6,7%).

Aucune cohorte d'individus contrôles ne retrouve d'anomalie de *NGLN3* chez les sujets sains.

Les anomalies de *NGLN3* chez les patients avec TSA sont décrites dans les figures 4.21 et 4.22, il s'agit de :

- 44 SNP dont 32 sont prédits comme délétères, 12 sont considérés comme bénins (dont 7 rs) ;
- 3 délétions survenues chez 2 garçons et 1 fille avec autisme ;
- 2 duplications survenues chez 2 garçons avec TSA.

Au plan clinique, certains patients avec une anomalie de *NGLN3* présentent une déficience intellectuelle sévère associée au TSA, un autre présente des troubles des apprentissages.

Un autre article vise à comparer les anomalies génétiques dans des cohortes de patients avec TSA, de patients atteints de schizophrénie et de sujets contrôles [116]. Parmi 147

<i>NLGN3</i>	Études cas-témoins		Cohortes de patients	Autres pathologies		
	Patients	Contrôles	Patients avec TSA	Patients	Patients	Contrôles
Nb de publications	10		6	1		
Nb d'individus	5285	7140	509	147	273	287
Nb d'anomalies	15	2	34	24	31	10
Fréquence	0,3%	0,03%	6,7%	16,3%	11,4%	3,5%
Fisher's exact test (p-value)	0.0002 *		-	0.001 *		
Type de mutations						
SNP	11	0	33	24	31	10
mut. troncante	-	-	-	-	1	-
Mut. délétère	3	-	29	24	30	10
Mut. bénigne	8 (6 rs)	-	4 (2 rs)	-	-	-
CNV	4	2	1	0	0	0
del (total/M/F)	2/2/0/exonic	-	1/0/1	-	-	-
dup (total/M/F/ intronic)	2/2/0/exonic	2/nc/nc/exonic	-	-	-	-
Diagnostic	TSA	contrôles	TSA	TSA	Schizophrénie	
QI	DI sévère	-		DI sévère	-	-
Autres	troubles des apprentissages	-		-	-	-

FIGURE 4.21: Anomalies génétiques de *NLGN3* et données cliniques issues de la littérature

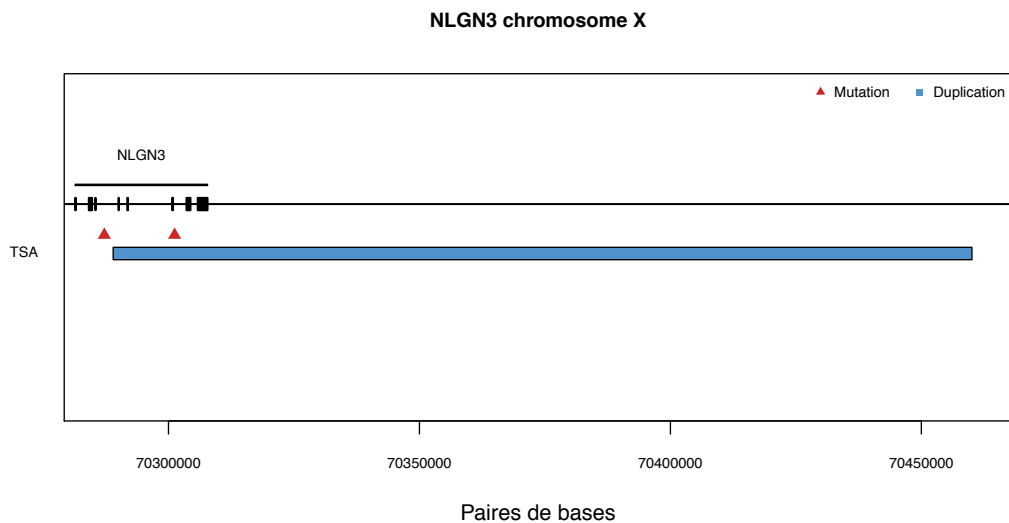


FIGURE 4.22: Anomalies génétiques de *NLGN3* dans la littérature (Seules les anomalies dont les coordonnées précises sont disponibles dans les articles sont représentées)

patients, 24 SNP sont dépistées, contre 31 SNP parmi 273 patients atteints de schizophrénie (1 mutation stop et 30 variants). Chez les 287 contrôles, 10 SNP sont retrouvés. Les fréquences des anomalies de *NGLN3* dans cette étude sont respectivement de 16,3%, 11,4% et 3,5% (p-value=0.001).

4.2.4 *NGLN4X* dans les Troubles du Spectre Autistique

Le gène *NGLN4X* est situé sur le chromosome X (position Xp22.32-p22.31).

De 194 articles référencés dans PubMed, 144 articles restent avec les mots-clé "Neurologine 3" et "autism". Parmi ceux-ci, 30 articles parus entre 1999 et 2014 référencent des anomalies du gène *NGLN4X* chez des patients. 10 études cas-témoins permettent de mettre en évidence 17 anomalies génétiques du gène *NGLN4X* chez 2483 patients présentant un TSA (soit 0,7%), contre aucune anomalie du gène chez 4091 sujets contrôles (p-value=6.7e-08).

15 articles ne recensent que des patients avec TSA, elles décrivent 71 anomalies chez 1676 patients (soit 4,2%).

Aucune cohorte d'individus contrôles ne retrouve d'anomalie de *NGLN4X* chez les sujets sains.

Les anomalies de *NGLN4X* chez les patients avec TSA sont décrites dans les figures 4.23 et 4.24, il s'agit de :

- 67 SNP dont 3 sont des mutations stop, 51 sont prédits comme délétères, 23 sont considérés comme bénins (dont 9 rs) ;
- 9 délétions survenues chez 5 garçons et 4 filles avec autisme ;
- 2 duplications survenues chez 1 garçon et 1 fille avec TSA.

Au plan clinique, certains patients avec une anomalie de *NGLN4X* présentent une déficience intellectuelle modérée à sévère associée au TSA, une macrocéphalie, une dysmorphie faciale non spécifique, une agénésie du bulbe olfactif dans un cas et une cyphose dans un autre.

Sept autres articles visent à dépister les anomalies génétiques dans des cohortes de patients avec déficience intellectuelle. Parmi 5173 patients avec déficience intellectuelle, 26 anomalies de *NGLN4X* sont dépistées, dont :

- 16 SNP, dont 12 mutations stop et 4 SNP déjà connus (rs)
- 10 CNV dont 6 délétions et 4 duplications. La fréquence des anomalies de *NGLN4X* chez les patients présentant une déficience intellectuelle est de 0,5%, contre 2,1% chez

NLGN4X	Études cas-témoins		Cohortes de patients	Autres pathologies			
	Patients	Contrôles		Patients avec TSA	Patients	Patients	Patients
Nb de publications	10		15	7	1	1	1
Nb d'individus	2483	4091	1676	5173	25	1	1
Nb d'anomalies	17	0	71	26	5	1	1
Fréquence	0,7%	0	4,2%	0,5%	25%	-	-
Fisher's exact test (p-value)	6.7e-08 *		-	-	-	-	-
Type de mutations							
SNP	15	0	62	16	0	0	0
mut. troncante	3	-	-	12	-	-	-
Mut. délétère	5	-	46	-	-	-	-
Mut. bénigne	7 (3 rs)	-	16 (9 rs)	4 (4rs)	-	-	-
CNV	2	0	9	10	5	1	1
del (total/M/F)	2/1/01	-	7/4/3	6/5/01	5/5/0	1/1/0	1/1/0
dup (total/M/F/intronic)	-	-	2/1/01	4/2/02	-	-	-
Diagnostic	ASD	contrôles	ASD	DI	Déficience en stéroïde sulfatase	Ichtyose sévère	Chondrodysplasie
QI	DI modérée et sévère	-	DI sévère	DI	-	-	-
Autres	macrocéphalie, cyphose thoracique	-	macrocéphalie, dysmorphie, hypoplasie du bulbe olfactif	dysmorphie, hydrocéphalie, ichtyose cutanée, Sd de Kallman	TSA chez 5 patients	-	-

FIGURE 4.23: Anomalies génétiques de *NGLN4X* et données cliniques issues de la littérature

NLGN4X chromosome X

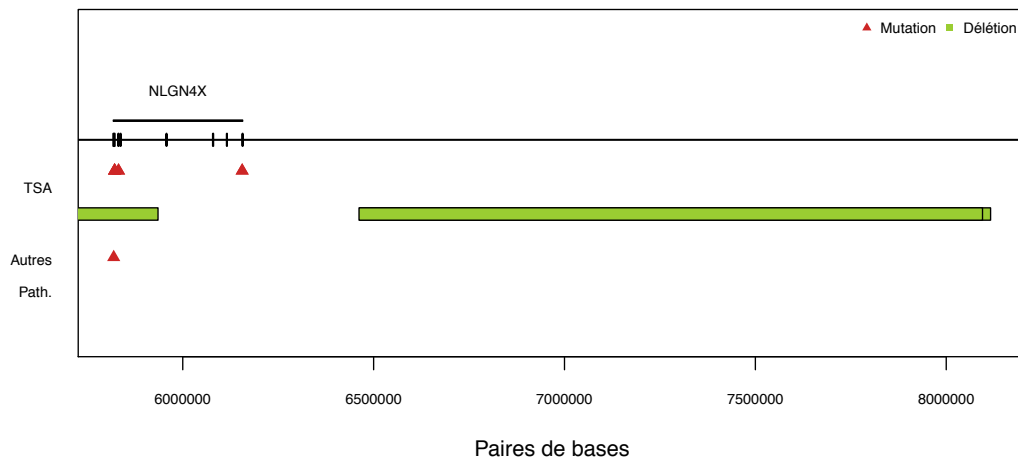


FIGURE 4.24: Anomalies génétiques de *NGLN4X* dans la littérature (Seules les anomalies dont les coordonnées précises sont disponibles dans les articles sont représentées)

les patients avec TSA. Sur le plan clinique, les patients présentant une déficience intellectuelle montrent une dysmorphie non spécifique, une hydrocéphalie, une ichtyose cutanée, ainsi qu'un syndrome de Kallmann.

Ensuite, 1 article étudiant des anomalies génétiques de *NGLN4X* dans une cohorte de 25 patients présentant un déficit en stéroïde sulfatase montre 5 délétions de *NGLN4X* chez des garçons indépendants. Deux rapports de cas d'un premier patient avec ichtyose sévère et d'un autre atteint de chondrodysplasie retrouve une délétion du gène *NGLN4X*.

4.2.5 *NGLN4Y* dans les Troubles du Spectre Autistique

Le gène *NGLN4Y* est situé sur le chromosome Y (position Yq11.221).

De 67 articles référencés dans PubMed, 37 articles restent avec les mots-clé "Neurologine 3" et "autism". Parmi ceux-ci, 9 articles parus entre 2005 et 2015 référencent des anomalies du gène *NGLN4Y* chez des patients.

Seules 8 publications concernant l'étude du gène *NGLN4Y* dans les pathologies psychiatriques sont référencées. Trois études sont des études cas-témoins. Un total de 1191 patients avec TSA et 5173 individus contrôles ont été analysés. Aucune anomalie de *NGLN4Y* n'a été trouvée chez les contrôles. Parmi les patients, 3 mutations rares ont été considérées comme responsables des symptômes autistiques (p-value=0.002) :

- une mutation non-synonyme entraînant une modification de la protéine NLGN4Y (I679V) (Isoleucine en Valine) ; cette modification protéique survient dans le domaine au niveau du domaine hélicoïdal transmembranaire ; cette mutation est partagée par le patient présentant un TSA et son père qui présentait quant à lui des troubles des apprentissages ;
- un variant structural rare : une délétion du chromosome Y n'emportant que le gène *NGLN4Y* (del chrY : 15135574-15474858) chez un patient atteint de TSA ;
- un variant associé aux TSA de façon statistiquement significative : rs13447354-A. Ces anomalies représentent une fréquence de 0.25% dans ces études.

Ensuite, une étude a mis en évidence 9 haplotypes du chromosome Y associés statistiquement aux TSA, dont 7 étaient vraiment surreprésentés chez les patients avec TSA (Tests Monte Carlo à l'aide du logiciel Clump, p=0,0001 sur 100 000 simulations) [117]. Cette étude amène les auteurs à suggérer un effet du chromosome Y dans l'autisme.

Enfin, 3 études ont cherché à analyser la fréquence des TSA de patients présentant des anomalies de nombre des chromosomes sexuels. Les patients présentent le caryotype suivant :

- 58 filles XXX,

<i>NLGN4Y</i>	Études cas-témoins		Cohortes de patients	Autres pathologies		
Nb de publications	4		1	2		1
	Patients	Contrôles	Patients avec TSA	Patients		Patients Contrôles
Nb d'individus	1425	5276	933	58XXX, 121XXY, 98XYY, 32XXYY		26 patients XYY 11 (XY)
Nb d'anomalies	4	0	1	25 diagnostics de TSA		
Fréquence	0,3%	0	0,1%			
Fisher's exact test (p-value)	0,002 *			cf texte		0,026 *
Type de mutations						
SNP	3		0			
mut. troncante	1		-			
Mut. délétère	1		-			
Mut. bénigne	1 (1 rs)		-			
CNV	1		1			
del (total/M/F)	1/1/0		-			
dup (total/M/F/intronic)	-		1 (47, XYY)	XYY : surexpression de <i>NLGN4Y</i> (p inf 0,001)		
Diagnostic	TSA	contrôles	TSA	Anomalies nombre chromosomes sexuels		XYY -
QI	DI modérée	-	-	QI plus faible chez les XXYY que les XYY		- -
Autres	-		-	2/121 (1,7%) TSA chez les XXY, 31/98 (31,6%) TSA chez les 98 XYY, 12/32 (37,5%) TSA chez les XXYY		TSA : majoration significative chez les XYY -

FIGURE 4.25: Anomalies génétiques de *NGLN4Y* et données cliniques issues de la littérature

- 121 garçons XXY,
- 98 garçons XYY,
- 32 garçons XXYY.

Parmi ces patients, aucune fille XXX ne présente de diagnostic de TSA. 2 garçons sur 121 XXY montrent un TSA (1,7%) (comparaison XXX vs XXY, p-value=1), 31 individus sur 98 XYY (31,6%) (comparaison XXX vs XYY, p-value=3.30e-06) et 12 patients sur 32 XXYY (37,5%) (comparaison XXX vs XXYY, p-value = 1.56e-05). De plus, 1 article étudiant 26 patients de caryotype XYY montre une majoration significative du diagnostic d'autisme (p-value=0,026) et une sur-expression du gène *NGLN4Y* (p-value inférieure à 0,001). Les figures 4.25 et 4.26 résume les anomalies de *NGLN4Y* dans la littérature.

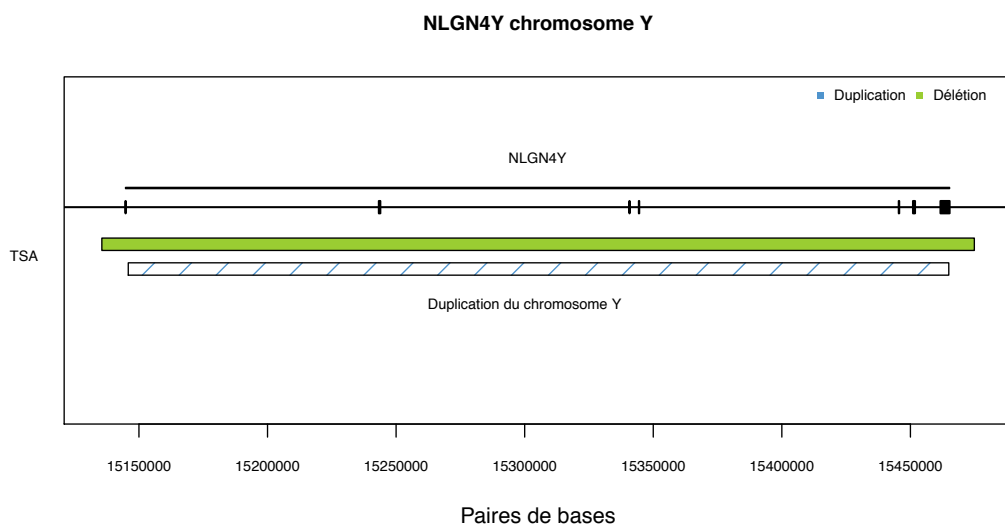


FIGURE 4.26: Anomalies génétiques de *NLGN4Y* dans la littérature (Seules les anomalies dont les coordonnées précises sont disponibles dans les articles sont représentées, le rectangle rayé fait référence aux anomalies de nombre des chromosomes sexuels dans certaines études)

4.3 Identification de CNV impliquant *NLGN4*

4.3.1 CNV impliquant *NLGN4*

4.3.1.1 Dans les familles MPX

Les articles précédemment exposés montrent les CNV pathogènes du gène *NLGN4X* au sein de populations de patients avec TSA et avec déficience intellectuelle. Dans les familles MPX, une mutation héritée de *NLGN4X* est présente dans la famille MPX1 (figure 4.4).

Concernant son homologue *NLGN4Y*, deux familles multiplexes incluses dans la cohorte PARIS présentent un CNV pathogène impliquant ce gène. Les arbres généalogiques de ces 2 familles sont représentés en figure 4.27.

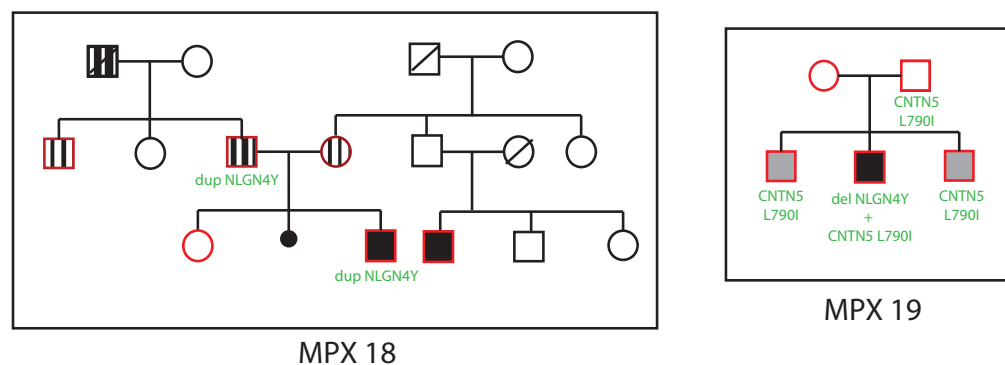


FIGURE 4.27: Arbres généalogiques des familles MPX présentant un CNV de *NLGN4Y*

La première famille (MPX19) présente une délétion incluant *NLGN4Y* survenue *de novo* chez un patient avec TSA (patient 1). Une mutation délétère entraînant un changement d'acide aminé de la protéine CNTN5 (L790I) a été mise en évidence chez le père sain et transmise aux 3 enfants présentant un TSA. Le patient 1 est cliniquement le plus sévèrement atteint, il présente au plan génétique une délétion additionnelle survenue sur le chromosome Y, d'une taille de 600 kb (chrY : 14700000-15300000, hg18) et tronquant les 2 premiers exons du gène *NLGN4Y* (Figure 4.28).

La seconde famille (MPX18) montre une duplication du chromosome Y, d'une taille de 727 kb (chrY : 16,500,316–17,227,396, hg18), dont les bornes interrompent le gène *NLGN4Y* entre l'exon 3 et l'exon 4. Ce CNV pathogène est présent chez le patient 5 qui présente un TSA, et est hérité du père (patient 6) (Figure 4.29).

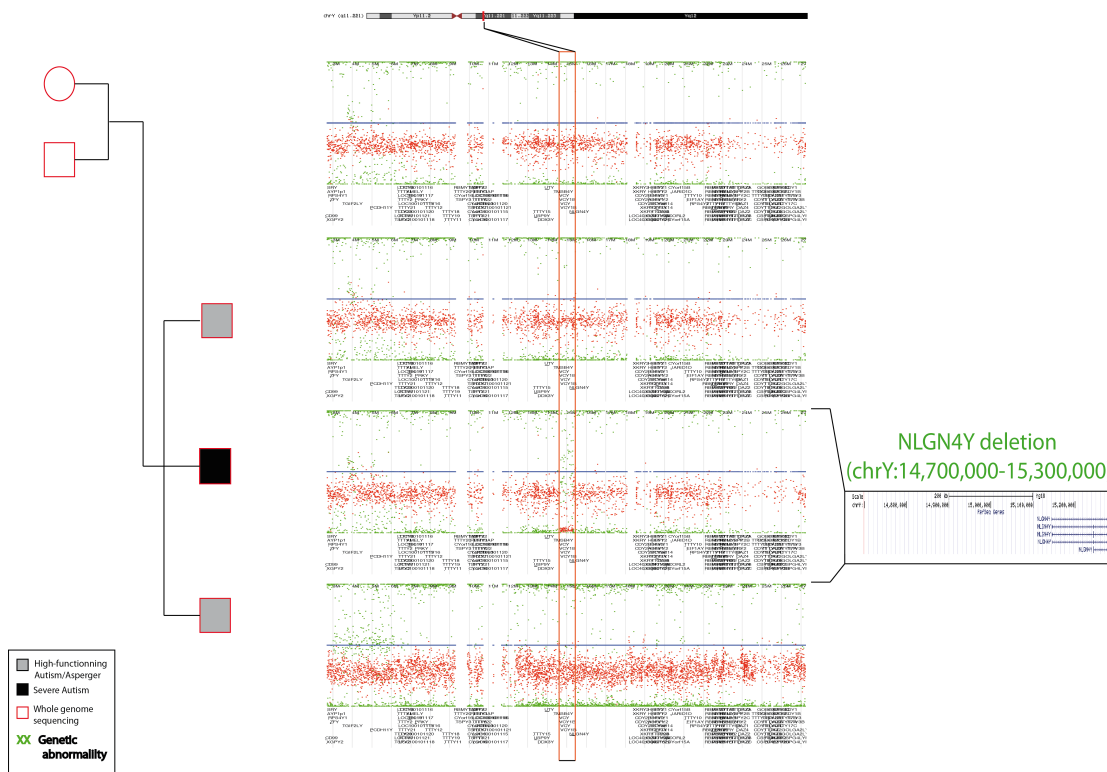


FIGURE 4.28: Délétion de *NLGN4Y* détectée par SNP-array (Visualiseur : Snippeep) (Chaque image correspond à un individu dont le pedigree est indiqué à gauche. L'image du navigateur UCSC à droite montre les coordonnées de la délétion d'une partie du gène, également indiquée par un rectangle rouge. La délétion est survenue *de novo* chez le patient 1.)

En utilisant le logiciel Cartagenia [118] utilisé pour l'aide au diagnostic génétique, aucun autre CNV pathogène pouvant expliquer les différences phénotypiques n'est mis en évidence chez le père ou son fils atteint. Pour aller plus loin dans l'analyse du fond génétique de cette famille, une analyse du génome complet est prévu dans le laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives du Pr Bourgeron à l'Institut Pasteur.

4.3.1.2 Dans la cohorte PARIS

Aucun des 212 patients avec TSA ne présentait précédemment de CNV pathogène détecté par puce à ADN (Illumina 1M arrays). Pour tester ces 212 individus et pour chaque patient, 2 ddPCR indépendantes sont effectuées, soit 430 ddPCR pour 212 patients.

Parmi ces 212 garçons atteints de TSA, et en plus des 3 patients 1, 5 et 6 précédemment cités, 5 petits CNV exoniques (2.4%) des gènes *NLGN4* sont détectés, 3 microdélétions et 2 microduplications.

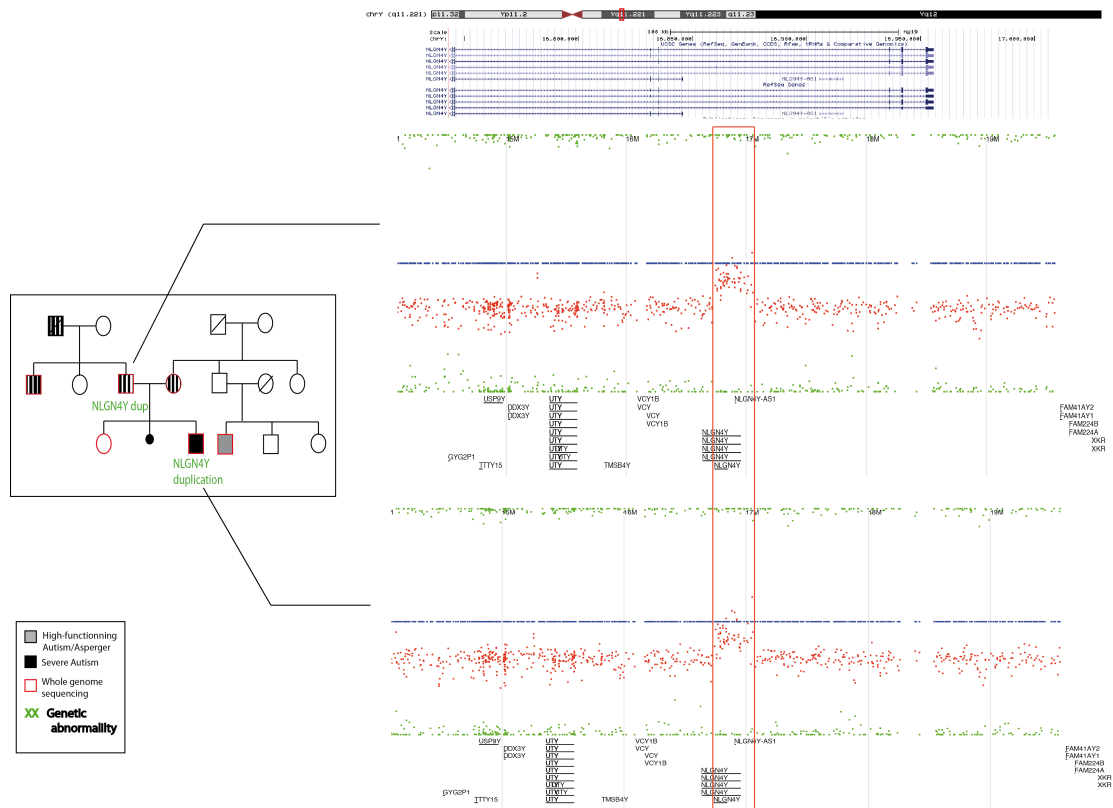


FIGURE 4.29: Duplication interrompant *NLGN4Y* détectée par SNP-array (Visualiseur : Snippeep). (Chaque image correspond à un individu dont le pedigree est indiqué à gauche. L'image du navigateur UCSC en haut montre les coordonnées de la duplication d'une partie du gène, également indiquée par un rectangle rouge. La duplication est présente chez les patients 5 et 6 (père et fils) et absente chez la mère et la fille (pas de chromosome Y).)

Pour essayer de mieux comprendre la différence de résultats obtenus entre les SNP-arrays et ceux de la ddPCR, les résultats des puces à ADN sont repris pour les 5 patients présentant un petit CNV. Le visualisateur Snippeep montre une insuffisance de couverture des puces à ADN au niveau du gène *NLGN4Y*, tandis que le gène *NLGN4X* était bien couvert et ne montre pas de CNV. Les figures 4.30 et 4.31 montrent un exemple de visualisation.

Au total, aucune autre anomalie génétique délétère n'a été mise en évidence chez les patients testés en dehors du patient 1 qui présente une mutation délétère du gène *CNTN5*. Parmi ces 8 patients, 4 (patients 1 à 4) sont porteurs d'une délétion de *NLGN4*, soit 1,9% de la cohorte testée. Aucun patient n'est apparenté aux autres. La prévalence des duplications de ce gène dans la population testée est, comme pour les délétions, de 1,9%.

First case : CNV = 1

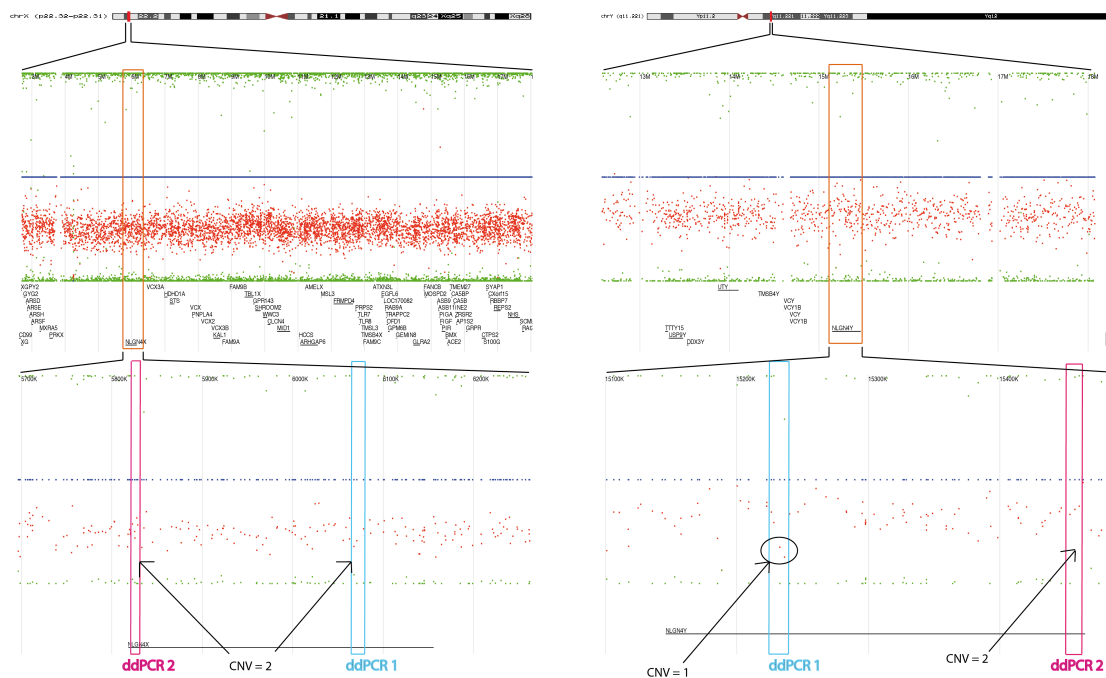


FIGURE 4.30: Visualisation de la puce à ADN (SNP array) de la région délétée détectée en ddPCR. (Visualisateur Snepeep) (L'image de gauche correspond à *NLGN4X* et ne montre pas de CNV, celle de droite *NLGN4Y*. Le zoom permet d'apprécier la faible couverture de gène *NLGN4Y*.)

4.3.2 Données cliniques des patients porteurs d'un CNV impliquant *NLGN4*

Au total, 5 individus parmi des 212 garçons atteints de TSA de la cohorte PARIS présentent un CNV du gène *NLGN4*. 3 patients présentent des anomalies déjà connues de *NLGN4Y*. Les données cliniques qui suivent sont regroupées selon que le patient présente une délétion ou une duplication.

Sur le plan clinique, 8 patients sont réanalysés. 7 patients avec une anomalie de *NLGN4* sont atteints de TSA. Le huitième individu est le père d'un patient (patient 6) dont le phénotype est détaillé plus bas et qui transmet sa duplication à son fils.

Concernant les patients présentant une délétion, le patient 1 issu de la famille MPX19 est âgé de 23 ans lors de l'inclusion. Il présente un diagnostic d'autiste sévère avec une déficience intellectuelle modérée. Il a montré un développement langagier précoce avant un tableau de régression langagière et comportementale à l'âge de 2 ans 7 mois.

Aucune anomalie morphologique ou comorbidité psychiatrique ou somatique n'est décrite chez ce patient. L'IRM cérébrale est également normale. Ses 2 frères âgés de 24 et 19 ans au moment de l'étude présentent un syndrome d'Asperger avec un QI normal. Il n'existe

Second case : CNV = 3

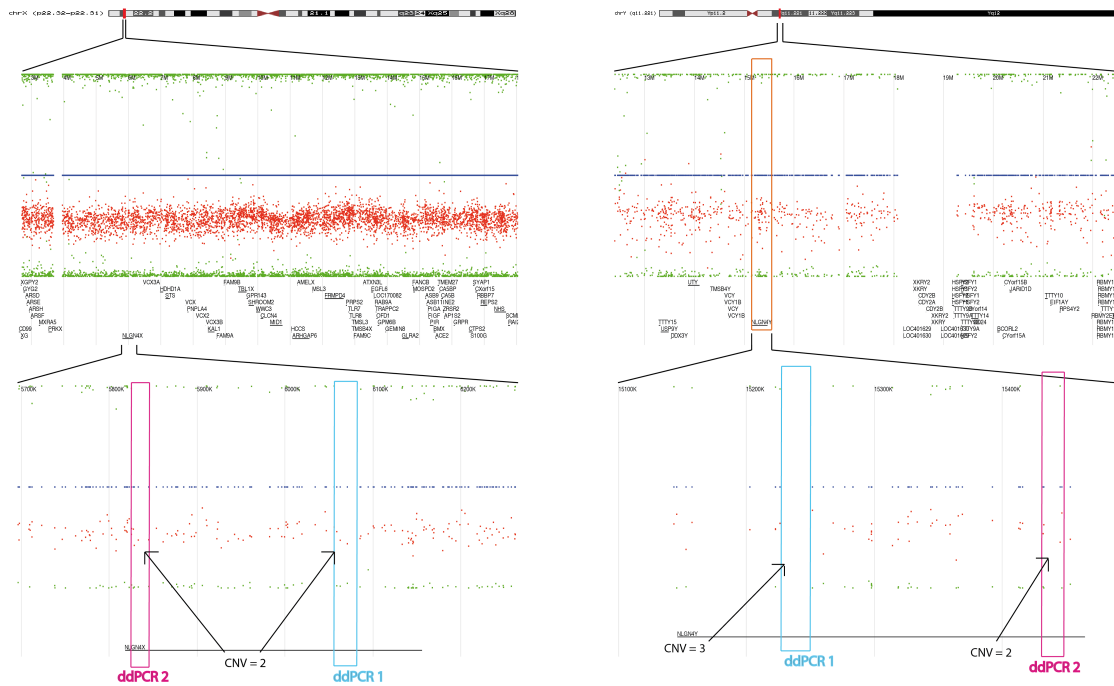


FIGURE 4.31: Visualisation de la puce à ADN (SNP array) de la région dupliquée détectée en ddPCR. (Visualisateur Snpbeep) (L'image de gauche correspond à *NLGN4X* et ne montre pas de CNV, celle de droite *NLGN4Y*). Le zoom permet d'apprécier la faible couverture de gène *NLGN4Y*.)

pas chez eux d'élément dysmorphique, ni de comorbidité. L'imagerie cérébrale est ici aussi sans particularité. Les figures 4.35 et 4.33 représentent les principales données cliniques du patient 1 et de sa fratrie.

Le diagnostic est posé par l'ADI-R dont les scores sont sévères :

- Sous-score d'interactions sociales : moyenne = 18,7 (écart-type : 15-25) pour un seuil à 10 ;
- Sous-score de communication verbale : moyenne = 16,3 (écart-type : 12-21) pour un seuil à 8 ;
- Sous-score de communication non-verbale : moyenne = 8,3 (écart-type : 2-14) pour un seuil à 7 ;
- Sous-score d'intérêts restreints et comportements stéréotypés : moyenne = 7 (écart-type : 6-8) pour un seuil à 3.

Les premiers symptômes sont apparus dans deux cas avant 18 mois. Les scores de CARS côtent pour chaque patient.

Sur le plan du langage, tous les patients présentent un retard de langage modéré à sévère avec un patient avec une régression langagière observée et un patient ne produisant que quelques mots. Sur le plan de l'efficience intellectuelle, 3 patients présentent une déficience

FAMILLE						FAMILLE					
MPX19						MPX19					
Probant	Père	Mère	Frère	Frère		Probant	Père	Mère	Frère	Frère	
GÉNÉTIQUE						QI					
Gène	<i>NLGN4Y + CNTN5</i>	<i>CNTN5</i>	No	<i>CNTN5</i>	<i>CNTN5</i>	Échelles	Vineland	-	-	WISC-R	WPPSI
Mutation	Del (chrY : 14,700,000-15,300,000) + L790I	L790I	No	L790I	L790I	Scores QI complet	DI modérée	-	-	QI normal	QI normal
Transmission	<i>De novo</i>			hérité	hérité						
SEXE						HISTOIRE MÉDICALE					
Année naissance	1991			1990	1995	Grossesse et accouchement					
						Terme	normal	-	-	normal	normal
DIAGNOSTIC	TSA	-	-	Asperger	Asperger	Déroulement grossesse	normal	-	-	normal	normal
ADI-R						DvIpt					
Âge lors de l'évaluation (années)	8	-	-	6	5	Marche (m)	normal	-	-	normal	-
Âge des premiers symptômes	-	-	-	-	-	Premiers mots (m)	développement langage précoce; régression à 2,7 ans; particularités langagière (mots <12, phrases <24)	-	-	développement langage précoce; parle fréquemment (mots <12, phrases <24)	développement langage précoce (mots <24, phrases <36)
Domaine social (cut-off 10)	25	-	-	23	18	Première phrase (m)	-	-	-	-	-
Domaine communication : verbale (cut-off 8) & non verbale (cut-off 7)	21/14	-	-	12/8	11/9	Principales comorbidités somatiques	asthme, otites, fracture du tibia	-	-	-	asthme, eczéma
Comportements répétitifs (cut-off 3)	8	-	-	3	5	Principales comorbidités psychiatriques	-	-	-	-	-
ADOS Domaine communication (cut-off 5)	-	-	-	-	-						
Domaine interaction sociale (cut-off 6)	-	-	-	-	-	EXAMEN CLINIQUE					
Total	-	-	-	-	-	Dysmorphie	-	-	-	-	-
Intérêt et comportements	-	-	-	-	-	Examen neurologique	-	-	-	-	-
CARS	35	-	-	26	-	Examen ENT					
DSM IV-TR & DSM-5 criteria	oui	-	-	oui	oui	TDM/IRM	normal	-	-	normal	normal
AUTRES DIAGNOSTIQUES						Tests d'acuité auditive	-	-	-	-	-
SRS-score total	-	-	-	-	-	PEA	-	-	-	-	-
score RBS	-	-	-	-	-	HISTOIRE FAMILIALE					
PPT	-	-	-	-	-	Âge du père à la naissance	-	-	-	-	-
ADHD-RS	-	-	-	-	-	Âge de la mère à la naissance	-	-	-	-	-

FIGURE 4.32: Caractéristiques cliniques de la famille MPX19

intellectuelle légère à modérée; le dernier patient présentant un QI à 70 (limite normale basse).

Chez ces patients, aucune anomalie du développement moteur n'est relevée. Il n'existe pas de comorbidité psychiatrique ou somatique chez ces patients. L'examen morphologique et neurologique ne met pas en évidence d'anomalie; de même que les examens paracliniques réalisés (examens auditif et visuel, EEG, imagerie cérébrale, bilan biologique et analyse des acides aminés). La figure 4.34 résume les données cliniques des patients 1,2 et 3 (les données cliniques du patient 4 étant très fortement lacunaires).

Ensuite, concernant les patients présentant une duplication du gène *NLGN4Y*, le patient 5 issu de la famille MPX18 est âgé de 25 ans au moment de l'inclusion. Il présente un diagnostic d'autiste sévère avec absence totale de langage oral sans tableau de régression développementale. Il est uniquement capable de répondre par oui ou par non à certaines

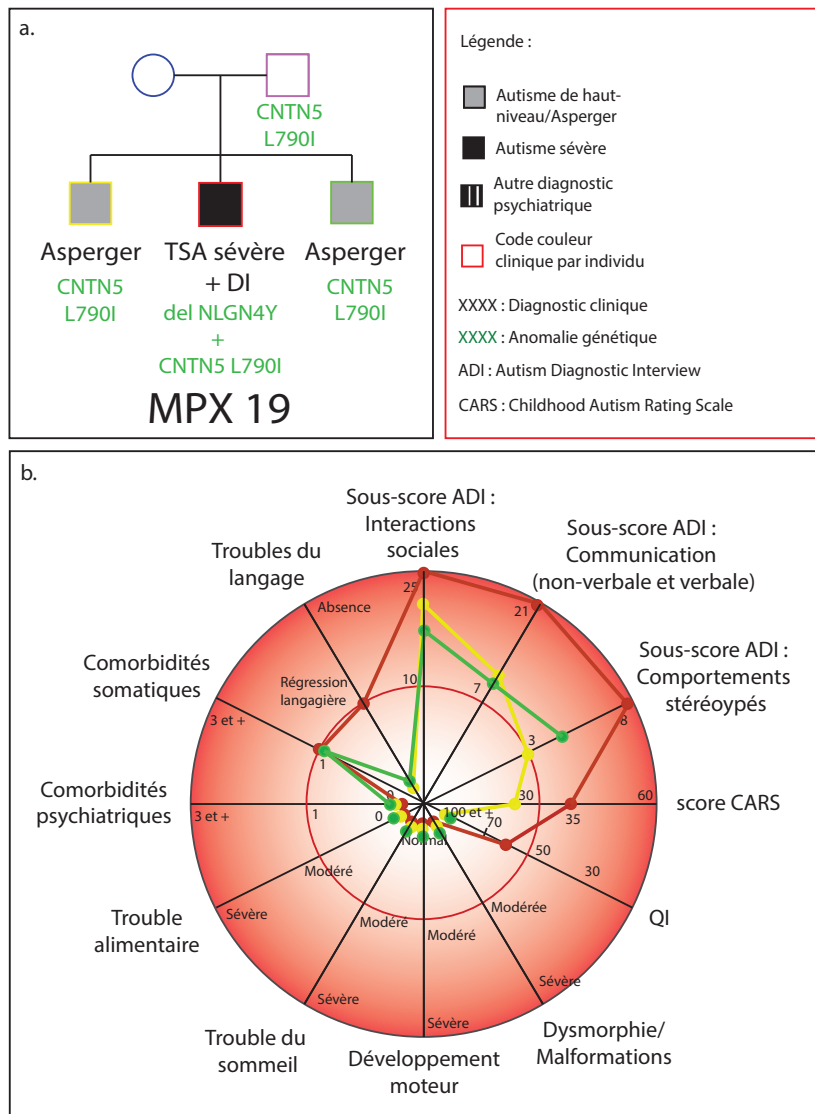


FIGURE 4.33: Représentation schématique des données cliniques du patient 1 et de ses apparentés, a. Arbre généalogique, b. Représentation des signes cliniques principaux du patient 1 (en rouge), et de ses deux frères (en jaune et vert) (Les symptômes sont d’autant plus sévères qu’ils sont placés en périphérie, au centre sont situés les caractéristiques sans anomalie, le cercle rouge représente la limite entre normal et pathologique.)

questions, mais ne présente néanmoins pas de déficience intellectuelle (QI = 79, Raven). Il existe une hypersensibilité auditive.

Les tests diagnostiques réalisés à l’inclusion montrent pour l’ADI-R :

- Sous-score d’interactions sociales : 43 pour un seuil à 10 ;
- Sous-score de communication non-verbale : 17 pour un seuil à 7 ;
- Sous-score d’intérêts restreints et comportements stéréotypés : 9 pour un seuil à 3.

Les premiers symptômes semblent être apparus à un mois de vie.

Pour l’ADOS, les scores sont les suivants :

- Sous-score d'interactions sociales : 7 pour un seuil à 6 (seuil à 4 pour les TSA) ;
- Sous-score de communication : 6 pour un seuil à 5 (seuil à 2 pour les TSA) ;
- Sous-score de interactions sociales + communication : 13 pour un seuil à 12 pour l'autisme (seuil à 7 pour les TSA).

L'échelle de réciprocité sociale (Social Responsiveness Scale SRS [119]) montre là encore un trouble sévère avec un score à 136. L'échelle d'évaluation des comportements répétitifs (Repetitiv Behavior Scale, RBS [120]) cote à 36 (minimum à 1 et maximum à 100).

Il présente des comorbidités psychiatriques à type de troubles anxieux et des comportements auto-agressif répétés. Sur le plan des comorbidités somatiques, il présente une maladie de Scheuermann non familiale qui lui confère une déformation prononcée de la colonne vertébrale en cyphose. L'examen neurologique montre un élargissement du polygone de marche sans réel syndrome cérébelleux.

L'examen morphologique montre une dysmorphie faciale mineure avec un prognatisme discret, des lèvres fines, un nez en boule. Des taches hyperpigmentées sont visibles au niveau du dos. Il n'existe pas d'anomalie palmo-plantaire. En revanche, une atrophie musculaire du membre inférieur gauche est observée (Figure 4.36, c.). L'âge du père et de la mère à la naissance étaient respectivement de 36 et 34 ans.

Le père qui a transmis sa duplication du chromosome Y à son fils ne présente pas de TSA. Néanmoins, il présente une symptomatologie compatible avec un diagnostic de phobie sociale évoluant depuis l'enfance, il existe chez cet individu une addiction à l'alcool associée. Son efficacité intellectuelle est mesurée à plus de 130. L'examen neurologique montre une certaine dysmétrie, sans pouvoir préciser l'ancienneté de celle-ci, son caractère inné ou acquis.

Pour le patient 6, l'échelle de réciprocité sociale (SRS) est à 21 et l'échelle d'évaluation des comportements répétitifs à 1.

Les 2 autres patients (patient 7 et 8) présentant un CNV de *NLGN4* ne sont pas apparentés.

Le diagnostic est posé par l'ADI-R dont les scores sont plus sévères que dans les cas de délétions :

- Sous-score d'interactions sociales :
moyenne = 21.5 (écart-type : 18-25) pour un seuil à 10 ;
- Sous-score de communication verbale :
13 pour un seuil à 8 (le patient 7 étant non verbal) ;
- Sous-score de communication non-verbale :

moyenne = 10,5 (écart-type : 8-13) pour un seuil à 7 ;

- Sous-score d'intérêts restreints et comportements stéréotypés :

moyenne = 5 (écart-type : 4-6) pour un seuil à 3.

Les premiers symptômes sont apparus dans deux cas avant 18 mois. Les scores de CARS côtent à 49 pour le patient 7.

Sur le plan du langage, les patients présentent un retard de langage sévère avec quelques mots pour le patient 8 et une absence totale de langage pour le patient 7, sans tableau de régression langagière. Les 2 patients présentent une déficience intellectuelle (QI=47 pour le patient 7 et QI=67 pour le patient 8).

Chez ces patients, aucune anomalie du développement moteur n'est relevée. Il n'existe pas de comorbidité psychiatrique ou somatique. L'examen morphologique et neurologique ne met pas en évidence d'anomalie ; de même que les examens paracliniques réalisés (examens auditif et visuel, EEG, imagerie cérébrale, bilan biologique et analyse des acides aminés). La figure 4.37 résume les données cliniques des patients 5, 7 et 8.

L'ensemble des données cliniques est résumée dans la figure 4.38 et 4.39.

Au total, les patients présentant une délétion ou une duplication incluant le gène *NLGN4* montrent un phénotype clinique similaire avec un autisme sévère avec ou sans déficience intellectuelle associée. Dans tous les cas, il existe un trouble du développement langagier sévère avec plusieurs patients non-verbaux. Aucune comorbidité particulière sur le plan psychiatrique ou somatique n'est mise en évidence. Seul le patient 6 porteur de la même duplication transmise à son fils atteint interrompant le gène *NLGN4Y* présente une phobie sociale et une dépendance à l'alcool.

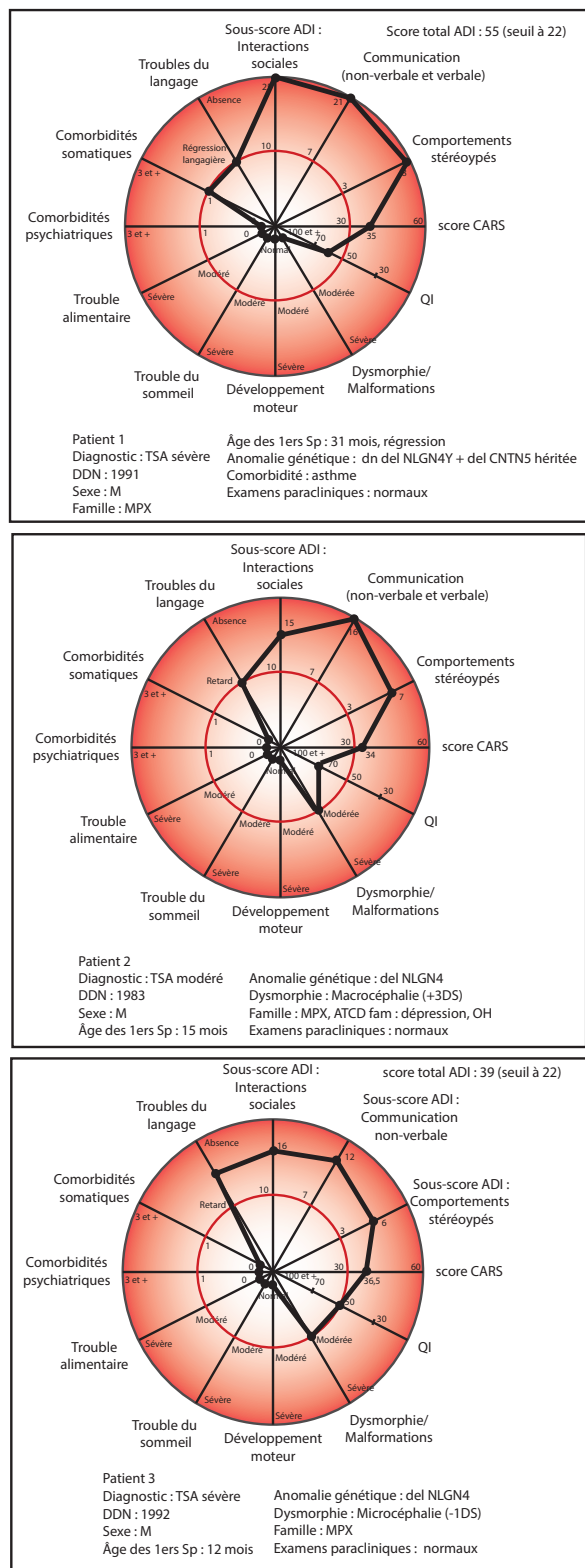


FIGURE 4.34: Comparaison des profils cliniques des patient 1, 2 et 3 présentant une délétion du gène *NLGN4*

FAMILLE	MPX18						FAMILLE						
	Probant	Père	Oncle	Mère	Cousin	Soeur		Probant	Père	Oncle	Mère	Cousin	Soeur
GÉNÉTIQUE							QI						
Gène	NLGN4Y	NLGN4Y	unknown	No	unknown	No	Échelles	RPM	RPM			RPM	
Mutation	Dup (chrY : 16 500 316 – 17 227 396)	Dup (chrY : 16 500 316 – 17 227 396)	unknown	No	unknown	No	Scores QI complet	79	>130			105	>130
Transmission	paternal	unknown	unknown	No	unknown	No							
SEXE	M	M	M	F	M	F	HISTOIRE MÉDICALE						
ÂGE	25	59	63	61	47	30	Grossesse et accouchement						
							Terme	38 SA	normal	-	normal	36 SA	normal
DIAGNOSTIC	ASD	-	-	-	PDD-NOS	-	Déroutement	eutocic	eutocic	-	normal	eutocic	normal
ADI-R							Dvlp						
Âge lors de l'évaluation (années)	25	-		-		-	Marche (m)	normal	normal		normal	-	normal
Âge des premiers symptômes	1	-		-		-	Premiers mots (m)	non verbal	normal		normal	-	normal
Domaine social (cut-off 10)	43	-		-	9	-	Première phrase (m)	non verbal	normal		normal	-	normal
Domaine communication : verbale (cut-off 8) & non verbale (cut-off 7)	-/17	-		-	2/-	-	Principales comorbidités somatiques	Scheuermann	-	-	Hypoacousie	névralgie faciale	-
Comportements répétitifs (cut-off 3)	9	-		-	2	-	Principales comorbidités psychiatriques	-	Phobie sociale, addiction alcool	Phobie sociale, addiction alcool	Trouble bipolaire	addictions multiples	-
ADOS Domaine communication (cut-off 5)	6	-		-	-	-							
Domaine interaction sociale (cut-off 6)	7	-		-	-	-	EXAMEN CLINIQUE						
Total	13	-		-	-	-	Dysmorphie	Lèvres fines, discret prognatisme, nez en boule, taches cutanées hyperpigmentées	no	-	no	hyperthelormie, extrémités courtes, face aplatie	no
Intérêt et comportements	6	-		-	-	-	Examen neurologique	Elargissement polygone de marche	Dysmétrie		normal	normal	normal
CARS	-	-		-	-	-	Examen ENT						
DSM IV-TR & DSM-5 criteria	oui				oui		TDM/IRM	HyperSe bruit	normal		hypoacousie	HyperSe bruit	normal
AUTRES DIAGNOSTIQUES							Tests d'acuité auditive	impossible	-		-	-	-
SRS-score total	136	21	47	10	-	-	PEA	normal	-		-	-	-
score RBS	36	1	-	3	-	-	HISTOIRE FAMILIALE						
PPT	65	-	-	-			Âge du père à la naissance	36				25	29
ADHD-RS	43	-	-	-			Âge de la mère à la naissance	34					31

FIGURE 4.35: Caractéristiques cliniques de la famille MPX19

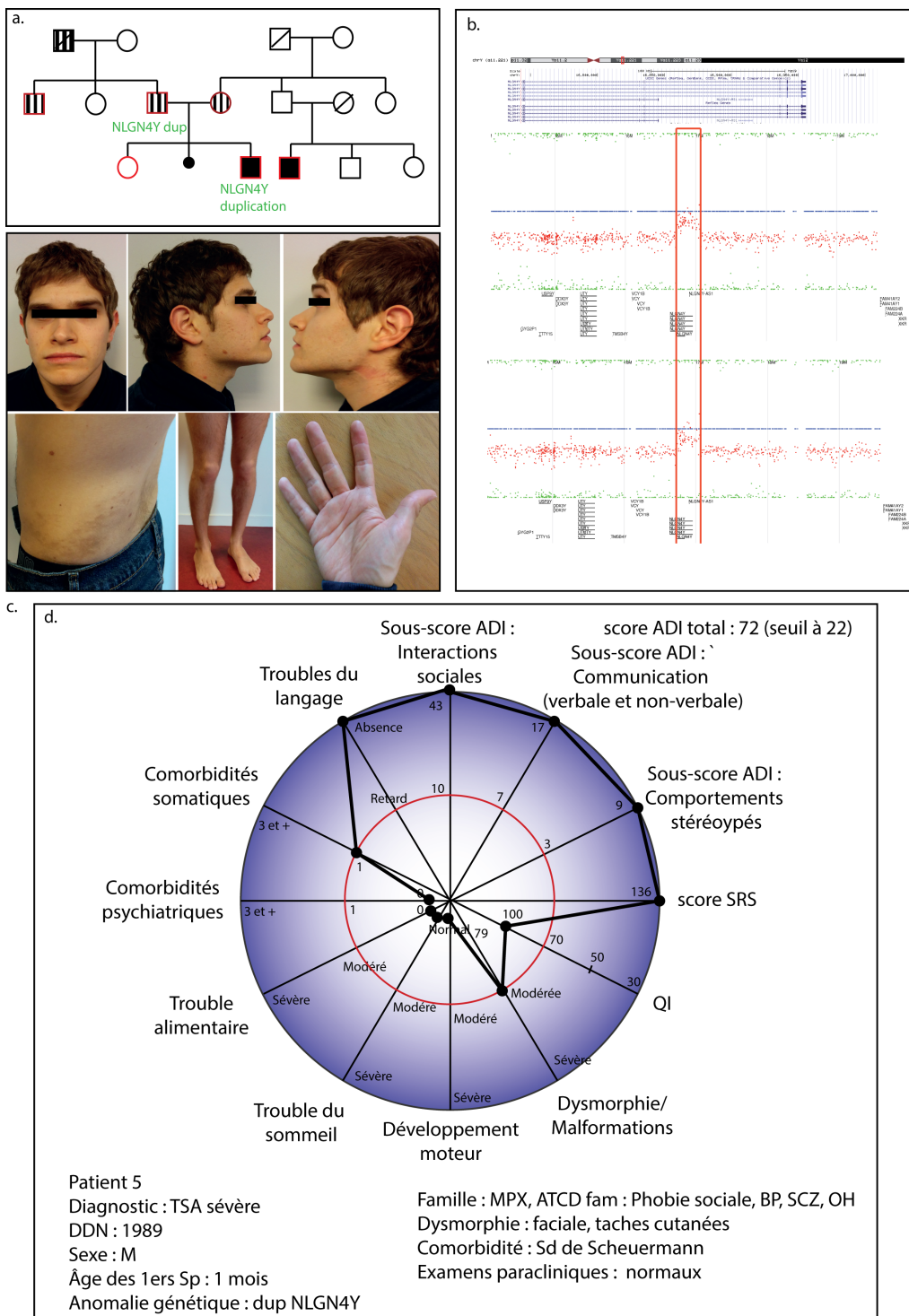


FIGURE 4.36: Données cliniques et génétiques des patients 5 et 6, a. Arbre généalogique, b. Visualisation de la duplication transmise entre père et fils, c. Spécificités morphologiques du patient 5, d. Représentation du phénotype clinique du patient 5

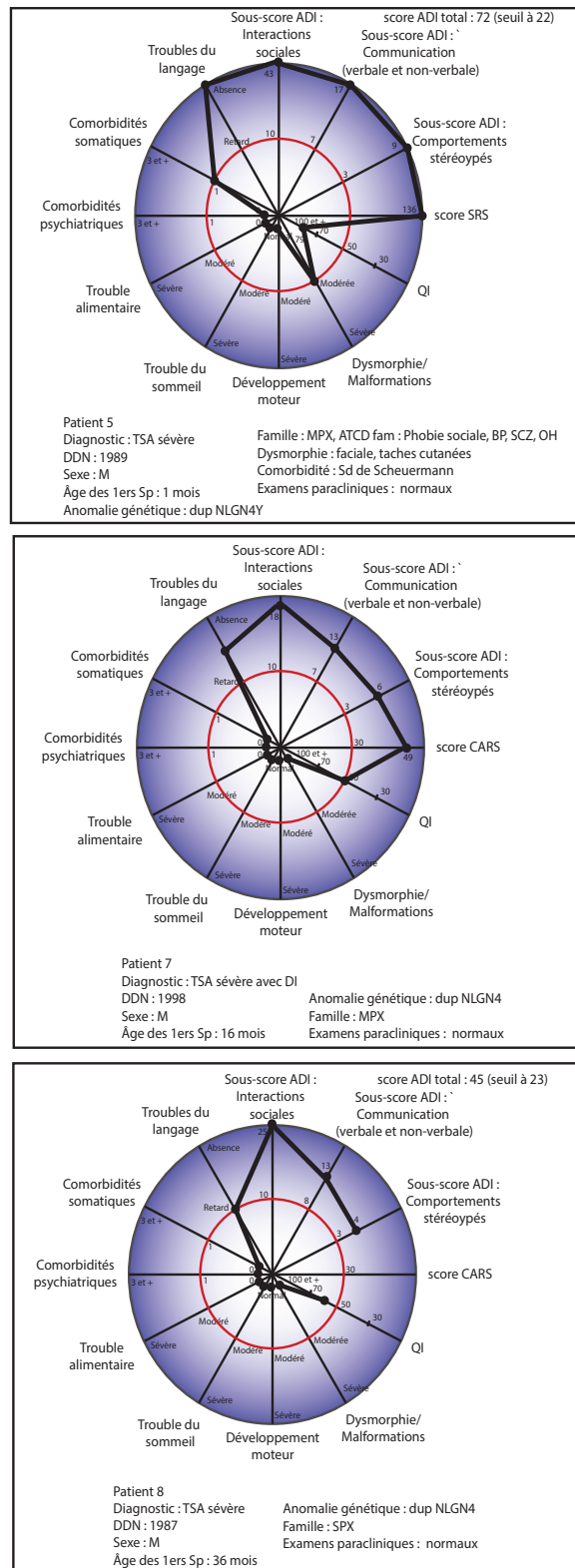


FIGURE 4.37: Comparaison des profils cliniques des patients 5, 7 et 8 présentant une duplication du gène *NLGN4*

Patients	1	2	3	4	5	6	7	8
Sexe	M	M	M	M	M	M	M	M
Lien de parenté	-	-	-	-	Proband	Père	-	-
Année de naissance	1991	1983	1992	1992	1999	1955	1998	1987
Diagnostic	TSA	TSA	TSA	TSA	TSA	Phobie sociale	TSA	TSA
ANOMALIE GÉNÉTIQUE								
Gène	<i>NLGN4Y + CNTN5</i>	<i>NLGN4</i>	<i>NLGN4</i>	<i>NLGN4</i>	<i>NLGN4Y</i>	<i>NLGN4Y</i>	<i>NLGN4</i>	<i>NLGN4</i>
Mutation	Del (chrY : 14,700,000-15,300,000) + L790I	MicroDel (ddPCR)	MicroDel (ddPCR)	MicroDel (ddPCR)	Dup (chrY : 16 500 316 – 17 227 396)	Dup (chrY : 16 500 316 – 17 227 396)	MicroDel (ddPCR)	MicroDel (ddPCR)
Transmission	<i>De novo</i>	inconnue	inconnue	inconnue	paternelle	inconnue	inconnue	inconnue
TESTS DIAGNOSTIQUES	TSA sévère avec DI	TSA	TSA sévère avec DI	TSA avec DI	TSA	-	TSA sévère avec DI	TSA
ADI-R								
Âge à l'évaluation	8	16	4	-	25	-	3	15
Âge des 1ers Sp	-	15	12	-	1	-	16	-
Social (cut-off 10)	25	-	16	-	43	-	18	25
Communication : verbale (cut-off 8) & non verbale (cut-off 7)	21/14	16/9	12/2	-	-/17	-	-/13	13/8
Comportements répétitifs (cut-off 3)	8	7	6	-	9	-	6	4
ADOS								
Communication (cut-off 5)	-	-	-	-	6	-	-	-
Interactions sociales (cut-off 6)	-	-	-	-	7	-	-	-
Total	-	-	-	-	13	-	-	-
Intérêts restreints et comportements stéréotypés	-	-	-	-	6	-	-	-
CARS	35	34	37	-	-	-	49	-
DSM IV-TR & DSM-5 criteria	oui	oui	oui	-	oui	-	oui	oui
COMPLEMENTARY DIAGNOSIS								
SRS-total score	-	-	-	-	136	21	-	-
RBS score	-	-	-	-	36	1	-	-
PPT	-	-	-	-	65	-	-	-
ADHD-RS	-	-	-	-	43	-	-	-
Efficience intellectuelle								
Échelle	Vineland	WISC	Griffith's	inconnu	RPM	RPM	Vineland	WISC-III
score de QI total	DI modérée	70	50-69	inf. 70	79	>130	47	67

FIGURE 4.38: Données cliniques de l'ensemble des patients présentant un CNV de *NLGN4Y*

Patients	1	2	3	4	5	6	7	8
Sexe	M	M	M	M	M	M	M	M
HISTOIRE MEDICALE								
Grossesse et accouchement								
Grossesse	normal	-	-	-	38 SA	normal	-	-
Accouchement	normal	-	-	-	eutocic	eutocic	-	-
Acquisitions								
Âge de la marche (mois)	normal	15	9	-	normal	normal	16	-
Âge 1ers mots (mois)	12 (mais régression langagière)	25	retard (oui, non seulement)	-	non verbal	normal	36	retard
Âge 1ères phrases (mois)	24	37	-	-	non verbal	normal	-	-
Comorbidités somatiques	asthme, otites	-	-	-	M. de Scheuermann	-	-	-
Comorbidités psychiatriques	-	-	-	-	Anxiété, auto-agressivité	Phobie sociale, addiction à l'OH	-	-
EXAMEN CLINIQUE								
Dysmorphie	-	-	-	-	prognatisme, lèvres fines, nez en boule, taches cutanées	-	-	-
Examen neurologique	-	-	-	-	élargissement du polygone de	Dysmétrie	-	-
Examens sensoriels								
Profil subjectif	-	-	-	-	hypersensibilité auditive	normal	-	-
Test d'acuité auditive	-	-	-	-	-	-	-	-
Potentiel évoqués auditifs	-	-	-	-	normal	-	-	-
Examen ophtalmologique	-	-	-	-	-	-	-	-
Examens complémentaires								
Bilan biologique/analyse acide aminés	-	normal	-	-	-	-	normal	normal
Imagerie cérébrale	normale	-	-	-	-	-	-	-
EEG	-	-	-	-	normal	-	-	-
HISTOIRE FAMILIALE								
Âge du père à la naissance	-	-	-	-	36	-	-	-
Âge de la mère à la naissance	-	-	-	-	34	-	-	-
ATCD familiaux	-	TSA chez un frère, et un cousin germain	Traits autistiques chez un apparenté au 3ème degré	Déficience Intellectuelle chez un cousin maternel	-	-	TSA chez un oncle paternel	-

FIGURE 4.39: Données cliniques de l'ensemble des patients présentant un CNV de *NLGN4Y* -Suite-

Chapitre 5

Discussion : Recherche clinique et génétique : Un service rendu aux patients

5.1 Intrications gènes et clinique

5.1.1 Mutations *de novo* et phénotype

À partir de pipelines d'analyse génétique similaires à celui utilisé dans la première partie de cette étude, de nombreuses équipes de recherche étudient les variants *de novo* dans les populations de patients atteints de TSA. Dans les familles simples, le taux de mutations *de novo* par individu par exome a été estimé à 1,02 pour les patients avec autisme contre 0,79 chez les apparentés non atteints, ce qui représente une majoration significative des variants *de novo* chez les patients [58, 85].

Le taux de variants *de novo* observés dans la cohorte des 17 familles multiplexes est de 1,68 chez les patients avec TSA contre 1,07 chez les sujets sains. Le taux pour les patients des familles multiplexes est très similaire aux études antérieures. Ainsi, il apparaît que les patients avec TSA des familles MPX semblent présenter autant de mutations *de novo* par individu que ceux des familles simples.

En revanche, aucune différence statistique du nombre de variants *de novo* par individu ($p=0,22$) n'est mise en évidence entre les patients et leurs apparentés dans les familles MPX. Ce qui est cette fois différent de ce qui est observé dans les familles SPX. On peut émettre plusieurs hypothèses pour l'expliquer.

D'abord, cette absence de différence peut être due à un trop petit effectif de la cohorte ne permettant pas de mettre en évidence une différence ténue entre les deux groupes.

Ensuite, ceci revient à se poser la question de pourquoi les apparentés des familles SPX et MPX ne présentent pas le même taux de variants *de novo* par individu. Ce peut être que :

1. les variants *de novo* sont réellement moins fréquents chez les apparentés des familles SPX,
2. ou que les variants *de novo* des apparentés des familles SPX sont aussi fréquents que les apparentés des familles MPX, mais plus fréquemment situés dans les régions non codantes et donc non détectables avec les données d'exome.

Dans le premier cas, cette différence serait alors liée à une différence génétique fondamentale entre apparentés des familles multiplexes et simplexes. On pourrait émettre l'hypothèse d'une anomalie intrinsèque dans le système de réparation de l'ADN [121]. Dans ce cas, les individus atteints seraient ceux dont les mutations *de novo* seraient délétères ou toucheraient des gènes à expression cérébrale ou impliqués dans les mécanismes cellulaires évoqués en chapitre 1. À ce jour, peu d'articles ont étudié le système de réparation de l'ADN dans les pathologies psychiatriques. Un article montre une dérégulation du système de réparation de l'ADN dans les cas d'X fragile [122]. En revanche, aucun article n'est publié sur le sujet dans les TSA.

Ensuite, le groupe TSA semble avoir davantage de variants *de novo* touchant des gènes à expression cérébrale par rapport aux apparentés, mais aucune différence n'est mise en évidence entre les deux groupes ($p=0,17$). Il n'existe pas non plus de différence significative pour les gènes déjà référencés dans SFARI entre les deux groupes ($p=0,61$). Cette absence de significativité peut être causée là encore par la petite taille de la cohorte. Par contre, 3 mutations *de novo* considérées comme délétères pour la fonction protéique et survenues chez des patients font partie des gènes candidats aux TSA.

— *SRGAP3* :

Pour ce gène, aucune mutation non-sens n'est répertoriée dans « Exome Variant Server » [123] et les mutations probablement endommageantes sont rares (fréquence inférieure à 1%). La protéine SRGAP3 comporte un domaine SH3, indiquant un rôle dans une voie de signalisation cellulaire et dans l'architecture du cytosquelette, notamment au niveau neuronal [124]. Une translocation équilibrée interrompant le gène *SRGAP3* a été décrite chez une fille avec une déficience intellectuelle et un comportement auto-agressif. Une mutation faux-sens *de novo* (c.1405GAA AAA ; p.469E K) a également été rapportée chez un patient autiste dans une étude de séquençage d'exome complet [125]. Une microduplication en tandem engendrant une perte de fonction de la protéine SRGAP3 a été trouvé

chez une famille MPX avec schizophrénie [126]. Pour finir, ce gène est référencé comme un gène hautement exprimé dans le cerveau, comme un gène-cible du retard mental (FMRP) [127] [126], et comme gène exprimé en fonction de la densité post-synaptique chez l'Homme.

— *SLC25A22* :

Ce gène est exprimé dans le cerveau et code un transporteur mitochondrial du glutamate et est également un gène régulant la densité post-synaptique [128]. Ce gène est connu pour être impliqué dans une forme d'encéphalopathie épileptique néonatale [129]. Des mutations homozygotes sont uniquement décrites dans des familles très consanguines. L'analyse du second allèle n'a pas mis en évidence de variant chez ce patient.

— *SHANK3* :

Les mutations *SHANK3* sont présentes dans 1 à 2% des patients avec TSA et déficience intellectuelle [130]. *SHANK3* est une protéine d'architecture du cytosquelette présente dans les synapses excitatrices directement reliées à l'organisation de la densité post-synaptique [131].

Les conséquences délétères des variants sur la fonction des protéines sus-citées, ainsi que les rapports d'autres cas de patients présentant une anomalie des mêmes gènes permettent d'évoquer un rôle causal de la mutation *de novo* de ces 3 gènes dans le phénotype des patients.

Ainsi la présence de mutations *de novo* chez les patients des familles MPX permet d'expliquer pour quelques cas l'intégralité du phénotype. Mais la plupart du temps, le variant *de novo* ne peut expliquer à lui seul le phénotype clinique présenté par le patient. Dans les familles MPX, celui-ci est très probablement la résultante de plusieurs facteurs génétiques délétères *de novo* et hérités des apparentés. L'hypothèse génétique sous-jacente serait celle d'un fond génétique à risque de survenue de TSA, ce qui expliquerait la récurrence intrafamiliale.

Par ailleurs, les maladies psychiatriques sont complexes aussi bien du point de vue phénotypique (gradients symptomatiques) que du point de vue génétique (modèle polygénique). L'étude phénotypique détaillée des patients avec TSA et de leurs comorbidités psychiatriques d'une part et d'éventuelles pathologies psychiatriques des apparentés d'autre part rend compte de l'agrégation de ces maladies dans les familles MPX.

La description clinique de la cohorte montre que le sexe-ratio des patients est comparable aux données de la littérature et que celui des apparentés n'est pas déséquilibré. Il existe

une différence significative de l'âge maternel et paternel à la naissance entre patients et apparentés (p -value=0,037), ce qui est conforme aux données de la littérature [132].

Parmi ces 17 familles, les comorbidités psychiatriques sont très fréquentes chez les patients (73,5%) et chez leurs apparentés ne présentant pas de TSA (70%), sans différence significative (p -value = 0,88), tandis que la prévalence aux États-Unis des pathologies psychiatriques est de 18,5% en population générale (toutes étiologies psychiatriques confondues) [99]. Ceci représente une différence importante entre les familles MPX et les données de population générale (p -values à $2,3e-13$). Prises séparément, la plupart des pathologies psychiatriques présentes dans les familles MPX sont significativement sur-représentées par rapport à la population générale. Ceci peut permettre d'envisager un sur-risque psychiatrique au sein des familles MPX, tant sur le plan des TSA que des autres troubles psychiatriques. Ceci allant dans l'idée des hypothèses citées plus haut d'un "fond" génétique partagé par les différents individus de la famille MPX et conférant des phénotypes cliniques variables. Le rôle des mutations *de novo* surajoutées au terrain génétique familial prédisposant serait donc précipitant dans la survenue de l'autisme. La famille MPX11 en est l'exemple.

Par suite, il est mis en évidence une discrète sur-représentation des cas d'épilepsie chez les patients (p -value=0,05) et une hypersensibilité au bruit (p -value=0,03). Une hypothèse de corrélation génotype-phénotype peut être faite dans la continuité de ce qui à déjà été énoncé. En effet, de nombreux gènes impliqués dans les TSA ont une expression cérébrale et l'épilepsie provenant d'anomalies fonctionnelles de cet organe, on peut imaginer qu'il existe des facteurs génétiques communs à ces 2 pathologies et qui différencierait des variants portés par les apparentés présentant d'autres pathologies psychiatriques.

5.1.2 Gènes synaptiques, Nouveaux gènes candidats, Pathways

Parmi les 607 gènes et les 2110 CNV impliqués à des degrés différents dans les TSA et référencés dans la base de données SFARI [60], la fréquence des déterminants n'est pour la plupart pas encore connue. Néanmoins, parmi la très grande hétérogénéité génétique des TSA, il semble exister un certain nombre de variants récurrents. Dans une étude de 2013, Eichler et col. mettent en évidence des sites spécifiques de cassures chromosomiques entraînant un fort taux de CNV récurrents dans les TSA. Ces sites sont appelés "hotspots" [113].

La forte prévalence des comorbidités psychiatriques dans les familles MPX, ainsi que les études d'association génétiques antérieures permettent d'évoquer l'hypothèse d'enrichissement de variants spécifiques à des voies synaptiques ou de variants de gènes à expression cérébrale. Une étude récente évoque cet enrichissement des variants dans les

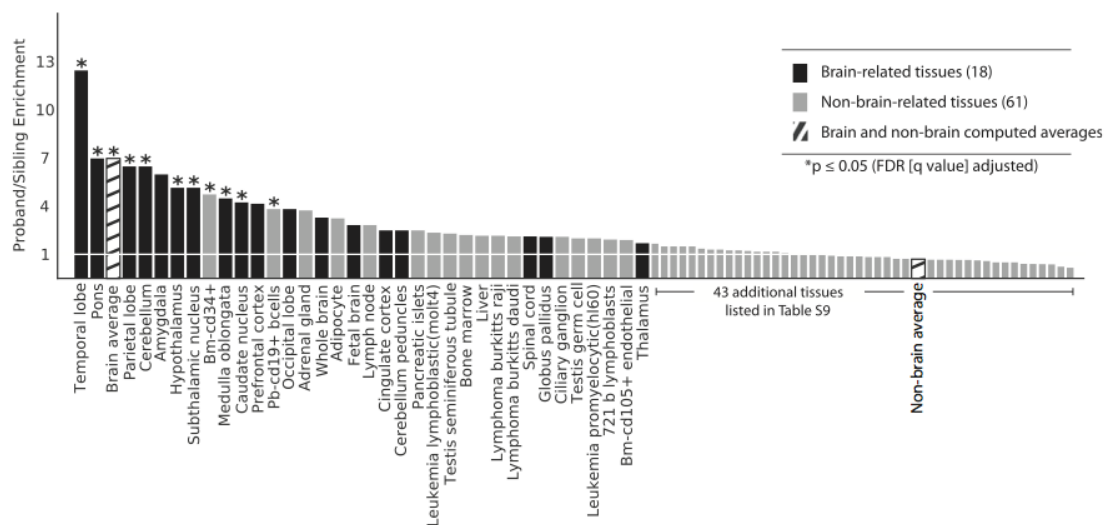


FIGURE 5.1: Comparaison de l'enrichissement des gènes en fonction de la localisation et selon le statut clinique (Les gènes inclus dans les CNV des patients avec TSA sont significativement plus fréquemment des gènes à expression cérébrale) (Source : Krumm, Eichler, Am J Hum Genet. 2013) [112]

voies synaptiques [133] et dans certaines régions cérébrales [112] (Figure 5.1) chez les patients avec autisme.

Malgré l'hypothèse précédente de variants communs à plusieurs pathologies psychiatriques, il existe des différences concernant certains déterminants géniques, et notamment ceux impliqués dans les déficiences intellectuelles comme le montre la figure 5.2 [113].

La mise en évidence de nouveaux gènes candidats dans les TSA passe par l'analyse du lien phénotype-génotype présent dans des cohortes de patients et la comparaison avec les individus contrôles. L'analyse des variants géniques donne des informations sur le caractère délétère sur la fonction protéique du SNP ou du CNV présent chez un patient. Cette prédiction est évaluée par le score SIFT et Polyphen. Seulement, il est difficile de connaître le degré de pathogénie d'un variant rare ou inconnu. Et ensuite, ce n'est pas parce qu'un variant est rare qu'il est forcément responsable du phénotype clinique.

Ensuite, ces variants génétiques seront d'autant plus considérés comme des candidats qu'ils seront des acteurs de grandes voies biologiques ("*pathways*") déjà mis en évidence dans les TSA (chap.1). L'identification de nouveaux gènes candidats passe par la connaissance scientifique des acteurs protéiques de ces "*pathways*" via la recherche fondamentale.

Enfin, du point de vue évolutif, les variants génétiques sont le moteur de l'évolution. La connaissance actuelle de nombreuses familles de gènes dérivant d'un gène ancestral commun permet de mettre en évidence les profils d'interactions et d'expression des gènes candidats des TSA. Ces gènes, même s'ils sont paralogues, peuvent avoir des domaines

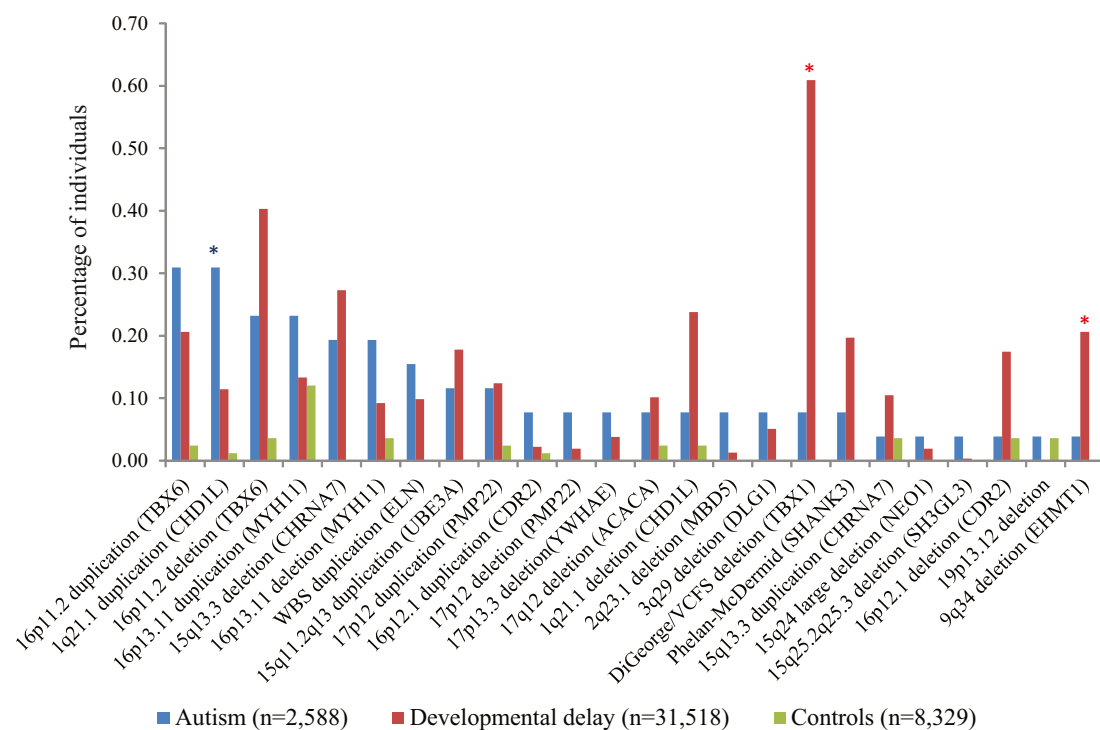


FIGURE 5.2: Comparaison des grands CNV récurrents chez les patients TSA ou avec déficience intellectuelle par rapport aux contrôles (Enrichissement chez les patients avec TSA notée par une astérisque bleue, chez les patients avec déficience intellectuelle par une astérisque rouge) (Source : Girirajan, Eichler, Am J Hum Genet. 2013) [113]

fonctionnels similaires et donc suppléer la fonction d'une protéine dont le fonctionnement aurait été altéré par une mutation génétique. Ce phénomène de polygénie et de compensation génique rend délicate l'établissement d'un lien génotype-phénotype dans les TSA.

Par ailleurs, les variants génétiques étant la pierre angulaire de l'évolution, il se peut que certains des SNP présents chez les individus non atteints et modifiant la fonction protéique soient des variants protecteurs pour certaines fonctions neuronales et cérébrales.

Tous ces éléments conduisent à poser la question du "*multiple hit model*".

5.1.3 Hypothèse du "Multiple Hit"

Le phénotype clinique des TSA serait lié à l'accumulation de variants délétères chez un individu. Le « multiple-hit model » pourrait dans cette perspective être un bon modèle pour expliquer la variabilité phénotypique des TSA à l'intérieur d'une même famille multiplexe [87]. L'hypothèse du « multiple-hit », que l'on peut traduire littéralement par l'accumulation de « dommages », est également appelée hypothèse de Knudson, du nom de celui qui l'a décrite en 1971 [88]. Celle-ci a été émise initialement dans le cas des

cancers pour expliquer l'accumulation des mutations itératives de l'ADN responsables de la survenue d'une cellule maligne quand un seuil est atteint. Cette hypothèse pourrait être appliquée aux Troubles du Spectre Autistique où l'accumulation de variants pourrait survenir d'une génération à la suivante. Certains d'entre eux pourraient être délétères ou d'autres protecteurs.

Une illustration du "multiple-hit model" est proposée au paragraphe suivant à travers l'analyse des variants transmis et *de novo* de la famille MPX11 en lien avec le phénotype clinique des patients.

5.1.3.1 Analyse de ségrégation de la famille MPX11

Les mutations *de novo* de la famille MPX11 sont décrites au chapitre 4.1 (Figure 4.5). Au sein de cette famille, pour l'ensemble des patients désignés en rouge, les SNV exoniques sont analysés. 13099 variants sont communs à tous les individus de la famille (patients présentant un TSA (grand-père paternel, père, 2 enfants atteints) et individus non atteints (grand-mère paternelle, mère, 2 enfants non atteints)).

Pour l'analyse des variants en fonction du phénotype montré par l'arbre généalogique, plusieurs hypothèses d'analyse de ségrégation sont testées :

- Modèle autosomique dominant à pénétrance complète,
- Modèle autosomique dominant à pénétrance incomplète,
- Modèle lié à l'Y,
- Modèle lié à l'X.

Suite à des contraintes techniques ne permettant pas une qualité de couverture suffisante des chromosomes sexuels, les variants trouvés sur l'X et l'Y n'ont pas pu être analysés. Ainsi seuls les modèles autosomiques ont été testés. Dans un souci de simplification, les phénocopies n'ont pas été testées dans cette analyse familiale.

Pour tester le modèle de ségrégation autosomique dominant avec pénétrance complète, seules les mutations partagées par les patients (et absentes chez les individus non atteints) sont conservées, soit un total de 331 mutations. Après sélection à l'aide des mêmes filtres de qualité que pour les variants *de novo* (chap.3), 35 des 331 mutations demeurent. Parmi ces 35, 22 (63%) sont des mutations non-synonymes, 8 (23%) des mutations synonymes et 5 (14%) affectent un ARN non codant (ncRNA). Aucune mutation stop n'est identifiée. Les 35 variants sont présents sur 35 gènes indépendants.

7 des 35 gènes (20%) s'expriment dans le cerveau. Parmi ceux-ci, 6 sont des mutations non-synonymes et 1 une mutation synonyme. 3 mutations sont prédites comme délétères (Polyphen [96], SIFT [95]) :

- *SGCZ* (score HVAR=0,999) code le sarcoglycane zeta, un composant du complexe dystrophine-glycoprotéine qui forme un lien entre la F-actine du cytosquelette et la matrice extracellulaire ;
- *DPYSL2* code la dihydropyrimidinase-like 2 qui est nécessaire pour la signalisation et le remodelage du cytosquelette, cette protéine joue un rôle dans la guidance axonale, l'arrêt de la croissance du cône axonal, et la migration cellulaire ;
- *GRIK1* (score HVAR=0,89) code un récepteur ionotrope au Glutamate, le L-glutamate agit comme neurotransmetteur excitateur dans de nombreuses synapses du système nerveux central [134].

La figure 5.3 c. résume l'ensemble des SNP non-synonymes ou stop prédits comme délétères dans cette famille. Le modèle autosomique dominant à pénétrance complète est représenté par le rectangle rouge.

Ensuite, dans le modèle autosomique dominant à pénétrance incomplète, les mutations responsables du phénotype sont présentes chez les patients et peuvent être portées par les individus sains. L'analyse des variants communs dans la famille permet de mettre en évidence 10 variants dans des gènes d'intérêt : 8 exprimés dans le cerveau, 1 référencé dans la base de données SFARI et 1 exprimé dans le cerveau et référencé dans SFARI. Parmi ces SNP, 4 sont non-synonymes et entraînant une modification délétère de la fonction protéique (rectangle gris).

De plus, chaque enfant atteint présente au moins une mutation non-synonyme survenue *de novo* dans un gène à expression cérébrale et prédite comme délétère (*NUP93* : Polyphen2 score = 0.961, SIFT score = 0.610000 ; *SPEG* : Polyphen2 score = 0.981, SIFT score = 0.010000). Chez les enfants non atteints, aucune mutation *de novo* n'est mise en évidence. Mais 2 variants non-synonyme dans un gène à expression cérébrale sont présents uniquement chez les enfants sains, pouvant faire évoquer des facteurs protecteurs chez ces enfants.

Le "multiple hit model" est donc conçu comme la résultante de l'effet des SNP communs (rectangles rouge et gris) et des mutations *de novo* délétères chez les patients (rectangle rose) et possiblement protectrices chez les frères et soeurs non atteints (rectangle vert). L'association des variants exoniques décrits dans cette famille MPX est incomplète et nécessiterait d'être complétée par l'étude des variants portés par les chromosomes sexuels, d'explorer la polygénie et plus largement d'analyser les données de régulation transcriptionnelle de génome complet.

L'étude des variants communs présents au sein de cette famille ne montre pas d'enrichissement significatif dans une voie métabolique. Néanmoins, il existe des liens nets d'interaction génétique et de co-expression entre les variants communs aux individus sains

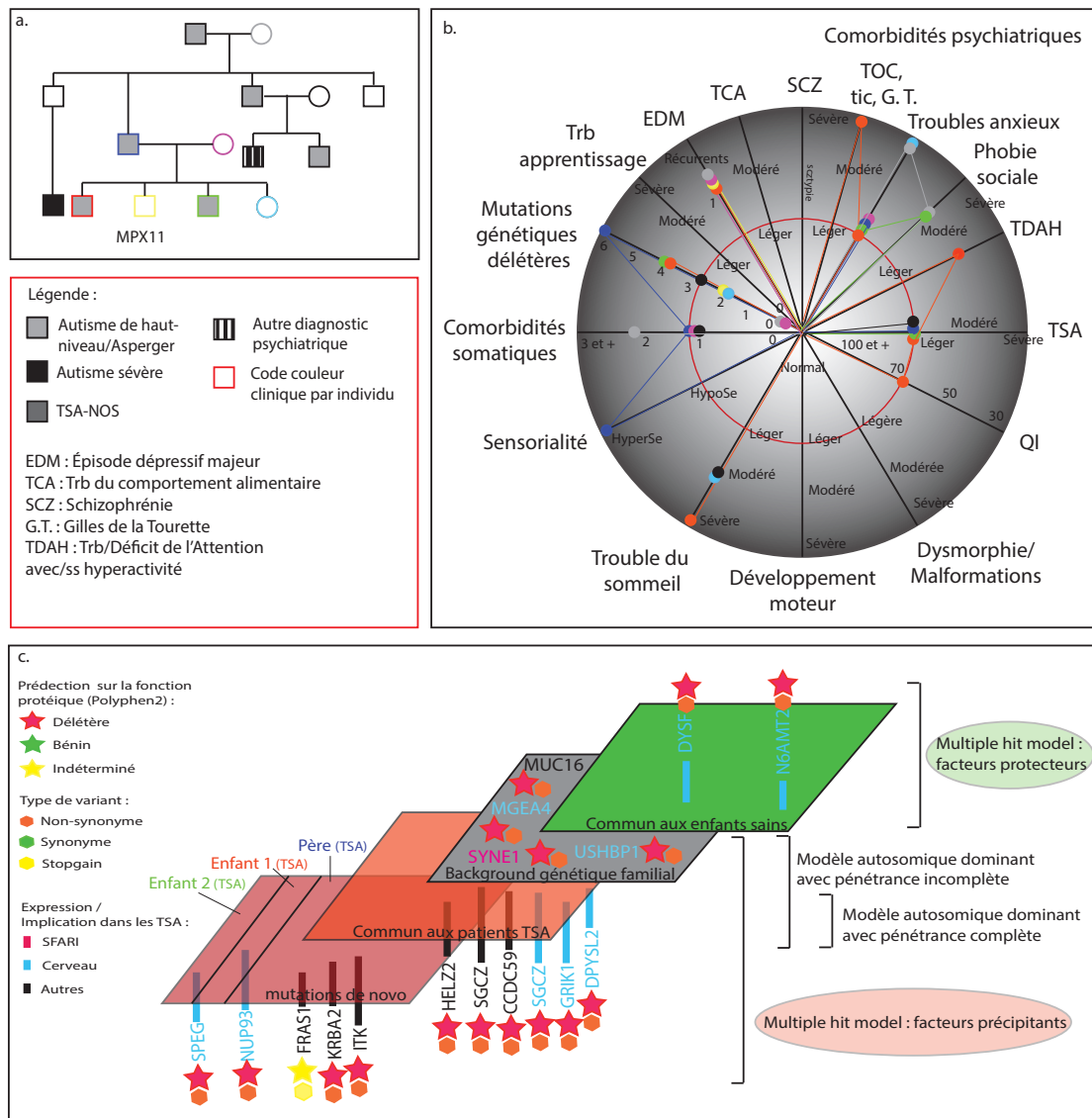


FIGURE 5.3: Analyse de ségrégation des variants de la famille MPX11 en fonction du phénotype clinique ; a. Arbre généalogique (chaque couleur correspond à celle reportée sur la figure b.) ; b. Caractéristiques cliniques des différents individus de la famille MPX11 ; c. Ségrégation des variants génétiques délétères en fonction des hypothèses de ségrégation

et atteints. La figure 5.4 montre ces liens et donne ainsi une idée du risque génétique pour les TSA de cette famille.

5.1.3.2 Caractéristiques cliniques des individus de la famille MPX11

Les figure 5.3 a. et b. et figure 5.5 résumant les caractéristiques cliniques des individus de la famille MPX11. Sur 3 générations, 7 patients avec TSA et 1 patient avec un autre

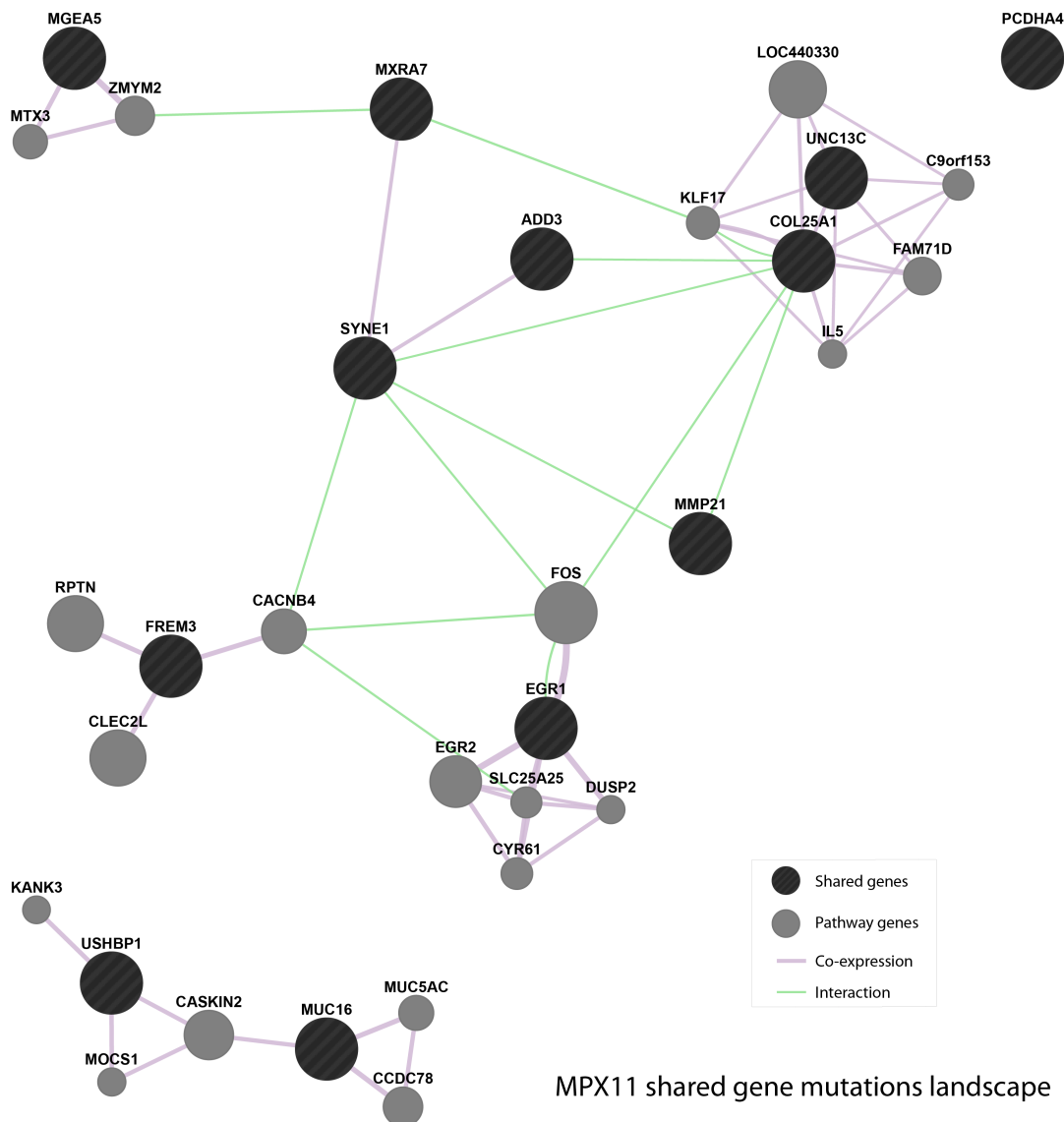


FIGURE 5.4: Réseau d'interaction géniques des variants de la famille MPX11

diagnostic psychiatrique sont reportés dans la lignée paternelle. Un individu d'une génération antérieure est également décédé par suicide dans cette même lignée (donnée non documentée).

Dans chaque cas, seuls les garçons sont atteints cliniquement, ce qui a permis d'évoquer les hypothèses de ségrégation et de rechercher les déterminants génétiques décrits plus hauts. Une fois ces déterminants génétiques mis en évidence, une nouvelle analyse approfondie des données cliniques permet d'infirmier ou de confirmer l'implication des variants.

Parmi les 8 patients analysés sur le plan génétique, les données cliniques approfondies montrent que quatre garçons sont atteints de TSA (avec l'enfant 1 qui a un diagnostic

de syndrome d'Asperger), ce qui était déjà connu. En revanche, cette réanalyse met en évidence que tous les apparentés présentent une comorbidité psychiatrique. Les patients avec TSA sont également atteints de troubles anxieux et phobie spécifique. Le troisième garçon et la grand-mère paternelle présentent une phobie sociale. La mère, l'enfant 1 avec TSA et l'enfant 2 sans TSA ont déjà eu au moins un épisode dépressif. La grand-mère paternelle et l'enfant 4 montrent un trouble anxieux généralisé.

Du point de vue physique, seuls les adultes présentent des pathologies somatiques. Le père présente des manifestations neurologiques à type de migraine avec ictus amnésique. La mère présente des nodules cutanéomuqueux sans que de diagnostic de neurofibromatose ne soit posé, ni de mutations des gènes *NF1* ou *NF2* ne soient rapportées.

Au sein de la famille, seul le père présente des particularités sensorielles.

Individu	Sexe	Diagnostic	Capacités cognitives	Dysmorphie
Enfant 1	M	Asperger	QI normal bas ((Wisc 3) QJP :79, QIV : 66, QIT :69)	-
Enfant 2	M	Episode dépressif	QI normal	-
Enfant 3	M	TSA	QI élevé ((Wisc4):IRP:140; ICV :126 ; IMT:109 ; QT:130)	-
Enfant 4	F	Trb anxieux généralisé	QI normal	-
Père	M	TSA	QI normal	-
Mère	F	Episode dépressif	QI normal	-
GPP	M	TSA	QI normal (Raven (QIT:107))	-
GMP	F	Episode dépressif	QI normal ((Raven) 79)	-
Individu	Sp moteurs	Comorbidités psychiatriques	Comorbidités somatiques	Sensorialité
Enfant 1	-	Asp, TDAH, EDM, TOC, tic moteurs, phobie spé.	-	-
Enfant 2	-	EDM	-	-
Enfant 3	-	TSA, phobie spécifique	-	-
Enfant 4	-	TAG, anxiété séparation, phobie spécifique	-	-
Père	-	TSA, phobie spécifique	Migraine avec ictus amnésique	Partic. pecpt. (toucher, odorat)
Mère	-	EDM, phobie spécifique	Fibromes cutanéomuqueux	-
GPP	-	TSA	IDM, goutte, calcul rénal	-
GMP	-	EDM, phobie sociale, TAG, TS	Otospongieuse, Parkinson, HTA	-

FIGURE 5.5: Données cliniques des membre de la famille MPX11

On peut conclure que le fait que tous les individus analysés présentent un diagnostic psychiatrique invalide le modèle de ségrégation autosomique dominant à pénétrance complète. Les TSA ne sont donc pas expliqués par un modèle de maladie monogénique dans cette famille.

Ensuite, le modèle autosomique dominant à pénétrance incomplète pourrait expliquer que les individus porteurs des mêmes variants génétiques ne sont pas tous atteints de TSA, mais ce modèle ne permet pas de comprendre la variabilité phénotypique des comorbidités psychiatriques.

Il semble donc que le modèle le plus adéquat pour décrire l'agrégation des pathologies psychiatriques dans la famille MPX11 (et éventuellement des manifestations de migraines avec ictus amnésique du père) serait l'hypothèse du "multiple hit model".

Cette analyse complète de la famille MPX11 met l'accent sur la nécessité de la caractérisation fine du phénotype psychiatrique et génétique des patients et de leurs apparentés

pour une meilleure compréhension d'un corrélat clinico-biologique au sein d'une famille donnée.

5.1.4 Imputabilité des mutations dans l'expression phénotypique des TSA

Les variants génétiques transmis d'une génération à une autre ou survenus de façon *de novo* présentent des fréquences très variables. Celles-ci varient selon que le gène en question est soumis ou non à pression de sélection. N'entraînant pas de conséquence sur la fonction protéique, certains variants peuvent avoir une fréquence élevée. En revanche, un variant délétère survenant dans une protéine très conservée aura une fréquence plus faible. La fréquence des événements rares est fixée à moins de 5% en population générale et à moins de 1% pour les variants très rares.

L'imputabilité de chacun de ces variants géniques (CNV et SNV) est rendue difficile par la rareté de chaque mutation et de ce fait du petit nombre de publications pour chaque anomalie. Ces CNV et SNV peuvent survenir *de novo*, ou transmis par les ascendants selon un modèle mendélien. Cependant la combinaison de CNV et/ou SNV transmis et *de novo* chez un patient semble particulièrement fréquent et augmente la complexité de notre perception de l'imputabilité d'un gène ou d'une région génétique. Il existe notamment des délétions ou des duplications de signification inconnue [135] et que les cliniciens interprètent de façon très prudente quant à leur pouvoir pathogène. Par conséquent, notre capacité à fournir un conseil génétique au patient et à sa famille est parfois réduite.

Le « Multiple Hit Model » pose la question de la difficulté de l'identification et de l'imputabilité des allèles et CNV à effet modeste qui doit rester extrêmement prudente car complexe. Des études protéomiques et des voies biologiques intégratives des gènes impliqués permettront à l'avenir de mettre en évidence des sphères d'expression commune à la plupart des gènes déjà décrits et ainsi de déterminer le « poids » de tels variants.

Par ailleurs, certains variants sont communs à plusieurs pathologies, rendant à elles-seules leur imputabilité difficile, mais qui rendent possible l'établissement d'une corrélation phénotype-génotype éventuelle. La figure 5.6 montre un exemple de facteurs génétiques communs à plusieurs pathologies.

5.2 Implication des *NLGN* dans les TSA

Des anomalies des gènes *NLGN* sont détectées dans l'intégralité du spectre des TSA avec un gradient de sévérité variable en terme de phénotype autistique, de gravité d'une

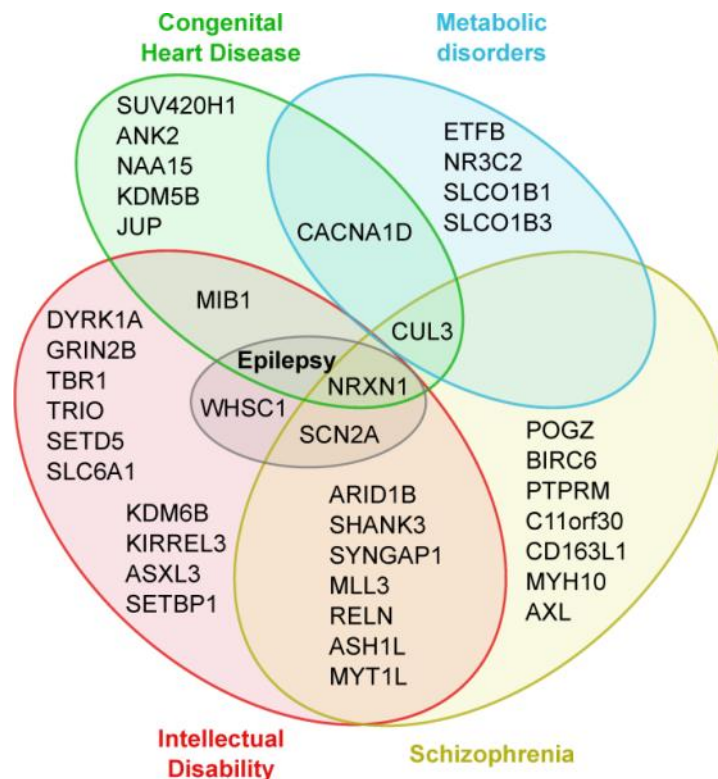


FIGURE 5.6: Implication des gènes des TSA dans d'autres pathologies. (En bleu : maladies métaboliques, en jaune : schizophrénie, en rouge déficience intellectuelle, en vert : cardiopathie congénitale, en violet : épilepsie) (Source : Buxbaum, Nature, 2014) [78]

éventuelle déficience intellectuelle associée, d'éléments dysmorphiques ou de comorbidités somatiques et psychiatriques. Pour la plupart des patients présentant une anomalie d'un gène des *NLGN*, aucune autre anomalie génétique n'est mise en évidence, celle-ci est indiquée le cas échéant.

5.2.1 *NLGN1*, *NLGN2*, *NLGN3* dans les TSA

La compilation des données de la littérature concernant les gènes *NLGN1*, *NLGN2*, *NLGN3* dans les TSA montre que les anomalies se présentent à des fréquences variables selon le gène d'intérêt et que le phénotype clinique associé à ces anomalies est différent.

Pour les anomalies du gène *NLGN1* dans les TSA, les études cas-témoins montrent une fréquence survenue de 3,6% chez les patients avec TSA contre 1% parmi les témoins, soit plus de 3 fois plus élevée chez les patients avec une différence significative importante ($p\text{-value}=4.21e-41$).

Les mutations de *NLGN1* sont détectées chez des individus avec TSA. Une déficience intellectuelle est associée dans certains cas, mais d'intensité variable (de légère à sévère). On peut donc se poser la question de la corrélation entre anomalie du gène *NLGN1* et

l'autisme ou la déficience intellectuelle ou les deux ensemble. Un élément de réponse peut être apporté par la survenue d'anomalies de *NLGN1* dans une cohorte de patients avec déficience intellectuelle sans qu'aucune association significative soit trouvée (p-value=0,31). Cette observation apporte un argument supplémentaire à l'implication du gène *NLGN1* dans le phénotype des TSA.

Les anomalies de *NLGN2* sont beaucoup plus rares chez les patients avec TSA et chez les contrôles (0,1% et 0% respectivement). Néanmoins, il existe une différence significative dans la survenue des anomalies de gène dans les TSA (p-value=0.00099). Tandis qu'il n'a pas été retrouvé d'association entre *NLGN2* et la schizophrénie d'une part et l'agénésie du corps calleux d'autre part (p-value=0,11 et 0,098 respectivement). Ces patients atteints de TSA peuvent présenter une déficience intellectuelle, une dysmorphie mineure aspécifique ou une microcéphalie. Ces éléments sont en faveur d'une importance notable du gène *NLGN2* dans le fonctionnement de l'organisme et notamment du cerveau. Les variants fréquents connus (rs) pour ce gène sont nombreux, mais se situent essentiellement dans des régions introniques, le polymorphisme exonique est quant à lui très réduit [136].

L'étude des anomalies du gène *NLGN3* montre une fréquence de celles-ci de 0,03% chez les patients contre 0,003% chez les contrôles, ce qui est 10 fois plus fréquent avec une différence très significative (p-value=0.0002). L'étude comparative des anomalies des gènes survenues dans une population d'individus contrôles versus de patients atteints de TSA ou de schizophrénie met en évidence une différence significative en faveur de l'association de la fréquence des variants de *NLGN3* et l'autisme et non avec la schizophrénie (p-value=0,001). Là encore, les patients atteints de TSA présentent une déficience intellectuelle qui semble plus sévère que pour *NLGN1* et *NLGN2*.

Ces fréquences sont des estimations de ce qu'on pourrait trouver en population générale. Il serait nécessaire de préciser les caractéristiques des populations incluses pour savoir si celles-ci sont représentatives de la population générale des patients d'une part et des contrôles d'autre part.

Bien que la plupart des variants mis en évidence soient considérés comme délétères, pour aller plus loin dans l'analyse, les anomalies génétiques nécessiteraient d'être explorées variants par variants afin de déterminer le caractère délétère de chacun et de procéder ensuite à une analyse sur la fonction protéique. Par ailleurs, il serait nécessaire de préciser la fréquence des anomalies génétiques de ces gènes en fonction de la présence d'une déficience intellectuelle associée ou non au TSA. La méta-analyse pourrait être complétée d'une revue des articles concernant la génétique fondamentale sur ces gènes, les modèles animaux et les neurones dérivés de fibroblastes.

5.2.2 *NLGN4X*, *NLGN4Y* dans les TSA

Concernant les gènes *NLGN4X* et *NLGN4Y*, il existe un taux d'homologie de séquence d'ADN de l'ordre de 90%.

Bien que rares, les anomalies de *NLGN4X* sont plus fréquentes chez les patients atteints de TSA par rapport aux contrôles avec une différence significative (p-value=6.7e-08).

Dans une cohorte de patients présentant une déficience intellectuelle, des anomalies de *NLGN4X* sont mises en évidence mais l'absence de population contrôle ne permet pas de déterminer la fréquence de ces anomalies par rapport à une population de sujets sains.

Au plan clinique, certains patients avec une anomalie de *NLGN4X* peuvent présenter une déficience intellectuelle modérée à sévère associée au TSA, une macrocéphalie, une dysmorphie faciale non spécifique, une agénésie ou hypoplasie du bulbe olfactif, une ichtyose cutanée parfois sévère, des anomalies squelettiques de type cyphose, syndrome de Kallmann, ou chondrodysplasie.

Les patients présentant des anomalies de *NLGN4Y* présentent un TSA de façon significativement augmentée par rapport aux contrôles (p-value=0.002). Ces patients peuvent présenter une déficience intellectuelle associée.

Par ailleurs, l'étude de patients avec des anomalies du nombre des chromosomes sexuels montrent une importante surreprésentation de TSA avec le nombre de chromosome Y présent, ainsi qu'un accroissement du degré de déficience intellectuelle associée. Avec le génotype XXX, aucun cas de TSA n'a été mis en évidence. Le taux de survenue des TSA s'accroît à mesure que le nombre de chromosome Y augmente (XXY : 1,7%, XYY : 31,6%, XXYY : 37,5%), faisant évoquer la possibilité d'une implication du chromosome Y dans les TSA comme cela avait déjà été évoqué pour tenter d'expliquer le déséquilibre du sexe-ratio. Il se pourrait que les anomalies de nombre du gène *NLGN4Y* puissent avoir un rôle dans la survenue d'un TSA.

5.2.3 Anomalies de *NLGN4Y* dans la cohorte

Dans la famille MPX19, le phénotype du patient avec la délétion est plus sévère sur le plan autistique. Ce qui amène à penser que la survenue d'une délétion *de novo* de *NLGN4Y* aggrave l'effet délétère de la mutation *CNTN5* transmise à tous les enfants. Cette observation renforce l'argument du "multiple-hit model" dans les familles MPX [87].

Dans la famille MPX18, la duplication de *NLGN4Y* est transmise du père présentant au plan phénotypique une phobie sociale et une dépendance à l'alcool à son fils avec

autiste sévère sans langage et sans déficience intellectuelle. Cette différence phénotypique peut être expliquée par un mosaïcisme qui reste inexploré chez le père, une expressivité variable de ce CNV dans les cellules, un "rattrapage génique" lié à la forte homologie entre *NLGN4X* et *NLGN4Y* [137].

Pris tous ensemble, les patients des familles MPX et issus de la cohorte PARIS porteurs d'une anomalie du gène avec une microdélétion de *NLGN4* présentent une atteinte autistique sévère sans qu'une déficience intellectuelle associée soit au premier plan. En revanche, il semble que tous les patients présentent des anomalies sévères du développement du langage, voire pas de langage à l'âge adulte.

En résumé, les découvertes cliniques et génétiques apportent un argument supplémentaire pour considérer les mutations des *NLGN* dans un vaste spectre de patients avec TSA. Ces mutations ne sont par ailleurs pas restreintes aux TSA, puisque quelques une ont été montrées dans les cas de schizophrénie ou de déficience intellectuelle.

5.3 La recherche au service des patients

Malgré l'apport des recommandations de l'HAS, la France conserve un retard certain dans le diagnostic et surtout dans la prise en charge des TSA. À ce titre, elle a été condamnée à cinq reprises par la Commission Européenne (2004, 2007, 2008, 2012, 2014). Les recherches cliniques psychiatriques et génétiques actuelles et l'engagement des équipes hospitalières et des laboratoires de recherche qui les réalisent ont pour objectif de modifier les pratiques diagnostiques et les prises en charge thérapeutiques des patients sur l'argument de corrélats clinico-biologiques à ces troubles.

5.3.1 Aller plus loin dans le diagnostic

Les données générées par les recherches cliniques permettent notamment de remettre en question les symptômes cliniques des patients et leur survenue chronologique permettant de poser un diagnostic précoce afin de prendre en charge au plus tôt les symptômes cliniques et d'éventuelles comorbidités (Chap. 1).

5.3.1.1 Caractérisation clinique en fonction du sexe

À ce jour, le déséquilibre du sexe-ratio dans les TSA n'est toujours pas élucidé.

Au plan clinique, des études expliquent ce déséquilibre selon l'idée qu'il existe un biais diagnostique dû en partie aux critères diagnostiques établis à partir de cohortes de garçons, ainsi qu'une meilleure adaptabilité symptomatique des filles présentant un autisme de haut-niveau et de la plus grande tolérance sociétale en terme de timidité et de réserve du comportement attendu chez les filles [5].

D'autres études tentent d'expliquer le déséquilibre du sexe-ratio par des différences d'hormones sexuelles, l'une d'entre elles met en évidence un nouveau gène candidat dans les TSA, le gène *RORA* [138].

Une autre hypothèse est notamment celle d'une différence de neuroplasticité entre filles et garçons dans les TSA[139].

5.3.1.2 Vers la définition d'endophénotypes ?

Selon une démarche américaine qui vise à étudier de grandes cohortes de patients afin d'augmenter la puissance statistique des études, les publications actuelles dans les meilleures revues scientifiques s'attachent à accroître la significativité des résultats statistiques et donc le nombre de patients inclus.

A ce jour, près de 6000 publications sont consultables dans PubMed concernant la génétique des TSA (mots-clés : "autism" et "genetics" [74]). Les dernières études publiées dans des revues à fort impact factor comme Nature (IF=42 en 2014) [140] ou Molecular Autism (IF=5,49 en 2014) [141] comportent pour la plupart plus de 1000 patients [142]. Le plus souvent, les patients sont phénotypés selon les grands axes diagnostiques, à l'aide d'outils standardisés et reconnus dans les études internationales, ce qui permet d'établir un diagnostic précis conforme au DSM.

Seulement les Troubles du Spectre Autistique regroupent un ensemble très hétérogène de profils cliniques, de sorte que les symptômes présentés par les patients d'une cohorte se révèlent très différents dans leur manifestation, leurs caractéristiques, leur intensité et leur évolution. Et la plupart des études dans le domaine de la génétique des TSA détaillent les anomalies génétiques présentes chez les patients, mais se contentent de dire que ceux-ci sont atteints de TSA. Il existe donc un déséquilibre important entre caractérisation phénotypique sommaire et génétique détaillée.

En plus du manque de données cliniques précises de la plupart des études cliniques, la grande hétérogénéité des TSA rend difficile l'établissement d'une corrélation clinico-génétique. Afin de tenter de comprendre mieux les TSA et l'importance de chaque anomalie génétique dans leur survenue, la notion d'endophénotype a été créée. Il s'agit d'un

procédé épidémiologique visant à définir des phénotypes plus précis en séparant les symptômes comportementaux comme des entités cliniques à part entière afin de rendre plus homogènes les phénotypes et établir une corrélation psychopathologique [143, 144].

Le terme d'endophénotype a été utilisé pour la première fois en 1966 par Bernard John and Kenneth R. Lewis dans un article sur la distribution géographique des sauterelles [145]. Le terme a été ensuite repris en 2003 dans un article de Gottesman évoquant l'application du concept à la psychiatrie génétique et définit par les auteurs comme suit : « Les endophenotypes représentent des indices simples aux fondements génétiques des maladies en elles-même, mettant en avant l'idée que les diagnostics psychiatriques peuvent être décomposés ou déconstruits, ce qui peut aboutir en une analyse génétique plus simple et réussie » [146].

Le retour de l'anomalie génétique des NLGN vers le phénotype psychiatrique et somatique précis des patients avec TSA visait à observer si un endophénotype pouvait être défini pour ces gènes dans l'autisme.

5.3.1.3 Diagnostic génétique

L'évolution des techniques génétiques a permis le diagnostic génétique de nombreuses maladies humaines et a conduit à l'essor de la génétique médicale. Ce faisant des sociétés savantes ont émis des recommandations précises sur les examens génétiques. L'American Academy of Paediatrics a émis des recommandations éthiques concernant le diagnostic génétique en pédiatrie, le dépistage génétique chez les nouveaux-nés, l'analyse des "porteurs sains" et les conditions d'annonce et de divulgation des données médicales obtenues via ces techniques [147]. Dans le cadre des recommandations HAS, le diagnostic génétique est systématique chez un patient atteint de Troubles du Spectre Autistique. Il est effectué après consultation de génétique clinique en cas de dysmorphie et de façon systématique une recherche d'X-Fragile et une puce à ADN (CGH-array).

Comme cela a été exposé précédemment, l'interprétation des données recueillies permet dans 25% des cas un diagnostic génétique. Celui-ci est établi par un médecin généticien qui émet un avis sur le caractère délétère, hérité ou *de novo* des mutations.

Les bases de données mises au point initialement à des fins de recherche représentent des aides précieuses pour l'interprétation des données génétiques chez ces patients. Le logiciel Cartagénia, utilisé par certains laboratoires de Génétique médicale et de Cytogénétique et notamment celui du CHU Robert Debré est un outil précieux régulièrement implémenté des données génétiques nouvelles [118]. La figure 5.7 montre un exemple de visualisation de variants dans ce logiciel.

Certains variants sont communs à plusieurs pathologies, rendant leur imputabilité difficile. Certains gènes candidats ou gènes de susceptibilité sont communs aux TSA et à d'autres pathologies. La figure 5.6 montre un exemple de facteurs génétiques communs à plusieurs pathologies.

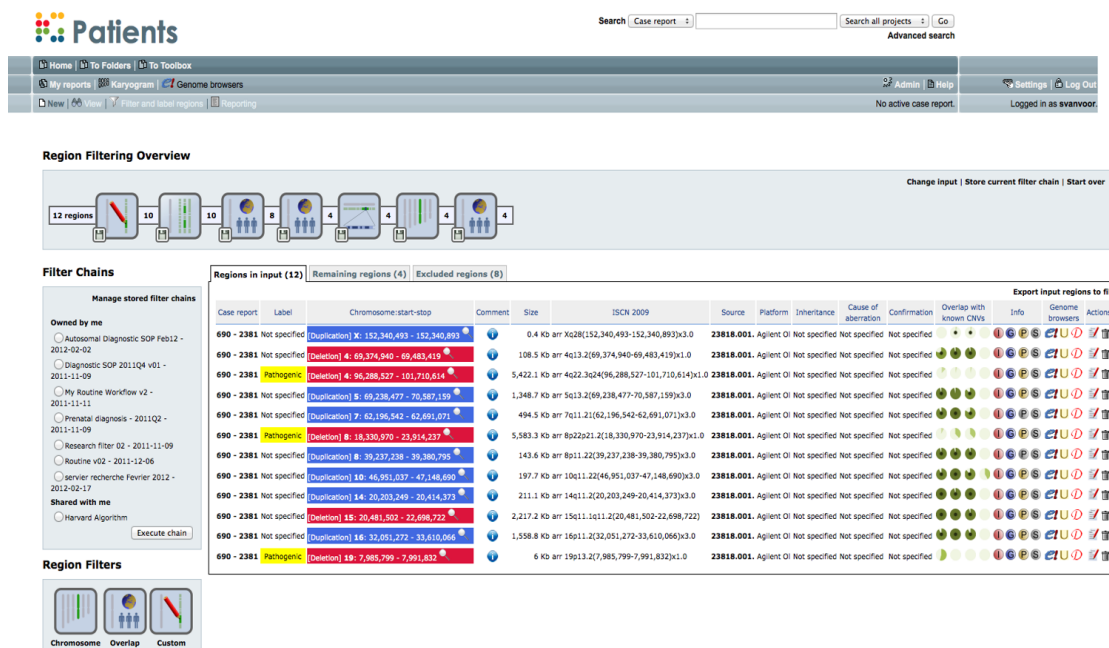


FIGURE 5.7: Exemple de visualisation du logiciel Cartagénia utilisé en Génétique clinique

La corrélation entre génotype et phénotype rendue possible grâce aux recherches cliniques et génétiques permet de prédire chez un patient d'éventuelles comorbidités associées aux TSA et de les dépister de façon systématique. Ceci illustre comment le diagnostic génétique d'un patient atteint d'un TSA peut permettre d'aller plus loin dans le diagnostic clinique psychiatrique et somatique.

5.3.2 Apport pour le conseil génétique

Du point de vue épidémiologique, la survenue d'un TSA chez un enfant entraîne un surrisque de 2,25 de survenue de TSA dans la fratrie à naître par rapport à la population générale (Chap.1, [41]). Seulement, ce risque de récurrence intra-familiale est extrêmement différent en fonction du type d'anomalie retrouvé chez le patient. C'est l'objet du conseil génétique proposé aux familles pour évaluer le risque de récurrence des enfants à naître.

Du fait d'un coût encore important des examens génétiques, les proposant sont d'abord testés et si une anomalie génétique est diagnostiquée, les parents sont à leur tour prélevés, permettant ainsi de déterminer le caractère hérité ou *de novo* de l'anomalie présente

chez le patient. Cette procédure a pour but d'estimer un risque de récurrence familial à l'anomalie génétique tout en minimisant le coût de tels examens pour la société.

Dans une famille simplexe, si l'anomalie est survenue de façon *de novo* chez un patient avec TSA et qu'un mosaïcisme parental a été écarté, le risque de récurrence est très faible. En revanche, si une anomalie héritée est mise en évidence, celle-ci sera transmise sur un mode mendélien et l'estimation du risque se fera en conséquence du risque de transmission et de la pénétrance estimée de l'anomalie.

En revanche, dans le cas d'une famille multiplexe, sans anomalie mise en évidence, le risque est particulièrement difficile à évaluer pour les raisons évoquées précédemment et notamment en lien avec l'hypothèse du "multiple-hit".

5.4 Les Limites de la cohorte, des technologies utilisées

5.4.1 Cohorte des 17 familles MPX

Dans l'étude des données cliniques et génétiques des 17 familles MPX, seuls les apparentés des patients sont inclus. Ainsi, le groupe contrôle était composé des frères et soeurs non atteints de TSA et non de sujet de la population générale. Cette comparaison a été choisie afin de connaître les différents taux de variants *de novo* au sein de chaque famille, ce qui empêche que ces individus soient des contrôles indépendants. Néanmoins, une inclusion d'individus indépendants ("vrais contrôles") aurait permis de comparer avec les mêmes techniques d'analyse clinique et de séquençage d'exome les patients avec TSA, les apparentés et des sujets contrôles de la population générale.

Une comparaison avec les données épidémiologiques en population générale a été effectuée afin de tenter de pallier ce manque de cohorte contrôle.

L'absence de significativité du nombre de variants *de novo* par individu dans les familles MPX peut être dû au nombre réduit de sujets inclus dans chaque cohorte. Une étude du même type incluant un plus grand nombre de familles multiplexes permettrait de réduire ce biais.

Dans la famille MPX11, le père atteint d'autisme de haut-niveau présente un nombre de variants *de novo* plus élevés que les 1,48 par individu. Ces 12 variants ont été vérifiés avec le méthode Sanger, et notamment des mutations affectant :

- 1 gène à expression cérébrale (*PRKCG*),
- 2 gènes référencés dans SFARI (*CACNA1F*, *TSN*).

Plusieurs études peuvent tenter d'expliquer cette forte augmentation chez ce père. Tout

d'abord, des études antérieures ont montré un effet possible de l'âge parental à la naissance sur la survenue de variants *de novo* dans la descendance. Pour cet individu, l'âge parental était normal (d'environ 30 ans à la naissance). Aucune explication claire ne permet d'expliquer ce phénomène. Une hypothèse qui peut être faite est celle de l'âge avancé du père au moment du prélèvement sanguin et de l'analyse ADN par rapport aux enfants habituellement inclus dans l'étude. Ceci peut aussi suggérer un mosaïcisme germlinal non diagnostiqué chez ses parents ou que le patient puisse présenter une mosaïque somatique.

L'analyse des variants *de novo* ne représente que 3% de l'information génétique contenue dans le génome. Les perspectives de cette étude pourraient être de poursuivre l'étude des familles MPX par l'étude des données du génome complet et des voies biologiques à travers les interactions protéine-protéine. Cette analyse est actuellement en cours de réalisation dans le laboratoire du Pr Bourgeron à l'Institut Pasteur.

5.4.2 Méta-analyse des *NLGN*

La méta-analyse réalisée présente des biais méthodologiques. Tout d'abord, il n'existait pas de recherche automatisable des variants des *NLGN* dans les articles. Par conséquent, les anomalies répertoriées sont soumises aux erreurs de l'examineur. Ensuite, il existe un biais de publications qui visent à publier dans les journaux scientifiques majoritairement des articles qui montrent des anomalies. La méta-analyse aurait donc tendance à sur-évaluer ce qui est trouvé. Une façon de contrôler ce biais est d'inclure des articles qui n'étudiaient pas spécifiquement les anomalies des *NLGN*, mais toutes les anomalies génétiques présentes dans une cohorte de patients avec TSA et de témoins. La plupart des articles inclus est représentée par ce type d'analyses.

Par ailleurs, les données cliniques de la plupart des articles étaient peu détaillées (notamment le sexe des patients et des individus contrôles inclus, ou l'âge). Les analyses statistiques n'ont donc pas pu être co-variées sur ces données.

Une des limites de la méta-analyse est la trop faible description clinique des patients présentant les anomalies spécifiques des *NLGN*. Ce manque partiel d'informations peut être expliqué par la façon dont sont conduites les études. En effet, l'idée de ces études est de lister toutes les anomalies génétiques d'une cohorte de patients avec TSA et non de partir d'une anomalie génétique pour établir un phénotype clinique précis et exhaustif.

5.4.3 Analyse des CNV des *NLGN4*

Les deux couples de primers ne sont pas spécifiques de *NLGN4X* ou *NLGN4Y*, mais de nombreux arguments laisse à penser que c'est *NLGN4Y* qui est atteint dans les micro-délétions et microduplications de la cohorte du fait de :

- la meilleure couverture par les puces conventionnelles de *NLGN4X* (une anomalie aurait déjà été mise en évidence),
- et au contraire la faible couverture de *NLGN4Y*.

Ces résultats seraient à confirmer par une validation par une deuxième méthode indépendante et par l'utilisation en ddPCR de primers spécifiques de chaque gène pour tester les mêmes individus.

Par ailleurs, il serait intéressant de renseigner le caractère hérité ou *de novo* de ces microCNV par l'analyse des apparentés génétique et clinique des patients 2, 3, 4, 7 et 8.

Chapitre 6

Conclusion

6.1 Phénotype des Troubles du Spectre Autistique

Au plan phénotypique, les Troubles du Spectre Autistique ont été l'objet de nombreux remaniements nosographiques, témoignant d'autant d'évolution de la pensée et de la recherche clinique dans ce domaine.

Un rapport de l'Académie de Médecine daté de mars 2015 et présidé par le Professeur Galibert [148] a rendu un avis sur les avancées en matière de recherche clinique et génétique dans les TSA. Il précise la place dans cette pathologie de biomarqueurs morphologiques et neuro-anatomiques qui montrent notamment des macrocéphalies précoces fréquentes en lien avec une croissance cérébrale accélérée durant la petite enfance, ainsi que des modifications morphologiques pouvant être les témoins des anomalies congénitales du développement cérébral. Des biomarqueurs psychophysiologiques tentent également d'accroître les connaissances des symptômes cliniques via l'exploration des interactions et des cognitions sociales chez les patients. Pour exemple, un biomarqueur d'hypersensibilité au changement constaté en IRM fonctionnelle semble corrélé aux scores de gravité de l'autisme.

Compte-tenu de la grande hétérogénéité clinique des TSA, il apparaît important de procéder à des analyses cliniques précises et exhaustives pour tenter d'identifier des facteurs influençant les trajectoires développementales, les symptômes et les comorbidités affectant les patients. L'étude clinique approfondie des individus issus de familles multiplexes tend à montrer une forte agrégation familiale aux TSA associée à une sur-représentation importante d'autres pathologies psychiatriques chez les patients et chez leurs apparentés. Ceci suggère la possibilité d'un recoupement psychopathologique des TSA et des autres pathologies psychiatriques.

6.2 Relations Gènes, Fonctions et Neurodéveloppement

Au stade embryonnaire, la complexité du développement cérébral est régie par l'intervention de nombreux gènes du neurodéveloppement influencés par des facteurs environnementaux et épigénétiques. Durant la petite enfance, le développement cérébral précoce est marqué par une grande plasticité des structures sensorielles, cognitives et motrices où s'établissent un très grand nombre de synapses. La myélinisation du système nerveux va ensuite très fortement inhiber la croissance des neurites entraînant des modifications de la balance excitation-inhibition (respectivement systèmes glutamatergique et GABAergique) [24].

Les voies génétiques affectées dans les TSA sont principalement exprimées dans le système nerveux central et jouent des rôles importants dans le remodelage chromatinien, le métabolisme neuronal, ainsi que la synaptogenèse. Certaines anomalies peuvent toucher l'homéostasie neuronale et par ce biais, la fonction neuronale et synaptique. Par exemple, on observe une réduction du nombre de dendrites dans le syndrome de Rett et la sclérose tubéreuse de Bourneville, mais un accroissement de celui-ci dans le syndrome de l'X fragile.

Les premières atteintes de la synaptogenèse ont été mises en évidence il y a un peu plus de 10 ans, à travers la découverte des premiers gènes identifiés dans les TSA. Jamain et Bourgeron (Institut Pasteur) ont identifiés en 2003 les premières mutations au sein des gènes *NLGN3* et *NLGN4* codant des protéines neuronales transmembranaires d'adhésion intercellulaire. Par la suite, plusieurs équipes ont montré que les Neurexines (*NRXN1-3*) dont les protéines interagissent avec les *NLGN*, étaient également impliquées dans les TSA. Les Neurexines et Neuroligines sont ensemble responsables de la formation et du maintien des jonctions synaptiques.

L'analyse des anomalies génétiques des *NLGN* présentes chez patients atteints de TSA permet de préciser la rareté de survenue de celles-ci, ainsi que le rôle de ces gènes dans la pathogénie de ces troubles. Cette étude suggère une implication importante de cette famille de gènes dans la survenue du phénotype clinique des Troubles du Spectre Autistique, et notamment des gènes *NLGN4X* et *NLGN4Y* qui avait été peu étudié jusque-là.

Les anomalies des *NLGN* génèrent des atteintes de sévérité différentes fonction du gène touché, de l'anomalie présentée et de la possible compensation de cette anomalie due à la forte homologie de ces gènes (phénomène de compensation génique partielle). Par ailleurs, il est suggéré que les mutations des gènes des *NLGN* ne sont pas limitées à l'autisme, des mutations ayant été identifiées dans d'autres pathologies et notamment dans la déficience intellectuelle.

L'étude des variants *de novo* se révèle vite très limitée pour expliquer le phénotype psychiatrique des patients. L'intérêt de l'étude des familles multiplexes réside dans la mise en évidence des anomalies héritées en plus *de novo*. L'analyse des variants exoniques de ces familles montrent que les mutations *de novo* surviennent globalement à la même fréquence chez les patients de familles simplexes et multiplexes. En revanche, ces variants *de novo* semblent plus fréquents chez leurs apparentés des familles multiplexes que ceux des familles simplexes, faisant évoquer de nouvelles hypothèses quant à leur mode de survenue. Les études du génome complet permettront peut-être à l'avenir d'en connaître davantage sur ces mécanismes de survenue.

Ensuite, les bases de données et les nombreuses études révèlent une grande hétérogénéité génétique des TSA. Il semble que le modèle monogénique soit insuffisant à expliquer les étiologies génétiques de l'autisme. Ceci oriente davantage vers un modèle polygénique de ces troubles. C'est dans ce cadre que le Professeur Bourgeron décrit le modèle additif du "Multiple-Hit" [87], dont la compréhension n'est possible qu'à travers une interprétation des corrélations génotype-phénotype.

6.3 Corrélations génotype-phénotype dans les Troubles du Spectre Autistique

Ainsi, les Troubles du Spectre Autistique apparaissent comme un modèle de maladie neuro-développementale complexe due à la conjonction d'étiologies génétiques, épigénétiques et environnementales. Les études familiales permettent de mettre en évidence certains de ces facteurs. Dans ce type de pathologie, il est difficile d'évaluer la part des causes environnementales dans la survenue des symptômes. Il semble qu'une analyse clinique des familles simplexes ne permette pas d'établir le "poids" respectif imparti aux étiologies génétiques et environnementales. Seule l'agrégation intrafamiliale observée dans les familles multiplexes permet d'apprécier la composante génétique du phénotype.

Dans les familles multiplexes, l'étude clinique détaillée des patients et de leurs apparentés met en exergue un taux important de pathologies psychiatriques associées par rapport aux prévalences en population générale. Ceci suggère une susceptibilité génétique de ces familles à l'ensemble des pathologies psychiatriques. L'exemple de la famille MPX11 montre comment l'analyse précise des variants délétères transmis et *de novo* en fonction du phénotype psychiatrique permet de donner une image globale du risque génétique familial. Pour conclure, l'étude des familles multiplexes montre que les variants *de novo* ne peuvent expliquer à eux-seuls le phénotype et que les études de grandes cohortes de familles multiplexes permettent d'accroître les connaissances dans le domaine de la génétique des TSA. Néanmoins, il apparaît crucial de privilégier une étude famille par famille

qui seule peut mettre en perspective les phénotypes cliniques et les variants génétiques impliqués dans la pathogénie. Pour compléter encore la compréhension des corrélations génotype-phénotype, l'étude du génome complet pourrait représenter un approfondissement supplémentaire des connaissances en Recherche. En revanche, il semble difficile que cette étude soit pour le moment applicable aux conditions de diagnostic en génétique médicale.

L'étude des phénotype psychiatrique précis pourrait permettre d'évoquer des anomalies ciblées à rechercher de manière privilégiée lors du diagnostic. En revanche, comme le montre l'exemple des gènes *NLGN4X* et *NLGN4Y*, la mise en évidence d'anomalies est dépendante des limites des techniques utilisées. Cette étude suggère la performance de la ddPCR pour le diagnostic de microdélétion et microduplication.

Dans l'idée de mener à bien la mise en évidence des corrélations génotype-phénotype, l'accent porté au travail conjoint entre psychiatres et généticiens permettra à l'avenir de réaliser des études médicales d'autant plus pertinentes, de poursuivre la perspective d'une meilleure compréhension des modèles physiopathologiques de ces troubles et d'apporter un service rendu concret aux patients et à leur famille.

Chapitre 7

Perspectives : Innovations thérapeutiques

7.1 Repérage clinique et prise en charge précoces

Les études cliniques des trajectoires développementales permettent de mettre en évidence dans la petite enfance des patients à bas risque et des patients à haut-risque de TSA et de mieux décrire leur évolution et pronostic cliniques. Les patients à haut-risque sont ceux présentant dès les premiers mois de vie des symptômes autistiques, un tableau de régression développementale, ou ayant des frères et soeurs atteints de TSA.

La description phénotypique de cohortes de patients à haut-risque vise à mettre en évidence des symptômes spécifiques de survenue précoce chez les bébés de moins de 36 mois. Ce repérage a pour objectif de débiter une prise en charge rééducative précoce et adaptée, comme le recommande la Haute Autorité de Santé.

Seulement cette prise en charge thérapeutique précoce n'est possible que si un dépistage est réalisé de façon systématique. Ceci passe donc par la sensibilisation et la formation des professionnels de santé de première ligne (pédiatres, médecins généralistes) et des personnels de la petite enfance (infirmières puéricultrices, psychologues, assistantes maternelles), afin d'orienter directement ces enfants à haut-risque vers des structures de diagnostic et de prise en charge spécialisées.

7.2 Modèles animaux des TSA

Dans de nombreuses pathologies monogéniques, les chercheurs s'essaient à créer des animaux porteurs d'une mutation d'un gène homologue au gène responsable du phénotype

chez l'Homme. Dans les TSA, plusieurs modèles animaux sont utilisés pour tester les effets des mutations délétères survenues dans des gènes candidats.

Un modèle de ver nématode (*C. elegans*) a notamment été proposé pour l'étude des mutations dans des gènes responsables du neurodéveloppement. Ce ver, pourtant très éloigné physiologiquement de l'Homme, peut représenter un modèle d'étude intéressant puisqu'il a la particularité de posséder un développement embryonnaire invariant très bien documenté et dont les cellules ont la particularité d'être transparentes. Ce gène a été proposé dans un article comme possible modèle d'étude des Neurologines et des Neurexines [149].

Plus classiquement, des modèles murins sont régulièrement utilisés dans les études *in vivo* de modèles animaux de TSA. Les études comportementales des souris mutées pour des gènes candidats des TSA ont montrés des comportements proches des symptômes autistiques (par exemple, défaut d'exploration de l'environnement, modifications des vocalisations et de socialisation, comportements d'automutilation par lavage répétitif excessif) [150, 151].

L'identification des modèles animaux des TSA permet de mieux comprendre les mécanismes neurodéveloppementaux impliqués et d'envisager le développement de nouvelles pistes de traitement. Les stratégies thérapeutiques à l'épreuve chez la souris peuvent cibler les dysfonctionnements à l'échelle génétique et cellulaire en corrigeant directement la déficience d'un gène par un gène-médicament (thérapie génique), en surexprimant un gène qui va venir compenser le défaut d'expression d'un autre, en régulant l'expression d'un gène qui serait surexprimé par des ARN interférents ou en modulant directement le nombre d'ARN messagers produits. Des essais de ce type pour les gènes *FMR1* et *MECP2* ont déjà montré des résultats prometteurs [152, 153]. Une amélioration partielle de l'intérêt social de souris testées a été mise en évidence avec un traitement par ampakine, responsable d'une facilitation de la transmission glutamatergique. Certaines réversions phénotypiques observées chez des modèles murins *MECP2 Knock out* remettent en cause le caractère neurodéveloppemental fixé de certains troubles. Ces études ouvrent d'importantes possibilités thérapeutiques pour l'avenir.

De plus, des molécules pharmacologiques peuvent être testées sur des modèles murins et plus facilement encore sur des neurones en culture. Des "screenings" à haut débit de molécules pharmacologiques (impliquant plus d'un million de molécules) commencent à être réalisés sur des cellules pour lesquels une anomalie génétique est connue. Cela permet de rechercher les molécules les plus efficaces pour reverser un phénotype cellulaire anormal lié à une mutation génétique.

7.3 Traitements pharmacogénétiques pour des terrains génétiques complexes : vers le développement d'essais cliniques et de traitements personnalisés

Quelques essais thérapeutiques sur des patients (phase 2) sont en cours de réalisation dans les TSA. Citons pour exemple l'essai thérapeutique qui est conduit pour tester l'efficacité et la tolérance d'un diurétique de l'anse sur la réduction des symptômes autistiques ; essai qui fait suite à des résultats préliminaires obtenus chez la souris [154]. Ou encore l'essai thérapeutique testant l'efficacité de l'administration *per os* de sulforaphane, une protéine extraite du brocoli dont les résultats sont très prometteurs et dont la tolérance semble excellente [155]. Des résultats contradictoires concernant l'administration d'ocytocine ne semblent pas montrer d'amélioration des symptômes autistiques [156]. La figure 7.1 montre les gènes ciblés par des "screening" pharmacologiques étendus [24].

Pour prouver l'efficacité d'un traitement médicamenteux, les essais thérapeutiques doivent mettre en évidence l'efficacité du traitement au plan symptomatique sur une population étendue de patients. Seulement, l'hétérogénéité génétique des patients qui se traduit cliniquement par une hétérogénéité symptomatique engendre des difficultés majeures dans la prévision de la réponse à un traitement pharmacologique. Les anomalies génétiques spécifiques à un patient lui confèrent une homéostasie cérébrale particulière sur le plan synaptique, fonctionnel et ionique.

Actuellement, en plus des modèles animaux, les grandes voies de recherche concernent la création de modèles d'étude *ex vivo*. Il est actuellement possible d'obtenir des neurones en conditions expérimentales par différenciation de fibroblastes de patients présentant une anomalie génétique connue. Cette stratégie d'étude innovante permettra de tester un grand nombre de thérapeutiques futures et d'ainsi procéder à la sélection de traitements personnalisés correspondant aux mutations génétiques de chaque patient avec autisme. Cette approche pharmacogénétique paraît d'autant plus indispensable que le traitement médicamenteux des patients atteints de TSA et présentant parfois des comorbidités psychiatriques relève actuellement du défi pour tout psychiatre même expérimenté.

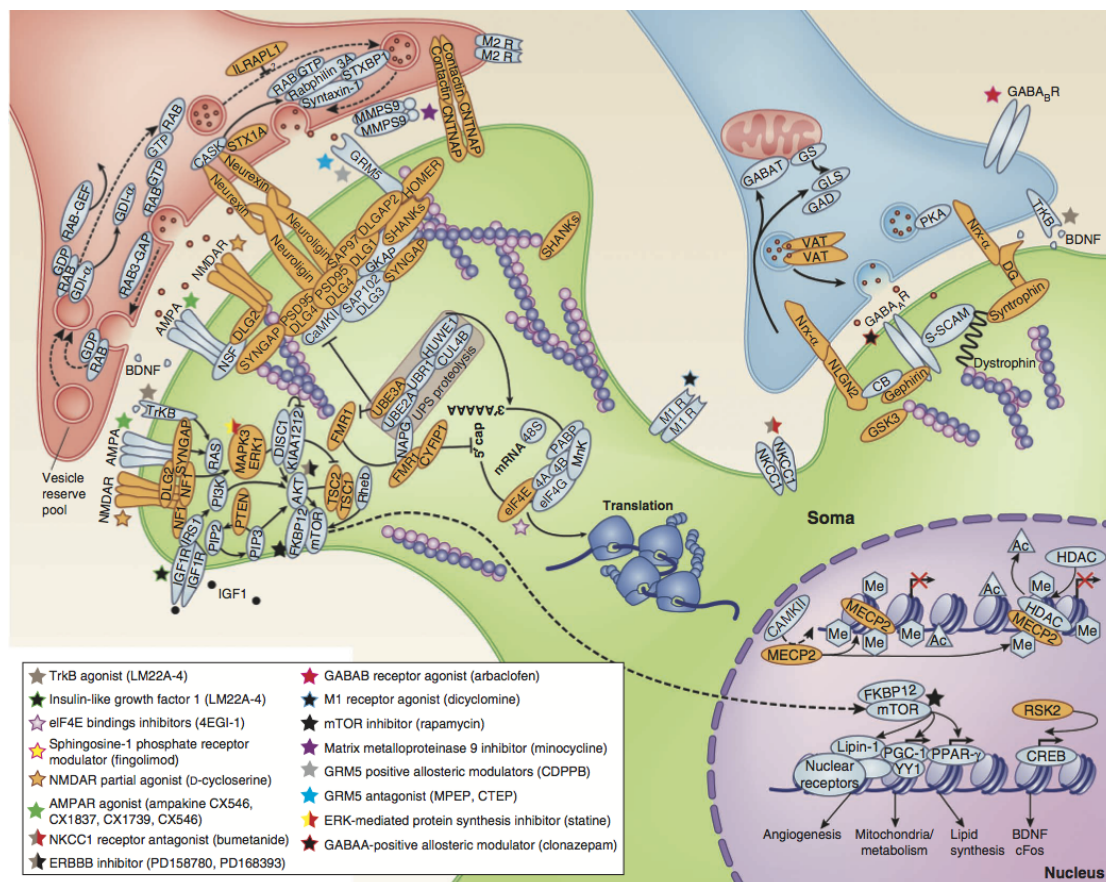


FIGURE 7.1: Protéines synaptiques impliquées dans les TSA et les traitements qui ont été testés dans les modèles murins d'autisme ou dans des essais cliniques (En orange : Les protéines associées aux TSA, en bleu : facteurs impliqués dans les "pathways" auxquels les protéines associées aux TSA participent, une étoile indique les molécules pharmacologiques utilisées pour tenter de réverser les symptômes autistiques) (Source : Delorme, Nat Med., 2013) [24]

Annexe A

Annexes

A.1 Annexe 1 (chapitre 1)

Critères diagnostiques des Troubles du Spectre Autistique (DSM-V) :

A. Difficultés persistantes sur le plan de la communication et des interactions sociales (présentes ou à l'histoire) (3 de 3 symptômes).

1. Difficulté de réciprocité socio-émotionnelle (initiative et réponse sociale, conversation, partage d'intérêt et d'émotions).

2. Déficit dans la communication non-verbale (coordination des moyens de communication verbaux et non verbaux; intégration des moyens verbaux et non-verbaux au contexte; utilisation et compréhension du contact visuel, des gestuelles, de la posture, des expressions faciales).

3. Difficulté à développer, maintenir et comprendre des relations sociales appropriées pour l'âge; difficulté à adapter son comportement à différents contextes sociaux, difficulté à partager le jeu symbolique et imaginaire avec autrui, absence manifeste d'intérêt pour autrui.

B. Comportements stéréotypés et intérêts restreints (présent ou à l'histoire) (2 de 4 symptômes)

1. Utilisation de mouvements répétitifs/stéréotypés, utilisation particulière du langage (écholalie différée, phrases idiosyncratiques, propos stéréotypés) et des objets (p.ex. alignement d'objets, rotation d'objets).

2. Insistance sur la similitude, aux routines et rituels verbaux ou non verbaux (p.ex. détresse importante face aux moindres changements, difficultés avec les transitions, pensées rigides, rituels de salutation figés, nécessité des mêmes itinéraires, manger la même nourriture, etc.)

3. Intérêts restreints, limités ou atypiques quant à l'intensité et au type d'intérêt (p.ex. attachement excessif à un objet inhabituel, ou intérêts trop limités à certains sujets ou prenant une place très importante).

4. Hyper ou hypo réactivité à des stimuli sensoriels ou intérêt inhabituel envers des éléments sensoriels de l'environnement (p.ex. Indifférence à la douleur/température, réponse négative à certains sons ou textures, fascination pour les lumières ou objets qui tournent.

C. Les symptômes doivent être présents depuis la petite enfance mais il est possible qu'ils se manifestent pleinement seulement au moment où les demandes sociales dépassent les capacités individuelles.

D. Les symptômes limitent ou altèrent le fonctionnement quotidien.

E. Perturbations pas mieux expliquées par une déficience intellectuelle (DI) ou un retard global de développement.

Le diagnostic devrait spécifier : - Le fonctionnement intellectuel (Avec ou sans DI) ; - Le développement langagier - Si le TSA est associé à une condition médicale (p.ex. épilepsie), génétique (p.ex. Syndrome de Rett, X fragile ou syndrome de Down) ou environnementale (p.ex. petit poids à la naissance, exposition à l'alcool). - Présence de comorbidité (TDAH, TAC, troubles anxieux, dépression, Gilles de la Tourette, etc.).

Source : DSM-V

A.2 Annexe 2 (chapitre 1)

Merci de remplir ce questionnaire en considérant la façon dont votre enfant se comporte habituellement. Essayez de répondre à toutes les questions. Si le comportement est rare (par exemple, si vous avez vu votre enfant agir de cette façon seulement une ou deux fois), répondez comme si votre enfant ne le faisait pas.

1. Est-ce que votre enfant vous regarde quand vous l'appellez par son prénom ?

- toujours
- souvent
- parfois
- rarement
- jamais



2. Est-il facile pour vous d'avoir un contact visuel avec votre enfant ?

- très facile
- facile
- difficile
- très difficile
- impossible



3. Quand votre enfant est en train de jouer, est-ce qu'il aligne les objets ?

- toujours
- souvent
- parfois
- rarement
- jamais



4. Est-ce que les gens peuvent facilement comprendre le langage de votre enfant ?

- toujours
- souvent
- parfois
- rarement
- jamais
- mon enfant ne parle pas



5. Est-ce que votre enfant pointe pour montrer qu'il veut quelque chose (comme un jouet qui est hors de sa portée) ?

- plusieurs fois par jour
- quelques fois par jour
- quelques fois par semaine
- moins d'une fois par semaine
- jamais



6. Est-ce que votre enfant pointe pour attirer votre attention sur quelque chose qui l'intéresse ?

- plusieurs fois par jour
- quelques fois par jour
- quelques fois par semaine
- moins d'une fois par semaine
- jamais



FIGURE A.1: Q-CHAT

7. Combien de temps votre enfant peut-il être intéressé par un objet qui tourne (comme le tambour d'une machine à laver, un ventilateur, les roues d'une petite voiture) ?
- plusieurs heures
 - une demi-heure
 - dix minutes
 - deux minutes
 - moins d'une minute



8. Combien de mots votre enfant prononce-t-il ?
- aucun, il n'a pas encore commencé à parler
 - moins de 10 mots
 - entre 10 et 50 mots
 - entre 51 et 100 mots
 - plus de 100 mots



9. Est-ce que votre enfant joue à faire semblant (comme jouer avec des poupées, parler dans un téléphone jouet) ?
- plusieurs fois par jour
 - quelques fois par jour
 - quelques fois par semaine
 - moins d'une fois par semaine
 - jamais



10. Est-ce que votre enfant peut regarder ce que vous êtes en train de regarder ?
- plusieurs fois par jour
 - quelques fois par jour
 - quelques fois par semaine
 - moins d'une fois par semaine
 - jamais



11. Est-ce que votre enfant sent ou lèche souvent les objets ?
- plusieurs fois par jour
 - quelques fois par jour
 - quelques fois par semaine
 - moins d'une fois par semaine
 - jamais



12. Est-ce que votre enfant place votre main sur un objet pour vous faire faire quelque chose à sa place (sur la poignée d'une porte pour l'ouvrir, sur un jouet pour le mettre en marche) ?
- plusieurs fois par jour
 - quelques fois par jour
 - quelques fois par semaine
 - moins d'une fois par semaine
 - jamais



FIGURE A.2: Q-CHAT

13. Est-ce que votre enfant marche sur la pointe des pieds ?

- toujours
- souvent
- parfois
- rarement
- jamais



14. Est-il facile pour votre enfant de s'adapter aux changements de routines ou quand les choses ne sont pas à leur place habituelle ?

- très facile
- facile
- difficile
- très difficile
- impossible



15. Si vous ou quelqu'un de votre famille est triste, est-ce que votre enfant essaie de le reconforter (par exemple en lui faisant une caresse ou en le prenant dans ses bras) ?

- toujours
- souvent
- parfois
- rarement
- jamais



16. Est-ce que votre enfant fait des choses de façon répétée, encore et encore (comme ouvrir le robinet, allumer/éteindre les lumières, ouvrir/fermer les portes) ?

- plusieurs fois par jour
- quelques fois par jour
- quelques fois par semaine
- moins d'une fois par semaine
- jamais



17. Les premiers mots de votre enfant étaient :

- très typiques
- typiques
- légèrement atypiques
- très atypiques
- mon enfant ne parle pas



18. Est-ce que votre enfant répète des choses qu'il a entendues (des mots que vous venez de dire, des passages de chanson ou de dessins-animés, des bruits) ?

- plusieurs fois par jour
- quelques fois par jour
- quelques fois par semaine
- moins d'une fois par semaine
- mon enfant ne parle pas



FIGURE A.3: Q-CHAT

19. Est-ce que votre enfant utilise des gestes conventionnels (comme faire au revoir de la main) ?

- plusieurs fois par jour
- quelques fois par jour
- quelques fois par semaine
- moins d'une fois par semaine
- jamais



20. Est-ce que votre enfant fait des mouvements bizarres des doigts près de ses yeux ?

- plusieurs fois par jour
- quelques fois par jour
- quelques fois par semaine
- moins d'une fois par semaine
- jamais



21. Est-ce que votre enfant observe spontanément votre visage pour vérifier votre réaction lorsqu'il est confronté à une situation nouvelle ?

- toujours
- souvent
- parfois
- rarement
- jamais



22. Combien de temps votre enfant peut-il s'intéresser à un ou deux objets ?

- toute la journée
- plusieurs heures
- une demi-heure
- dix minutes
- deux minutes



23. Est-ce que votre enfant tripote avec ses doigts des objets de façon répétée (comme des bouts de ficelle) ?

- plusieurs fois par jour
- quelques fois par jour
- quelques fois par semaine
- moins d'une fois par semaine
- jamais



24. Est-ce que votre enfant semble hypersensible aux bruits ?

- toujours
- souvent
- parfois
- rarement
- jamais



25. Est-ce que votre enfant regarde fixement dans le vide, sans but apparent ?

- plusieurs fois par jour
- quelques fois par jour
- quelques fois par semaine
- moins d'une fois par semaine
- jamais



FIGURE A.4: Q-CHAT

A.3 Annexe 3 : protocole d'inclusion clinique (chapitre 3)

ETUDE C07-33	Identification du sujet			CLINIQUE	page
	C0733 - [] [] [] - [] [] [] - [] [] []			Cahier n°1 Evaluation clinique	28/54
	n° centre	n° famille	n° sujet		

G. 1. 5. MCDD (multiple complex developmental disorders) Non pour tous les critères

	Oui	Non	Inconnu
1. Déficit dans la régulation des états affectifs ou de l'anxiété :			
a. Peurs ou phobies inhabituelles ou particulières	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
b. Réactions anxieuses idiosyncrasiques ou bizarres fréquentes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
c. Attaques de panique récurrentes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
d. Episodes ponctuels de désorganisation ponctués par des comportements immatures ou violents prononcés	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
2. Déficit dans les comportements sociaux			
a. Désintérêt social, détachement, évitement, retrait	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
b. Attachement visiblement perturbé ou ambivalent	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
3. Présence d'un trouble de la pensée			
a. Pensée magique et irrationnelle	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
b. Intrusions subites dans un processus de pensée normal	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
c. Idées bizarres	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
d. Répétition de mots n'ayant aucun sens ou néologismes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
e. Facilement perplexe ou confus	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
f. Idées de grandeur, dont fantasme d'omnipotence	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
g. Préoccupations paranoïaques, persécutives	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
h. Surinvestissement de figures ou personnages fantasmés ou imaginaires	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
i. Idées de référence	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

G. 1. 6. AUTISM DIAGNOSTIC INTERVIEW-REVISED (ADI-R) 3ème édition (1995)

Date de l'entretien Non fait

Age auquel a été réalisé l'ADI : an mois

Nom de l'examineur :

Parenté de la personne interrogée : 0= mère 1 = père
 2 = autre tuteur 3 = combinaison de plusieurs entretiens

Version ADI : ADI (1988) ADI-R (1995)

Informations préliminaires			
1	Préoccupations actuelles	A	<input type="text"/>
		B	<input type="text"/>
		C	<input type="text"/>
		D	<input type="text"/>
Développement dans la petite enfance			
2	Age auquel les parents ont noté pour la première fois quelque chose d'anormal <i>(coter en mois)</i>		<input type="text"/>
3	Premiers symptômes qui ont inquiété les parents	A	<input type="text"/>
		B	<input type="text"/>
		C	<input type="text"/>
		D	<input type="text"/>
4	Age auquel les parents ont pour la première fois demandé un avis <i>(coter en mois)</i>		<input type="text"/>
5	Age de début (estimé après coup) <i>(code)</i>		<input type="text"/>
6	Position assise sans aide sur une surface plane		<input type="text"/>
7	Marche sans aide		<input type="text"/>
8	Contrôle de la vessie - propreté diurne		<input type="text"/>
9	Contrôle de la vessie - propreté nocturne		<input type="text"/>
10	Contrôle des selles		<input type="text"/>

FIGURE A.5: ADI-R

ETUDE C07-33	Identification du sujet			CLINIQUE	page
	C0733 - [] - [] - []	[] - [] - []	[] - []	Cahier n°1 Evaluation clinique	29/54
	n° centre	n° famille	n° sujet		

Communication					
11	Utilisation du corps de l'autre pour communiquer	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
12	Age des premiers mots isolés	(coter en mois)			
13	Age des premières phrases	(coter en mois)			
14	Articulation / prononciation	Actuellement (si ≥ 4 ans)			
		A 5 ans			
15	Complexité des énoncés non produits en écho	Actuellement			
		A 5 ans			
16	Vocalisation sociale / bavardage	Actuellement			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
17	Echolalie immédiate	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
18	Phrases stéréotypées et écholalie différée	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
19	Niveau global de langage	Actuellement			
20	Réciprocité de la conversation	Actuellement			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
21	Paroles exprimant de l'intérêt pour les autres	Actuellement			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
22	Questions ou commentaires inappropriés	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
23	Inversion pronominale	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
24	Néologismes / langage idiosyncrasique	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
25	Rituels verbaux	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
26	Intonation / volume / rythme / débit	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
27	Expression vocale	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
28	Langage communicatif actuel	Actuellement			
		A 5 ans			
29	Imitation spontanée des actions	Actuellement (si < 10 ans)			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
30	Pointer pour exprimer de l'intérêt	Actuellement			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
31	Gestes conventionnels / instrumentaux	Actuellement			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
32	Acquiescer de la tête	Actuellement			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
33	Faire non de la tête	Actuellement			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
34	Attention portée à la voix	Actuellement (si < 5 ans)			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
34A	Compréhension du langage simple	Actuellement			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
35	Suspicion d'un problème auditif	Actuellement ou dans le passé			
36	Sensibilité excessive au bruit	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
37	Niveau de langage communicatif avant la perte	Actuellement ou dans le passé			
38	Perte : parole spontanée, ayant un sens et communicative	Actuellement ou dans le passé			
39	Perte : mots utilisés spontanément, mais sans intention communicative claire	Actuellement ou dans le passé			
40	Perte : syntaxe simple	Actuellement ou dans le passé			
41	Perte : articulation	Actuellement ou dans le passé			
Développement social et jeu					
42	Regard direct	Actuellement (si < 4 ans)			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
43	Sourire social	Actuellement			
		Le plus anormal entre 4 et 5 ans			
44	Accueil	Actuellement			

FIGURE A.6: ADI-R

ETUDE C07-33	Identification du sujet			CLINIQUE	page
	C0733 - [] [] [] [] - [] [] [] [] - [] [] [] [] n° centre n° famille n° sujet			Cahier n°1 Evaluation clinique	30/54
45	Montrer et diriger l'attention	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
46	Offres de partage	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
47	Cherche à faire partager son propre plaisir	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
48	Partage le plaisir des autres	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
49	Offre du réconfort	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
50	Recherche du réconfort	Actuellement (si < 10 ans)			
51	Qualité des initiatives sociales	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
52	Variété d'expression faciale utilisée pour communiquer	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
53	Expression faciale inappropriée	Actuellement			
54	Tendre les bras pour être porté	Actuellement (si < 4 ans)			
55	Affection	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
56	Desinhibition sociale	Actuellement (si ≥ 4 ans)			
57	Adéquation des réponses sociales	Le plus anormal entre 4-5 ans	Actuellement		
58	Anxiété sociale / évitement	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
59	Utilisation des parents comme base de sécurité	Actuellement (si < 4 ans)			
60	Anxiété de séparation	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement (si < 4 ans)		
61	Initiation d'activités appropriées	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
62	Curiosité	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement		
63	Jeux imaginatifs	Actuellement (si < 10 ans)			
64	Jeux imaginatifs avec les pairs	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement (si < 10 ans)		
65	Jeu social imitatif	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement (si < 10 ans)		
66	Intérêt pour les autres enfants	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement (si < 10 ans)		
67	Réponses aux approches d'autres enfants	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement (si < 10 ans)		
68	Jeux de groupe avec les pairs	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement (si < 10 ans)		
69	Amitiés	Le plus anormal entre 4 et 5 ans	Actuellement (si ≥ 5 ans)		
		Le plus anormal entre 10-15 ans			
Intérêts et comportements					
70	Intérêts restreints	Actuellement (si > 4 ans)			
		Actuellement ou dans le passé (si ≥ 4 ans)			
71	Préoccupations inhabituelles	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
72	Utilisation répétitive d'objets ou intérêt pour des parties d'objets	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
73	Difficultés lors des changements mineurs des habitudes du sujet ou de son environnement personnel	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
74	Résistance lors des changements peu importants de l'environnement	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			
75	Compulsions / rituels	Actuellement			
		Actuellement ou dans le passé			

C1 - Evaluation clinique

Version du 01 mai 2011

FIGURE A.7: ADI-R

ETUDE C07-33	Identification du sujet			CLINIQUE	page	
	C0733 - [] [] [] [] - [] [] [] [] - [] [] [] []	n° centre	n° famille	n° sujet	Cahier n°1 Evaluation clinique	31/54
76	Attachement inhabituel à des objets				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
77	Intérêts sensoriels inhabituels				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
78	Réponse idiosyncrasique négative à des stimuli sensoriels spécifiques				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
79	Peurs inhabituelles				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
80	Hyperventilation				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
81	Maniérisme des mains et des doigts				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
82	Mouvements médians des deux mains				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
83	Perte de l'utilisation intentionnelle des mains				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
84	Autres maniérismes complexes et mouvements stéréotypés du corps				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
85	Balancements				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
Comportements généraux						
86	Démarche				Actuellement	[] []
					Le plus anormal entre 4 et 5 ans	[] []
87	Scoliose				Actuellement	[] []
88	Coordination motrice globale				Actuellement	[] []
					Le plus anormal entre 4 et 5 ans	[] []
89	Coordination motrice fine				Actuellement	[] []
					Le plus anormal entre 4 et 5 ans	[] []
90	Automutilations				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
91	Hyperactivité à la maison et ailleurs				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
91B	Agression envers des membres de la famille				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
91C	Agression envers des personnes externes à la famille				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
92	Malaises - convulsions - pertes de connaissance				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
93	Age où une anomalie a été repérée pour la première fois				(code)	[] []
94	Jugement de l'investigateur sur l'âge auquel les anomalies du développement se sont manifestées pour la première fois				(coter en mois)	[] [] [] []
95	Perte d'acquisitions (pendant au moins 3 mois)				Avant 5 ans	[] []
					Après 5 ans	[] []
96	Perte d'acquisitions associée à des troubles somatiques				Avant 5 ans	[] []
					Après 5 ans	[] []
97	Domaine de régression : communication				Avant 5 ans	[] []
					Après 5 ans	[] []
98	Domaine de régression : intérêt pour autrui et réceptivité sociale				Avant 5 ans	[] []
					Après 5 ans	[] []
99	Domaine de régression : jeu et imagination				Avant 5 ans	[] []
					Après 5 ans	[] []
100	Domaine de régression : capacités adaptatives				Avant 5 ans	[] []
					Après 5 ans	[] []
101	Domaine de régression : aptitudes pré-scolaires, scolaires ou professionnelles				Avant 5 ans	[] []
					Après 5 ans	[] []
102	Domaine de régression : aptitudes motrices				Avant 5 ans	[] []
					Après 5 ans	[] []
103	Age auquel la majeure partie des régressions sont apparues				(coter en mois)	[] [] [] []
104	Détérioration progressive					[] [] [] []
105	Durée de la période de détérioration					[] [] [] []
106	Aptitudes spéciales : aptitudes visuo-spatiales				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []
107	Aptitudes spéciales : capacités mnésiques				Actuellement	[] []
					Actuellement ou dans le passé	[] []

C1 - Evaluation clinique

Version du 01 mai 2011

FIGURE A.8: ADI-R

ETUDE C07-33	Identification du sujet			CLINIQUE	page
	C0733 - [] [] [] [] - [] [] [] [] - [] [] [] [] n° centre n° famille n° sujet			Cahier n°1 Evaluation clinique	32/54
108	Aptitudes spéciales : musique			Actuellement	[] []
				Actuellement ou dans le passé	[] []
109	Aptitudes spéciales : dessin			Actuellement	[] []
				Actuellement ou dans le passé	[] []
110	Aptitudes spéciales : lecture			Actuellement	[] []
				Actuellement ou dans le passé	[] []
111	Aptitudes spéciales : calcul			Actuellement	[] []
				Actuellement ou dans le passé	[] []

Algorithme ADI-R / Pour les enfants < 4 ans utiliser les scores "actuellement", et pour les autres enfants les scores "le plus anormal entre 4 et 5 ans" sauf lorsque cela est spécifié. Convertir les scores 3 en 2 pour l'algorithme

B. Anomalies de l'interaction sociale			
B1 Comportements non verbaux	42	[] []	
	43	[] []	
	52	[] []	
	Total B1	[] []	
B2 Relations avec les pairs	64	[] []	
	66	[] []	si >4 ans
	67	[] []	
	68 ou 69	[] []	68= 4-10 ans; 69= 10-15ans
Total B2	[] []		
B3 Plaisir partagé	45	[] []	
	46	[] []	
	47	[] []	
	Total B3	[] []	
B4 Réciprocité socio-émotionnelle	11	[] []	
	49	[] []	
	51	[] []	
	53	[] []	
	57	[] []	
Total B4	[] []		
Total B = B1 + B2 + B3 + B4		[] []	(seuil = 10)
C. Communication			
C1 Gestes pour compenser langage	30	[] []	
	31	[] []	
	32	[] []	
	33	[] []	
Total C1	[] []		
C4 Imitation	29	[] []	si >4 ans
	63	[] []	
	65	[] []	
Total C4	[] []		
<i>Pour les sujets ayant un langage (niveau global de langage, item 19=0) :</i>			
C2V Conversation	16	[] []	le plus anormal entre 4 et 5
	20	[] []	actuellement
Total C2V	[] []		
C3V Langage stéréotypé	18	[] []	
	22	[] []	
	23	[] []	
	24	[] []	
Total C3V	[] []		
Total Verbal = C1 + C4 + C2V + C3V		[] []	(seuil = 8)
Total Non Verbal = C1 + C4		[] []	(seuil = 7)

FIGURE A.9: ADI-R

ETUDE C07-33	Identification du sujet			CLINIQUE	page
	C0733 - [] [] [] [] - [] [] [] [] - [] [] [] []			Cahier n°1 Evaluation clinique	33/54
	n° centre	n° famille	n° sujet		
D. Comportements répétitifs					
D1 Intérêts restreints	70	[] []		<i>si >4 ans</i>	
	71	[] []			
	Total D1	[] []			
D2 Rituels	25	[] []			
	75	[] []			
	Total D2	[] []			
D3 Maniérismes moteurs	81 ou 84	[] []		<i>(score le plus haut)</i>	
	Total D3	[] []			
D4 Intérêts sensoriels inhabituels	72 ou 77	[] []		<i>(score le plus haut)</i>	
	Total D4	[] []			
	Total D = D1 +D2 + D3 + D4	[] []		(seuil = 3)	
Anomalie à ou avant 36 mois					
	2	[] []		<i>si <36, =1</i>	
	93	[] []		<i>si 3 ou 4, =1</i>	
	94	[] []		<i>si <36, =1</i>	
	12	[] []		<i>si >24, =1</i>	
	13	[] []		<i>si >36, =1</i>	
	Total Onset	[] []		(seuil = 1)	
Critères Diagnostiques ADI-R					
Diagnostic de l'autisme selon ADI-R					
Si seuil est rempli dans tous les domaines (B, C, D et Anomalie à ou avant 36 mois) : <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non					

G. 1. 7. Autism Diagnostic Observation Schedule (ADOS)

Date de l'examen [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] Non fait

Age auquel a été réalisé l'ADOS : [] [] ans [] [] mois

Nom de l'examineur : _____

Module ADOS : 1 2 3 4

FIGURE A.10: ADI-R

ETUDE C07-33	Identification du sujet			CLINIQUE	page
	C0733 - [] [] [] - [] [] [] - [] [] []			Cahier n°1 Evaluation clinique	34/54
	n° centre	n° famille	n° sujet		

Module 1 / ATTENTION Pour l'algorithme, convertir les scores 3 en 2, et traiter tous les scores autres que 0-3 comme 0)

Question	Variable	Score	Algorithme
Langage et Communication			
1	Niveau général de langage non écholalique	A1	<input type="checkbox"/>
2	Fréquence des vocalisations dirigées vers les autres	A2	→ <input type="checkbox"/>
3	Intonation des vocalisations ou verbalisations	A3	<input type="checkbox"/>
4	Echolalie immédiate	A4	<input type="checkbox"/>
5	Utilisation stéréotypé/Idiosyncrasique de mots ou de phrases	A5	→ <input type="checkbox"/>
6	Utilisation du corps de l'autre pour communiquer	A6	→ <input type="checkbox"/>
7	Pointer	A7	→ <input type="checkbox"/>
8	Gestes	A8	→ <input type="checkbox"/>
Total Communication (seuil autisme=4, TSA = 2)			<input type="checkbox"/>
Interaction Sociale Réciproque			
1	Contact oculaire inhabituel	B1	→ <input type="checkbox"/>
2	Sourire social en réponse	B2	<input type="checkbox"/>
3	Expressions faciales dirigées vers les autres	B3	→ <input type="checkbox"/>
4	Intégration du regard et des autres comportements durant les ouvertures sociales	B4	<input type="checkbox"/>
5	Plaisir partagé dans l'interaction	B5	→ <input type="checkbox"/>
6	Réponse à l'appel de son prénom	B6	<input type="checkbox"/>
7	Demande	B7	<input type="checkbox"/>
8	Donner	B8	<input type="checkbox"/>
9	Montrer	B9	→ <input type="checkbox"/>
10	Initiation spontanée de l'attention conjointe	B10	→ <input type="checkbox"/>
11	Réponse à l'attention conjointe	B11	→ <input type="checkbox"/>
12	Qualité des ouvertures sociales	B12	→ <input type="checkbox"/>
Total Social (seuil autisme = 7, TSA = 4)			<input type="checkbox"/>
Total Communication + Social (seuil autisme = 12, TSA = 7)			<input type="checkbox"/>
Jeu			
1	Jeu fonctionnel avec des objets	C1	→ <input type="checkbox"/>
2	Imagination/Créativité	C2	→ <input type="checkbox"/>
Total C			<input type="checkbox"/>
Comportements Stéréotypés et Intérêts Restreints			
1	Intérêt sensoriel inhabituel pour le matériel de jeu/la personne	D1	→ <input type="checkbox"/>
2	Maniérismes des mains et des doigts et autres maniérismes complexes	D2	→ <input type="checkbox"/>
3	Comportements d'auto mutilation	D3	<input type="checkbox"/>
4	Intérêts inhabituellement répétitifs et comportements stéréotypés	D4	→ <input type="checkbox"/>
Total D			<input type="checkbox"/>
Autres Comportements Anormaux			
1	Hyperactivité	E1	→ <input type="checkbox"/>
2	Colères, Agression ou Comportement négatif ou perturbateur	E2	→ <input type="checkbox"/>
3	Anxiété	E3	→ <input type="checkbox"/>
Total E			<input type="checkbox"/>

Critères diagnostiques ADOS (Module 1)			
Diagnostic Autisme selon ADOS	Total = Communication + Social	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> (seuil autisme = 12)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Diagnostic TSA selon ADOS	Total = Communication + Social	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> (seuil TSA = 7)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non

FIGURE A.11: ADOS

ETUDE C07-33	Identification du sujet		CLINIQUE	page
	C0733 - [] [] [] - [] [] [] - [] [] []	n° centre n° famille n° sujet	Cahier n°1 Evaluation clinique	35/54

Module 2 / ATTENTION Pour l'algorithme, convertir les scores 3 en 2, et traiter tous les scores autres que 0-3 comme 0)

Question	Variable	Score	Algorithme
Langage et Communication			
1	Niveau général de langage non écholalique	A1	[] []
2	Quantité d'ouvertures sociales/maintien de l'attention	A2	[] []
3	Anomalies du langage associées à l'autisme (intonation / volume / rythme / débit)	A3	[] []
4	Echolalie immédiate	A4	[] []
5	Utilisation stéréotypée/Idiosyncrasique de mots ou de phrases	A5	[] []
6	Conversation	A6	[] []
7	Pointer	A7	[] []
8	Gestes descriptifs, conventionnels et instrumentaux	A8	[] []
Total Communication (seuil autisme = 5, TSA = 3)			[] []
Interaction Sociale Réciproque			
1	Contact oculaire inhabituel	B1	[] []
2	Expressions faciales dirigées vers les autres	B2	[] []
3	Plaisir partagé dans l'interaction	B3	[] []
4	Réponse à l'appel de son prénom	B4	[] []
5	Montrer	B5	[] []
6	Initiation spontanée de l'attention conjointe	B6	[] []
7	Réponse à l'attention conjointe	B7	[] []
8	Qualité des ouvertures sociales	B8	[] []
9	Qualité de la réponse sociale	B9	[] []
10	Quantité de communication sociale réciproque	B10	[] []
11	Qualité générale de la relation	B11	[] []
Total Social (seuil autisme = 6, TSA = 4)			[] []
Total Communication + Social (seuil autisme = 12, TSA = 8)			[] []
Jeu			
1	Jeu fonctionnel avec des objets	C1	[] []
2	Imagination/Créativité	C2	[] []
Total C			[] []
Comportements Stéréotypés et Intérêts Restreints			
1	Intérêt sensoriel inhabituel pour le matériel de jeu/la personne	D1	[] []
2	Maniérismes des mains et des doigts et autres maniérismes complexes	D2	[] []
3	Comportements d'auto mutilation	D3	[] []
4	Intérêts inhabituellement répétitifs et comportements stéréotypés	D4	[] []
Total D			[] []
Autres Comportements Anormaux			
1	Hyperactivité	E1	[] []
2	Colères, Agression ou Comportement négatif ou perturbateur	E2	[] []
3	Anxiété	E3	[] []
Total E			[] []

Critères diagnostiques ADOS (Module 2)			
Diagnostic Autisme selon ADOS			
Total = Communication + Social		[] [] (seuil autisme=12)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Diagnostic TSA selon ADOS			
Total = Communication + Social		[] [] (seuil TSA=8)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non

FIGURE A.12: ADOS

ETUDE C07-33	Identification du sujet			CLINIQUE	page
	C0733 - [] [] [] [] - [] [] [] [] - [] [] [] []			Cahier n°1 Evaluation clinique	36/54
	n° centre	n° famille	n° sujet		

Module 3 / ATTENTION Pour l'algorithme, convertir les scores 3 en 2, et traiter tous les scores autres que 0-3 comme 0)

Question	Variable	Score	Algorithme
Langage et Communication			
1	Niveau général de langage non écholalique	A1	[] []
2	Anomalies du langage associées à l'autisme (intonation / volume / rythme / débit)	A2	[] []
3	Echolalie immédiate	A3	[] []
4	Utilisation stéréotypée/Idiosyncrasique de mots ou de phrases	A4	[] [] → [] []
5	Offre d'information	A5	[] []
6	Demande d'information	A6	[] []
7	Compte-rendu d'événements	A7	[] [] → [] []
8	Conversation	A8	[] [] → [] []
9	Gestes descriptifs, conventionnels et instrumentaux	A9	[] [] → [] []
Total Communication (seuil autisme = 3, TSA = 2)			[] []
Interaction Sociale Réciproque			
1	Contact oculaire inhabituel	B1	[] [] → [] []
2	Expressions faciales dirigées vers les autres	B2	[] [] → [] []
3	Production de langage et communications non verbales associées	B3	[] [] <small>B3=8 si B1,B2 ou A9=2</small>
4	Plaisir partagé dans l'interaction	B4	[] []
5	Empathie/commentaires sur les émotions d'autrui	B5	[] []
6	Compréhension sociale	B6	[] [] → [] []
7	Qualité des ouvertures sociales	B7	[] [] → [] []
8	Qualité de la réponse sociale	B8	[] [] → [] []
9	Quantité de communication sociale réciproque	B9	[] [] → [] []
10	Qualité générale de la relation	B10	[] [] → [] []
Total Social (seuil autisme = 6, TSA = 4)			[] []
Total Communication + Social (seuil autisme = 10, TSA = 7)			[] []
Imagination			
1	Imagination/Créativité	C1	[] [] → [] []
Total C			[] []
Comportements Stereotypés et Intérêts Restreints			
1	Intérêt sensoriel inhabituel pour le matériel de jeu/la personne	D1	[] [] → [] []
2	Maniérismes des mains et des doigts et autres maniérismes complexes	D2	[] [] → [] []
3	Comportements d'auto-mutilation	D3	[] []
4	Intérêt ou références excessives à des thèmes inhabituels ou fortement spécifiques ou à des objets, ou comportements répétitifs	D4	[] [] → [] []
5	Compulsions ou rituels	D5	[] [] → [] []
Total D			[] []
Autres Comportements Anormaux			
1	Hyperactivité/agitation	E1	[] [] → [] []
2	Colères, Aggression ou Comportement négatif ou perturbateur	E2	[] [] → [] []
3	Anxiété	E3	[] [] → [] []
Total E			[] []
Critères diagnostiques ADOS (Module 3)			
Diagnostic Autisme selon ADOS			
Total = Communication + Social		[] [] (seuil autisme=10)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Diagnostic TSA selon ADOS			
Total = Communication + Social		[] [] (seuil TSA=7)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non

FIGURE A.13: ADOS

ETUDE C07-33	Identification du sujet			CLINIQUE	page
	C0733 - [] [] [] - [] [] [] - [] [] []			Cahier n°1 Evaluation clinique	37/54
	n° centre	n° famille	n° sujet		

Module 4 / ATTENTION Pour l'algorithme, convertir les scores 3 en 2, et traiter tous les scores autres que 0-3 comme 0)

Question	Variable	Score	Algorithme
Langage et Communication			
1	Niveau général de langage non écholalique	A1	[] []
2	Anomalies du langage associées à l'autisme (intonation / volume / rythme / débit)	A2	[] []
3	Echolalie immédiate	A3	[] []
4	Utilisation stéréotypée/Idiosyncrasique de mots ou de phrases	A4	[] [] → [] [] [] []
5	Offre d'information	A5	[] []
6	Demande d'information	A6	[] []
7	Compte-rendu d'événements	A7	[] []
8	Conversation	A8	[] [] → [] [] [] []
9	Gestes descriptifs, conventionnels et instrumentaux	A9	[] [] → [] [] [] []
10	Gestes Emphatiques ou Emotionnels	A10	[] [] → [] [] [] []
Total Communication (seuil autisme=3 TSA=2)			[] [] [] []
Interaction Sociale Réciproque			
1	Contact oculaire inhabituel	B1	[] [] → [] [] [] []
2	Expressions faciales dirigées vers les autres	B2	[] [] → [] [] [] []
3	Production de langage et communications non verbales associées	B3	[] []
4	Plaisir partagé dans l'interaction	B4	[] []
5	Communication de ses propres affects	B5	[] []
6	Empathie/commentaires sur les émotions d'autrui	B6	[] [] → [] [] [] []
7	Compréhension sociale	B7	[] []
8	Responsabilité	B8	[] [] → [] [] [] []
9	Qualité des ouvertures sociales	B9	[] [] → [] [] [] []
10	Qualité de la réponse sociale	B10	[] [] → [] [] [] []
11	Quantité de communication sociale réciproque	B11	[] [] → [] [] [] []
12	Qualité générale de la relation	B12	[] []
Total Social (seuil autisme = 6, TSA = 4)			[] [] [] []
Total Communication + Social (seuil autisme = 10, TSA = 7)			[] [] [] []
Imagination			
1	Imagination/Créativité	C1	[] [] → [] [] [] []
Total C			[] [] [] []
Comportements Stéréotypés et Intérêts Restreints			
1	Intérêt sensoriel inhabituel pour le matériel de jeu/la personne	D1	[] [] → [] [] [] []
2	Maniérismes des mains et des doigts et autres maniérismes complexes	D2	[] [] → [] [] [] []
3	Comportements d'auto-mutilation	D3	[] []
4	Intérêt ou références excessives à des thèmes inhabituels ou fortement spécifiques ou à des objets, ou comportements répétitifs	D4	[] [] → [] [] [] []
5	Compulsions ou rituels	D5	[] [] → [] [] [] []
Total D			[] [] [] []
Autres Comportements Anormaux			
1	Hyperactivité/agitation	E1	[] [] → [] [] [] []
2	Colères, Agression ou Comportement négatif ou perturbateur	E2	[] [] → [] [] [] []
3	Anxiété	E3	[] [] → [] [] [] []
Total E			[] [] [] []

Critères diagnostiques ADOS (Module 4)			
Diagnostic Autisme selon ADOS	Total = Communication + Social	[] [] [] (seuil autisme=10)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Diagnostic TSA selon ADOS	Total = Communication + Social	[] [] [] (seuil TSA=7)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non

FIGURE A.14: ADOS

ECHELLE DE RECIPROCITE SOCIALE / Version pour ENFANT

NOM :

PRÉNOM :

Ce Questionnaire doit être absolument rempli par un adulte ayant vécu avec l'enfant au cours de ces 6 derniers mois.

Ce questionnaire est rempli par : Mère Père Autre (enseignant, etc.) _____ (← entourez)

		Pas VRAI	Parfois VRAI	Souvent VRAI	Presque Toujours VRAI	Ne s'appliqu e pas
1	Semble beaucoup plus nerveux dans des situations sociales que quand il/elle est seul(e).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	Son expression faciale n'est pas en harmonie avec ce qu'il/elle dit.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	Semble avoir confiance en lui/elle quand il/elle interagit avec les autres.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4	Quand il/elle est stressé(e), l'enfant semble fonctionner en "pilote automatique" ou a des patterns de comportements rigides qui paraissent étranges.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5	Ne réalise pas que les autres essayent de se servir de lui/elle.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6	Préfère être seul(e) qu'avec les autres.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7	Est conscient(e) de ce que les autres pensent ou ressentent.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8	Se comporte de façon étrange ou bizarre.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9	S'accroche aux adultes et semble être trop dépendant(e) d'eux.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10	Interprète les choses de manière trop littérale et ne comprend pas le sens réel des conversations.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11	A confiance en lui/elle.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12	Est capable de communiquer des sentiments aux autres.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13	Est maladroit(e) dans les interactions impliquant un tour de rôle avec les personnes de son âge (par exemple, ne semble pas comprendre les tours de parole dans les conversations).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14	Maladroit(e), mal coordonné(e) dans les activités physiques.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15	Est capable de comprendre la signification du ton de la voix et de l'expression faciale des autres personnes.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16	Evite le contact visuel ou a un contact visuel inhabituel.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17	Reconnaît lorsque quelque chose est injuste.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18	L'enfant a du mal à se faire des amis, même quand il/elle fait de son mieux pour essayer.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
19	A des difficultés lorsqu'il/elle essaye de transmettre ses idées au cours d'une conversation.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

1

FIGURE A.15: SRS

20	Fait preuve d'intérêts sensoriels inhabituels (comme faire tourner les objets ou les mettre dans sa bouche) ou a des manières étranges de jouer avec les jouets.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
21	Est capable d'imiter les actions des autres.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
22	Joue de manière appropriée avec les enfants de son âge.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
23	Ne se joint pas aux activités des autres sauf si on le lui demande.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
24	A plus de difficulté que les autres enfants à modifier ses routines.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25	Ne se soucie pas d'être "en phase" ou sur la même "longueur d'onde" que les autres.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26	Offre du réconfort aux autres quand ils sont tristes.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
27	Evite d' <u>initier</u> des interactions sociales avec les autres.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
28	Obsessionnel, pense ou parle de la même chose de manière répétitive.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29	Considéré(e) par les autres enfants comme étrange ou bizarre.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30	Souvent dépassé(e) par les situations où il se passe beaucoup de choses en même temps.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31	Ne peut pas s'arrêter de penser à quelque chose une fois qu'il/elle a commencé.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32	A une bonne hygiène personnelle.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33	Socialement maladroit(e), même quand il/elle essaye d'être poli(e).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
34	Evite les gens qui veulent être proches <u>émotionnellement</u> de lui/elle.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
35	A du mal à suivre le rythme d'une conversation normale.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
36	A des difficultés à entrer en relation avec les <u>adultes</u> .	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
37	A des difficultés à entrer en relation avec les <u>personnes de son âge</u> .	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
38	Réagit de manière appropriée aux changements d'humeur des autres (par exemple quand un ami ou un compagnon des jeux qui était content devient triste).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
39	A une variété d'intérêts restreinte.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
40	A de l'imagination, est bon(ne) dans les jeux de faire semblant (sans perdre le contact avec la réalité).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
41	Sans but ; passe d'une activité à l'autre passivement.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
42	Semble extrêmement sensible aux sons, aux textures ou aux odeurs.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
43	Se sépare facilement des personnes qui s'occupent de lui/elle.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

FIGURE A.16: SRS

44	Ne comprends pas les relations entre les événements d'une manière appropriée à son âge (par exemple, mélange les causes et les conséquences).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
45	Prête son attention à des choses qui intéressent les autres (par exemple, regarde dans la même direction que les autres ou écoute ce que les autres écoutent).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
46	Expression faciale trop sérieuse.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
47	Fait le/la sot(te) ou rit de manière inappropriée.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
48	A le sens de l'humour ; comprend les plaisanteries.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
49	A des aptitudes dans certains domaines précis <u>largement</u> supérieures à la moyenne, mais le niveau de fonctionnement dans la plupart des tâches n'est pas bon.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
50	A des comportements étranges répétitifs comme agiter les mains ou se balancer.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
51	A des difficultés à répondre aux questions directement ; <u>tourne autour</u> du sujet.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
52	Est conscient(e) quand il/elle parle trop fort ou fait trop de bruit.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		Pas VRAI	Parfois VRAI	Souven t VRAI	Presque Toujours VRAI	Ne s'appliqu e pas
53	Parle aux personnes avec une tonalité vocale inhabituelle (par exemple comme un robot ou comme s'il/elle donnait un cours).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
54	Semble utiliser les gens comme s'ils étaient des objets.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
55	Se rend compte quand il/elle est trop proche ou quand il/elle envahit l'espace d'autrui.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
56	Marche entre deux personnes qui sont en train de parler.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
57	On se moque beaucoup de lui/elle.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
58	Se concentre de manière inadaptée sur des <u>parties</u> d'objets au lieu de voir la totalité de l'objet (par exemple, si on lui demande de décrire ce qui s'est passé dans un compte, l'enfant décrit uniquement le type de vêtements portés par les personnages).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
59	Trop soupçonneux (se).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
60	Est émotionnellement distant(e), ne montre pas ses émotions.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
61	Est inflexible, a du mal à changer d'opinion.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
62	Donne des raisons inhabituelles ou illogiques pour faire des choses.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
63	Touche les autres de manière inadaptée (exemple : l'enfant peut toucher quelqu'un pour établir un contact mais s'en va après sans rien dire).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
64	Trop tendu(e) dans les situations sociales.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
65	Regarde ou fixe les autres de manière inappropriée.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

FIGURE A.17: SRS

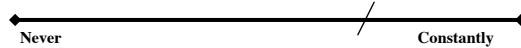
REPETITIVE BEHAVIOR SCALE – Revised (RBS-R)

Instructions:

Please rate this person’s behavior by reading each of the items listed and then choosing the score that best describes how much of a problem the item is for the person. Be sure to read and score all items listed. Make your ratings based on your observations and interactions with the person over the last month. Use the definitions in the box given below to score each item.

0 = behavior does not occur
 1 = behavior occurs and is a mild problem
 2 = behavior occurs and is a moderate problem
 3 = behavior occurs and is a severe problem

At the end of each section, there will be three questions asking you to rate that section’s behaviors in terms of (a) how frequently they occur, (b) how upset the person becomes when repetitive behaviors are interrupted, and (c) how much the behaviors interfere with ongoing events. You will indicate the score by marking along each line, which represents a range of frequencies and severities. For example, if this person does those behaviors many times a day you may put the mark quite close to the right side:



I. Stereotyped Behavior Subscale

(DEFINITION: apparently purposeless movements or actions that are repeated in a similar manner)

1	WHOLE BODY (Body rocking, Body swaying)	0	1	2	3
2	HEAD (Rolls head, Nods head, Turns head)	0	1	2	3
3	HAND/FINGER (Flaps hands, Wiggles or flicks fingers, Claps hands, Waves or shakes hand or arm)	0	1	2	3
4	LOCOMOTION (Turns in circles, Whirls, Jumps, Bounces)	0	1	2	3
5	OBJECT USAGE (Spins or twirls objects, Twiddles or slaps or throws objects, Lets objects fall out of hands)	0	1	2	3
6	SENSORY (Covers eyes, Looks closely or gazes at hands or objects, Covers ears, Smells or sniffs items, Rubs surfaces)	0	1	2	3

Please answer the following questions about the behaviors described above (put a vertical mark (|) on the line to show your answer):

How often do they happen?
 (If Never, skip to Section II) ◆—————◆
 Never Constantly

How upset does this person get when interrupted? ◆—————◆
 Not at all Extremely

How much do these behaviors get in the way of ongoing events? ◆—————◆
 Not at all Severe interference

FIGURE A.18: RBS

0 = behavior does not occur
 1 = behavior occurs and is a mild problem
 2 = behavior occurs and is a moderate problem
 3 = behavior occurs and is a severe problem

II. Self-Injurious Behavior Subscale

(DEFINITION: movement or actions that have the potential to cause redness, bruising, or other injury to the body, and that are repeated in a similar manner)

7	HITS SELF WITH BODY PART (Hits or slaps head, face, or other body area)	0	1	2	3
8	HITS SELF AGAINST SURFACE OR OBJECT (Hits or bangs head or other body part on table, floor or other surface)	0	1	2	3
9	HITS SELF WITH OBJECT (Hits or bangs head or other body area with objects)	0	1	2	3
10	BITES SELF (Bites hand, wrist, arm, lips or tongue)	0	1	2	3
11	PULLS (Pulls hair or skin)	0	1	2	3
12	RUBS OR SCRATCHES SELF (Rubs or scratches marks on arms, leg, face or torso)	0	1	2	3
13	INSERTS FINGER OR OBJECT (Eye-poking, Ear-poking)	0	1	2	3
14	SKIN PICKING (Picks at skin on face, hands, arms, legs or torso)	0	1	2	3

Please answer the following questions about the behaviors described above (put a vertical mark (/) on the line to show your answer):

How often do they happen?
 (If Never, skip to Section II) Never Constantly

How upset does this person get when interrupted? Not at all Extremely

How much do these behaviors get in the way of ongoing events? Not at all Severe interference

FIGURE A.19: RBS


0 = behavior does not occur
 1 = behavior occurs and is a mild problem
 2 = behavior occurs and is a moderate problem
 3 = behavior occurs and is a severe problem


III. Compulsive Behavior Subscale

(DEFINITION: behavior that is repeated and is performed according to a rule, or involves things being done “just so”)

15	ARRANGING / ORDERING (Arranges certain objects in a particular pattern or place; Need for things to be even or symmetrical)	0	1	2	3
16	COMPLETENESS (Must have doors opened or closed; Takes all items out of a container or area)	0	1	2	3
17	WASHING / CLEANING (Excessively cleans certain body parts; Picks at lint or loose threads)	0	1	2	3
18	CHECKING (Repeatedly checks doors, windows, drawers, appliances, clocks, locks, etc.)	0	1	2	3
19	COUNTING (Counts items or objects; Counts to a certain number or in a certain way)	0	1	2	3
20	HOARDING/SAVING (Collects, hoards or hides specific items)	0	1	2	3
21	REPEATING (Need to repeat routine events; In / out door, up / down from chair, clothing on/off)	0	1	2	3
22	TOUCH / TAP (Need to touch, tap, or rub items, surfaces, or people)	0	1	2	3

Please answer the following questions about the behaviors described above (put a vertical mark (/) on the line to show your answer):

How often do they happen?
 (If *Never*, skip to Section II)  Never Constantly

How upset does this person get when interrupted?  Not at all Extremely


How much do these behaviors get in the way of ongoing events?  Not at all Severe interference

FIGURE A.20: RBS

0 = behavior <u>does not occur</u> 1 = behavior occurs and is a <u>mild</u> problem 2 = behavior occurs and is a <u>moderate</u> problem 3 = behavior occurs and is a <u>severe</u> problem
--

IV. Ritualistic Behavior Subscale

(DEFINITION: performing activities of daily living in a similar manner)

23	EATING / MEALTIME (Strongly prefers/insists on eating/drinking only certain things; Eats or drinks items in a set order; Insists that meal related items are arranged in a certain way)	0	1	2	3
24	SLEEPING / BEDTIME (Insists on certain pre-bedtime routines; Arranges items in room "just so" prior to bedtime; Insists that certain items be present with him/her during sleep; Insists that another person be present prior to or during sleep)	0	1	2	3
25	SELF-CARE – BATHROOM AND DRESSING (Insists on specific order of activities or tasks related to using the bathroom, to washing, showering, bathing or dressing; Arranges items in a certain way in the bathroom or insists that bathroom items not be moved; Insists on wearing certain clothing items)	0	1	2	3
26	TRAVEL / TRANSPORTATION (Insists on taking certain routes/paths; Must sit in specific location in vehicles; Insists that certain items be present during travel, e.g., toy or material; Insists on seeing or touching certain things or places during travel such as a sign or store)	0	1	2	3
27	PLAY / LEISURE (Insists on certain play activities; Follows a rigid routine during play / leisure; Insists that certain items be present/available during play/leisure; Insists that other persons do certain things during play)	0	1	2	3
28	COMMUNICATION / SOCIAL INTERACTIONS (Repeats same topic(s) during social interactions; Repetitive questioning; Insists on certain topics of conversation; Insists that others say certain things or respond in certain ways during interactions)	0	1	2	3

Please answer the following questions about the behaviors described above (put a vertical mark (✓) on the line to show your answer):

How often do they happen?
(If *Never*, skip to Section II)

Never
◆
◆
 Constantly

How upset does this person get when interrupted?

Not at all
◆
◆
 Extremely

How much do these behaviors get in the way of ongoing events?

Not at all
◆
◆
 Severe interference

FIGURE A.21: RBS

0 = behavior <u>does not occur</u> 1 = behavior occurs and is a <u>mild</u> problem 2 = behavior occurs and is a <u>moderate</u> problem 3 = behavior occurs and is a <u>severe</u> problem
--

V. Sameness Behavior Subscale

(DEFINITION: (resistance to change, insisting that things stay the same))

29	Insists that things remain in the same place(s) (e.g. toys, supplies, furniture, pictures, etc.)	0	1	2	3
30	Objects to visiting new places	0	1	2	3
31	Becomes upset if interrupted in what he/she is doing	0	1	2	3
32	Insists on walking in a particular pattern (e.g., straight line)	0	1	2	3
33	Insists on sitting at the same place	0	1	2	3
34	Dislikes changes in appearance or behavior of the people around him/her	0	1	2	3
35	Insists on using a particular door	0	1	2	3
36	Likes the same CD, tape, record or piece of music played continually; Likes same movie / video or part of movie / video	0	1	2	3
37	Resists changing activities; Difficulty with transitions	0	1	2	3
38	Insists on same routine, household, school or work schedule everyday	0	1	2	3
39	Insists that specific things take place at specific times	0	1	2	3

Please answer the following questions about the behaviors described above (put a vertical mark (/) on the line to show your answer):

How **often** do they happen?
(If **Never**, skip to Section II)

◆—————◆
Never Constantly

How **upset** does this person get when interrupted?

◆—————◆
Not at all Extremely

How much do these behaviors **get in the way of ongoing events**?

◆—————◆
Not at all Severe interference

FIGURE A.22: RBS

Primer 1 (<i>NLGN4</i>)	Primer 2 (<i>NLGN4</i>)
F : ATTCGGATGCCAGTCCAGG	F : TGAGAGATCACTACCGGGCA
R : AGCAGTACTTAGGGGTCCTCC	R : GAGTGATTGCTGGGCGTTTG
Probe : GCTGAAACCGCCTCTCTCCAGT	Probe : TTTCCCTATGGCACCCGGCGAT

FIGURE A.24: Séquences des primers utilisés pour *NLGN4* en ddPCR

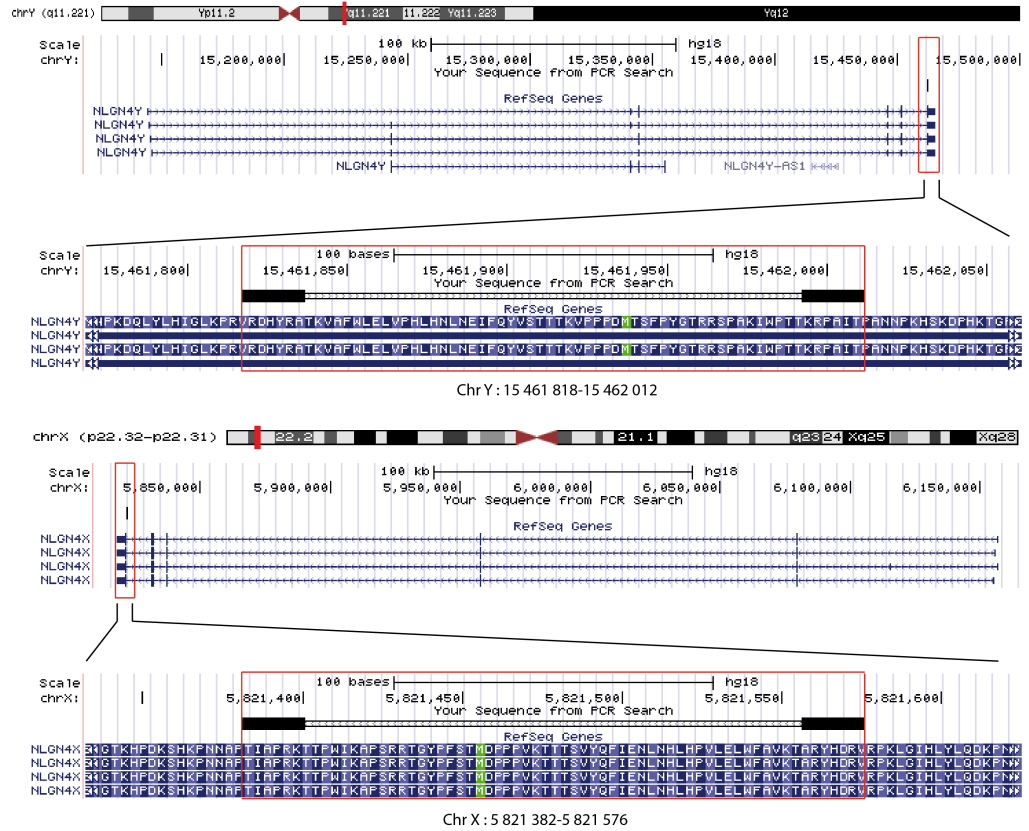


FIGURE A.25: Localisation de l’amorce d’amplification sur *NLGN4X* et *NLGN4Y* (Primer 1)

A.4 Annexe 4 (chapitre 3)

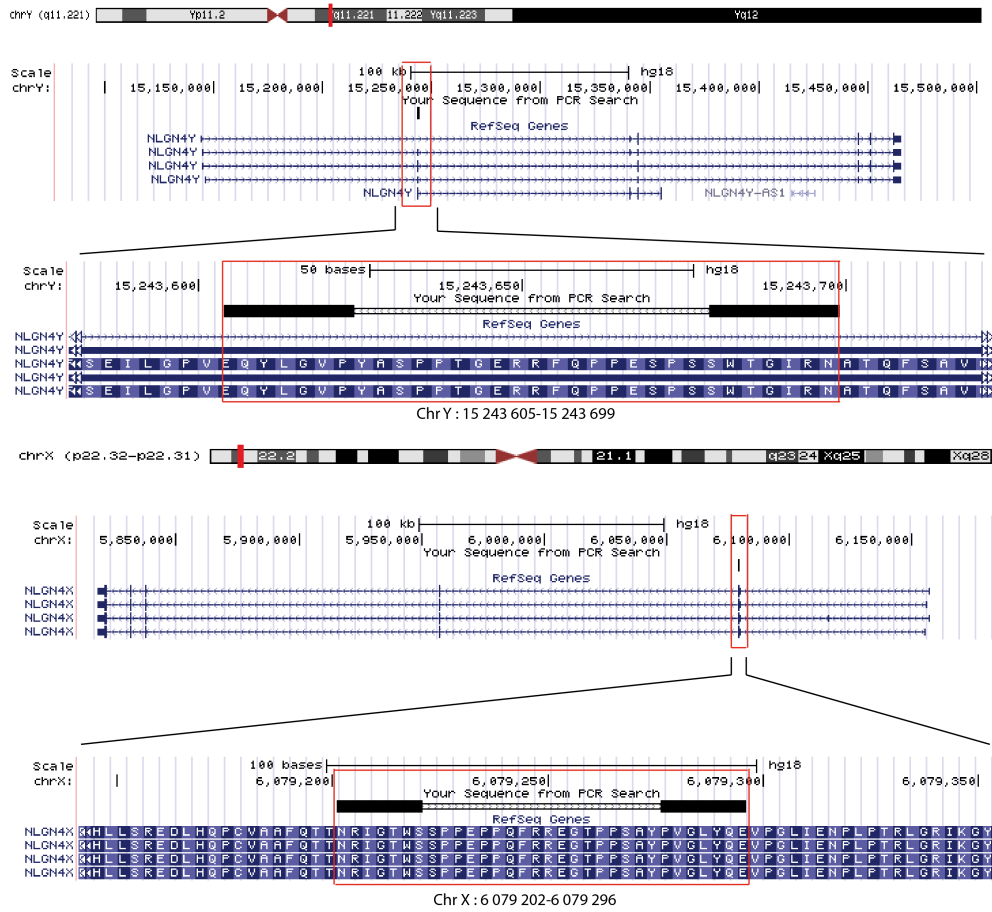


FIGURE A.26: Localisation de l’amorce d’amplification sur *NLGN4X* et *NLGN4Y* (Primer 2)

Gene	Type	Primer sequence	Product Size	Temperature	Gene	Type	05/06/14	Product Size	Temperature	Gene	Type	Primer sequence	Product Size	Temperature
RG520	R	GGGAGAGGGGCTAGAGCAA	287	62	LOC339975	R	TAAGGCTGACTACGCCAAC	351	56,5	MUSTN1	R	CCTTACGTGGAGGACCTT	361	58
	R	CGGACATATTGATCTGGTG				R	TGTCACCTCTACAAGGAA				R	TGAGCAGAGGAGAGGGGTCT		
NASP	F	AGAAGACCAATGAAGCTGAG	325	56,5	ENTPD8	F	GGCAGCTGGAGAGTGTAAA	417	60,8	FER1L5	F	ATGACACCTCGGCTCAAG	303	62
	R	CTTCTGCTGCTGTTTCAAG				R	GGCTGGGAACAGGGCTAT				R	CTGTTTCTTAGCCAGGCG	183	60,8
KCNQ1071	F	GTCTGACCTGGTCTAAAC	259	62	TYR	F	GGACATGGCAGGATGAT	488	55	TNEM183A	R	GGGACCAAGCACTATGTTCT		
	R	CAGTCATGGTGTCTCCCC				R	ACACGGGACACATTTCTGTC				R	TTGAGTCGTTTCTCTCTG	193	59,5
SLC24A22	F	TCTCTGGAGGAAGGACGAA	268	62	SLC30A4	F	GCATGTTGACAGGAGATCCA	470	55	IRS2	F	CTCCCAAGTCATGTTGAT		
	R	GTACTTCCCTCTTCCCA				R	GCTTCCGAATCTGAGCAGC				R	CCTCACCTGTAGTGCCTC	151	55,6
X1A1551	F	GGAGAAAGGAAGCAGAAAGCT	215	57,8	COL16A1	F	ATCTTGGTTCAGCAACAC	376	55	PTCHD1	F	TCTTGCACCTCTAAGAAA		
	R	ACCAAAAGTCTCAGGCAATT				R	CTCTCATCTCAGGGACTC				R	GGTGAABAATCCCAAGAGA		
SRGA93	F	TACGAGGATGCAGCTCACAC	377	57,8	EPH414A	F	ACCGAAGTGGTGTACAG	333	55	SMG1	F	ACGGTGCTTGGGAGATC	161	59,5
	R	CACTGCTCTCTCTGGT				R	TGTTGCTTGTTCAGCAC				R	CCCCCTCATGTTCTTTA		
AIP	F	CATGGTCCAGGAGACATGA	262	62	PACSN3	F	CCACAGGCGAGTCTCAT	484	56,5	MYOT	F	CAAAAAGACATAAAGAGCCAA	161	55
	R	GTCTCTGCTGCTCTCTGCC				R	AGATCTGCGAGTTCACCT				R	TGGTTCAGTGTGAATTGACC	191	55,6
NCOR2	F	TGAGGATGGACTTCCGGC	89	62	MURC	F	GCAGAGCGAATCTTGACA	367	56,5	PCDH9	R	ACAGCTGAGGAGCAGCAT		
	R	AAACACACCACGCTCTC				R	TCCTCATGGGAGGATACA				R	ACAGCTGAGGAGCAGCAT	168	62
MMP11	F	AATGAGATTGCACCGCTGGA	361	56,5	URI1	F	TGGAAAGATTTGTGGTGT	368	59,5	SON	F	TTGAAGAGGGCTCCAGAA		
	R	TCTCTGAGCAGATCCCAAA				R	CCACGGTAAGGTAAAAGAA				R	TGACTCAGATTCTCTGGCT	251	55,6
COX4	F	GTCTGCAAGTCTCAGGGAT	428	62	RTN3	F	GGGAGCCGCTATTTAGC	416	55	LOC339807	F	CAAGAGGGCTAGAGGTGGT		
	R	CATCAACCACCAATCTCC				R	GGTATTCCGGGAACTCT				R	GAGGAGAGACTGGGCTCT	347	58
OTOG	F	CAGCATCGTCTCTGTTGC	297	57,8	ZNF503	F	CCAGTGGATCCAGAGAA	329	60,8	MOB2	F	GGACTCGGTAGTGGAGAAC		
	R	GGGCGATTGAGGATAGCG				R	TGCTGTTCTCCCTAAGAA				R	CACCTCTCAGCTCTCTG	286	55
ZFP28	F	GTGGAAAGCTCTCAGTGAC	468	57,8	MVP	F	GTCAAGCGGTTGGTCAAT	273	59,5	B4GAL14	F	ACCACCGACTCTGGGAT		
	R	TTTTCTGATGCTGTCAGAG				R	ATGCCAGAAATCTCATTG				R	ACAGAGTGTGATTTGCTG	387	55
UBE2F	F	GTGGCAGATGACTGTCTCA	278	59,5	SBF1	F	ACTTCCCTGACAGCTGT	333	58	ESRP2	F	TACAAAGCTGGTACCAAC		
	R	AGTGGGAGGTTGGATAAAG				R	GCATGACTACCTCCCTG				R	CGGTACACATGGTGCTCA	350	55
KCP	F	GAGGAAAGTGGATCGGTGA	340	60,8	CTS8	F	CTGTTTATAGTCGGGCTG	357	60,8	RBM33	F	AGTCTGAATGCTACATCTGGA		
	R	ATAACAGCCCAAGCTCAGA				R	CCACTTCTGCCAGATGGA				R	TGCATGGGAAGCCAGTAT	224	59,5
SLC12A7	F	GTTTTCAATGGCTACAGCA	399	59,5	FBN2	F	GCCTTGGCGAGAAACTT	303	55	ZBTB37	F	AGGGGGGACATCAACATTT		
	R	ATGGCCACACTCTCC				R	TCTGTGAGAACCAAGATG				R	AGCAATCTCCCAACCAAC	379	59,5
LOC339817	F	TGGCAGGGAGACAAATCC	351	62	ITK	F	CCAGAGGGCAGTTTGATA	550	55	TCN1	F	TGAAAGCGAAACAGTGTG	317	59,5
	R	TCTCTGTCAACCTCTCCA				R	CACGATCTTGGCTCAGAA				R	AAGGCTCTCCCTTATTGA	442	56,5
HOMER2	F	TGGTATTCTCCTGTTCCA	412	62	CACNA1F	F	GCTAATGGTCTGGAGTGA	521	65	SNO33	F	GCAGTGGCTCTCTCAAC		
	R	CCACCAAGCAGCTACGSGAAA				R	TGACCACTGTGGCTGTATG				R	ATGCCCCTGAAATTTGTTCTG	379	59,5
DNM2	F	TTGGTGGCAATAGGGGAG	294	55	DTX3L	F	ATAGCTCCGACCTTCTCC	406	58	KBA2	F	TCATGGAGAAGCTGTGCAA		
	R	accagactACTCTCTCCA				R	CACGCGAGCTCTCTCTCC				R	TCAGTGGAGAGCTGAGTGA	545	62
CENPF	F	GGTACATGATTTCTCTGGGG	421	62	ASGR2	F	TCTGGGAGGACGAGGATGG	432	58	PRR19	F	CAGTCTCCAGCTTTTTCAG		
	R	AAATCTCTCCAGCTCTCA				R	tttttcagagagcagca				R	GTCCAGGCACACCACTGAC	503	57,8
SIN3A	F	CGCTTATGGCCAGACTTC	249	59,5	SPEG	F	GGCTCAGGTCACATCTAAC	390	59,5	PRKGG	F	ACACACACAGCAGCACAC		
	R	GAAGCACAAATGGTTTGGGG				R	GGGGGTGTGAGTAGAGGT				R	CCCATGGGATAGTAGAAA	323	59,5
TP73	F	TCTAGCTGGAGGGGTGAT	334	59,5	HIVEP2	F	AATGGCACTTATCTGGAC	212	60,8	TSN	F	ACGGTCTGGCTGAAGC	328	62
	R	GAACAGACAGGGTGACAGCA				R	AATTGGACTAGAGGCTGGT				R	AAGCTAGAGGGGAAGCAACC	333	55
EPHA4	F	CTCCCAAGGCTCACTGAAG	241	62	FAM135B	F	TCAGGTCGATGGGCTGAAG	347	62	FRS1	F	GGGTTTCAGATTGCCCTT		
	R	TGAGTTACTGGCTGACTCC				R	TGGAGGACACTCTGAGGGA				R	GGAGAGCATTACAGCGAAC	299	59,5
KDM5A	F	TCTGATTGGCACTGCTT	231	62	NUP93	F	TCACATAGGTCAGTCTCTG	201	62	MYK	F	AGTGCAGTGTATCCCAAC		
	R	ATCCCTTCAGAAGTTCGGC				R	GCTAGTAAATGAAGGCGAGG				R	AAGCAGCACTAGAGGTGGGA	226	58
HTATS1P2	F	accataaagctgggtgggt	396	62	ZBTB21	F	AAGCTGAGACATGCGCAT	200	62	TENM2	F	TGATCGCAATGGAGGTCT		
	R	caaacggctgggtcabaaa				R	CAAGAAGCGGGCTCAGCA				R	CCAGGGGCGAGCAATAAGAA		
KRTAP9	F	GGAAALTTGGAGGCGAGT	443	62	ZCCHC13	F	TCACTGGACATCTTGTGC	208	62					
	R	GGCAGACAGTGTGGGGTAG				R	ACATCTGGCTGTGACTGTG							

FIGURE A.27: Séquences des primers utilisés pour la validation des variants *de novo* en méthode Sanger

Détection et validation des CNV du gène *NLGN4* : Digital Droplet PCR

Au sein de la cohorte PARIS, les variations du nombre de copies (CNV) du gène *NLGN4* (lié à l'X et à l'Y) sont détectés à l'aide de la technique de "Digital Droplet Polymerase Chain Reaction" (ddPCR). Cette technologie a été utilisée pour sa précision à détecter les CNV en une seule expérience.

Le principe consiste en la comparaison du nombre de copies d'un gène cible (ici *NLGN4X* et *NLGN4Y*) au nombre de copies d'un gène de référence en mesurant la fluorescence de chaque gène.

Le gène de référence utilisé est *HMBS*, qui code pour l'hydroxyméthylbilane synthase, une enzyme dans la biosynthèse de l'hème. Ce gène n'a pas de CNV référencé dans les bases de données de variants génomiques (DGV).

Deux paires de primers pour *NLGN4* sont mises au point dans les régions d'homologies de *NLGN4X* et *NLGN4Y* au début et à la fin du gène. Seule une paire de primers est utilisée pour *HMBS*. Les amorces 1 sont faites pour amplifier l'exon 2 de *NLGN4X* et *NLGN4Y*. Les amorces 2 amplifient l'exon 6 de *NLGN4X* et l'exon 7 de *NLGN4Y*.

A.5 Annexe 5 (chapitre 4)

NGLN1

1. Steinbach P, Adkins WN Jr, Caspar H, Dumars KW, Gebauer J, Gilbert EF, Grimm T, Habedank M, Hansmann I, Herrmann J, Kaveggia EG, Langenbeck U, Meisner LF, Najafzadeh TM, Opitz JM, Palmer CG, Peters HH, Scholz W, Tavares AS, Wiedeking C, The dup(3q) syndrome : report of eight cases and review of the literature, Am J Med Genet., 1981
2. Meins M, Hagh JK, Gerresheim F, Einhoff E, Olschewski H, Strehl H, Epplen JT, Novel case of dup(3q) syndrome due to a de novo interstitial duplication 3q24-q26.31 with minimal overlap to the dup(3q) critical region, Am J Med Genet A., 2005
3. Ylisaukko-oja T, Rehnström K, Auranen M, Vanhala R, Alen R, Kempas E, Ellonen P, Turunen JA, Makkonen I, Riikonen R, Nieminen-von Wendt T, von Wendt L, Peltonen L, Järvelä I, Analysis of four neuroligin genes as candidates for autism, Eur J Hum Genet., 2005
4. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shaperro MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M,

Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME, Global variation in copy number in the human genome, *Nature*, 2006

5. Christian SL, Brune CW, Sudi J, Kumar RA, Liu S, Karamohamed S, Badner JA, Matsui S, Conroy J, McQuaid D, Gergel J, Hatchwell E, Gilliam TC, Gershon ES, Nowak NJ, Dobyens WB, Cook EH Jr, Novel submicroscopic chromosomal abnormalities detected in autism spectrum disorder, *Biol Psychiatry*, 2008

6. Shaikh, 2009

7. Bucan M, Abrahams BS, Wang K, Glessner JT, Herman EI, Sonnenblick LI, Alvarez Retuerto AI, Imielinski M, Hadley D, Bradfield JP, et al., Genome-wide analyses of exonic copy number variants in a family-based study point to novel autism susceptibility genes, *PLoS Genet.*, 2009

8. Glessner JT, Wang K, Cai G, Korvatska O, Kim CE, Wood S, Zhang H, Estes A, Brune CW, Bradfield JP, Imielinski M, Frackelton EC, Reichert J, Crawford EL, Munson J, Sleiman PM, Chiavacci R, Annaiah K, Thomas K, Hou C, Glaberson W, Flory J, Otieno F, Garris M, Soorya L, Klei L, Piven J, Meyer KJ, Anagnostou E, Sakurai T, Game RM, Rudd DS, Zurawiecki D, McDougle CJ, Davis LK, Miller J, Posey DJ, Michaels S, Kolevzon A, Silverman JM, Bernier R, Levy SE, Schultz RT, Dawson G, Owley T, McMahon WM, Wassink TH, Sweeney JA, Nurnberger JI, Coon H, Sutcliffe JS, Minshew NJ, Grant SF, Bucan M, Cook EH, Buxbaum JD, Devlin B, Schellenberg GD, Hakonarson H, Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes, *Nature*, 2009

9. Pinto D, Pagnamenta AT, Klei L, Anney R, Merico D, Regan R, Conroy J, Magalhaes TR, Correia C, Abrahams BS, Almeida J, Bacchelli E, Bader GD, Bailey AJ, Baird G, Battaglia A, Berney T, Bolshakova N, Bölte S, Bolton PF, Bourgeron T, Brennan S, Brian J, Bryson SE, Carson AR, Casallo G, Casey J, Chung BH, Cochrane L, Corsello C, Crawford EL, Crossett A, Cytrynbaum C, Dawson G, de Jonge M, Delorme R, Drmic I, Duketis E, Duque F, Estes A, Farrar P, Fernandez BA, Folstein SE, Fombonne E, Freitag CM, Gilbert J, Gillberg C, Glessner JT, Goldberg J, Green A, Green J, Guter SJ, Hakonarson H, Heron EA, Hill M, Holt R, Howe JL, Hughes G, Hus V, Iglizzi R, Kim C, Klauck SM, Kolevzon A, Korvatska O, Kustanovich V, Lajonchere CM, Lamb JA, Laskawiec M, Leboyer M, Le Couteur A, Leventhal BL, Lionel AC, Liu XQ, Lord C, Lotspeich L, Lund SC, Maestrini E, Mahoney W, Mantoulan C, Marshall CR, McConachie H, McDougle CJ, McGrath J, McMahon WM, Merikangas A, Migita O, Minshew

NJ, Mirza GK, Munson J, Nelson SF, Noakes C, Noor A, Nygren G, Oliveira G, Papanikolaou K, Parr JR, Parrini B, Paton T, Pickles A, Pilorge M, Piven J, Ponting CP, Posey DJ, Poustka A, Poustka F, Prasad A, Ragoussis J, Renshaw K, Rickaby J, Roberts W, Roeder K, Roge B, Rutter ML, Bierut LJ, Rice JP, Salt J, Sansom K, Sato D, Segurado R, Sequeira AF, Senman L, Shah N, Sheffield VC, Soorya L, Sousa I, Stein O, Sykes N, Stoppioni V, Strawbridge C, Tancredi R, Tansey K, Thiruvahindrapduram B, Thompson AP, Thomson S, Tryfon A, Tsiantis J, Van Engeland H, Vincent JB, Volkmar F, Wallace S, Wang K, Wang Z, Wassink TH, Webber C, Weksberg R, Wing K, Wittemeyer K, Wood S, Wu J, Yaspan BL, Zurawiecki D, Zwaigenbaum L, Buxbaum JD, Cantor RM, Cook EH, Coon H, Cuccaro ML, Devlin B, Ennis S, Gallagher L, Geschwind DH, Gill M, Haines JL, Hallmayer J, Miller J, Monaco AP, Nurnberger JI Jr, Paterson AD, Pericak-Vance MA, Schellenberg GD, Szatmari P, Vicente AM, Vieland VJ, Wijsman EM, Scherer SW, Sutcliffe JS, Betancur C., Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders, *Nature*, 2010

10. Lewis CM, Ng MY, Butler AW, Cohen-Woods S, Uher R, Pirlo K, Weale ME, Schosser A, Paredes UM, Rivera M, Craddock N, Owen MJ, Jones L, Jones I, Korszun A, Aitchison KJ, Shi J, Quinn JP, Mackenzie A, Vollenweider P, Waeber G, Heath S, Lathrop M, Muglia P, Barnes MR, Whittaker JC, Tozzi F, Holsboer F, Preisig M, Farmer AE, Breen G, Craig IW, McGuffin P., Genome-wide association study of major recurrent depression in the U.K. population, *Am J Psychiatry*, 2010

11. Sanders SJ, Ercan-Sencicek AG, Hus V, Luo R, Murtha MT, Moreno-De-Luca D, Chu SH, Moreau MP, Gupta AR, Thomson SA, Mason CE, Bilguvar K, Celestino-Soper PB, Choi M, Crawford EL, Davis L, Wright NR, Dhodapkar RM, DiCola M, DiLullo NM, Fernandez TV, Fielding-Singh V, Fishman DO, Frahm S, Garagaloyan R, Goh GS, Kammela S, Klei L, Lowe JK, Lund SC, McGrew AD, Meyer KA, Moffat WJ, Murdoch JD, O'Roak BJ, Ober GT, Pottenger RS, Raubeson MJ, Song Y, Wang Q, Yaspan BL, Yu TW, Yurkiewicz IR, Beaudet AL, Cantor RM, Curland M, Grice DE, Günel M, Lifton RP, Mane SM, Martin DM, Shaw CA, Sheldon M, Tischfield JA, Walsh CA, Morrow EM, Ledbetter DH, Fombonne E, Lord C, Martin CL, Brooks AI, Sutcliffe JS, Cook EH Jr, Geschwind D, Roeder K, Devlin B, State MW, Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism, *Neuron.*, 2011

12. Lee EJ, Kim KJ, Kim HN, Bok J, Jung SC, Kim EK, Lee JY, Kim HL, Genome-wide scan of granular corneal dystrophy, type II : confirmation of chromosome 5q31 and identification of new co-segregated loci on chromosome 3q26.3, *Exp Mol Med*, 2011

13. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu TH, Baker C, Williams C, Stalker H, Hamid R, Hannig V, Abdel-Hamid H, Bader P, McCracken E, Niyazov D, Leppig

K, Thiese H, Hummel M, Alexander N, Gorski J, Kussmann J, Shashi V, Johnson K, Rehder C, Ballif BC, Shaffer LG, Eichler EE, A copy number variation morbidity map of developmental delay, *Nat Genet.*, 2011

14. Lesca G, Rudolf G, Labalme A, Hirsch E, Arzimanoglou A, Genton P, Motte J, de Saint Martin A, Valenti MP, Boulay C, De Bellescize J, Kéo-Kosal P, Boutry-Kryza N, Ederly P, Sanlaville D, Szepietowski P, Epileptic encephalopathies of the Landau-Kleffner and continuous spike and waves during slow-wave sleep types : genomic dissection makes the link with autism, *Epilepsia*, 2012

15. O’Roak BJ, Vives L, Girirajan S, Karakoc E, Krumm N, Coe BP, Levy R, Ko A, Lee C, Smith JD, Turner EH, Stanaway IB, Vernot B, Malig M, Baker C, Reilly B, Akey JM, Borenstein E, Rieder MJ, Nickerson DA, Bernier R, Shendure J, Eichler EE, Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of de novo mutations, *Nature*, 2012

16. Leblond CS, Heinrich J, Delorme R, Proepper C, Betancur C, Huguet G, Konyukh M, Chaste P, Ey E, Rastam M, Anckarsäter H, Nygren G, Gillberg IC, Melke J, Toro R, Regnault B, Fauchereau F, Mercati O, Lemièrre N, Skuse D, Poot M, Holt R, Monaco AP, Järvelä I, Kantojärvi K, Vanhala R, Curran S, Collier DA, Bolton P, Chiocchetti A, Klauck SM, Poustka F, Freitag CM, Waltes R, Kopp M, Duketis E, Bacchelli E, Minopoli F, Ruta L, Battaglia A, Mazzone L, Maestrini E, Sequeira AF, Oliveira B, Vicente A, Oliveira G, Pinto D, Scherer SW, Zelenika D, Delepine M, Lathrop M, Bonneau D, Guinchat V, Devillard F, Assouline B, Mouren MC, Leboyer M, Gillberg C, Boeckers TM, Bourgeron T, Genetic and functional analyses of SHANK2 mutations suggest a multiple hit model of autism spectrum disorders, *PLoS Genet.* 2012

17. Millson A, Lagrave D, Willis MJ, Rowe LR, Lyon E, South ST, Chromosomal loss of 3q26.3-3q26.32, involving a partial neuroligin 1 deletion, identified by genomic microarray in a child with microcephaly, seizure disorder, and severe intellectual disability, *Am J Med Genet A.*, 2012

18. Girirajan S, Dennis MY, Baker C, Malig M, Coe BP, Campbell CD, Mark K, Vu TH, Alkan C, Cheng Z, Biesecker LG, Bernier R, Eichler EE, Refinement and discovery of new hotspots of copy-number variation associated with autism spectrum disorder, *Am J Hum Genet.*, 2013

19. Chahine L, Abou-Khalil B, Siren A, Andermann F, Hedera P, Ge Q, Andermann E, Pandolfo M, A new locus for familial temporal lobe epilepsy on chromosome 3q, *Epilepsy Res.*, 2013

20. Yadav S, Cotlarciuc I, Munroe PB, Khan MS, Nalls MA, Bevan S, Cheng YC, Chen WM, Malik R, McCarthy NS, Holliday EG, Speed D, Hasan N, Pucek M, Rinne PE, Sever P, Stanton A, Shields DC, Maguire JM, McEvoy M, Scott RJ, Ferrucci L, Macleod MJ, Attia J, Markus HS, Sale MM, Worrall BB, Mitchell BD, Dichgans M, Sudlow C, Meschia JF, Rothwell PM, Caulfield M, Sharma P; International Stroke Genetics Consortium, Genome-wide analysis of blood pressure variability and ischemic stroke, *Stroke*, 2013
21. Nava C, Keren B, Mignot C, Rastetter A, Chantot-Bastaraud S, Faudet A, Fonteneau E, Amiet C, Laurent C, Jacqueline A, Whalen S, Afenjar A, Périssé D, Doummar D, Dorison N, Leboyer M, Siffroi JP, Cohen D, Brice A, Héron D, Depienne C, Prospective diagnostic analysis of copy number variants using SNP microarrays in individuals with autism spectrum disorders, *Eur J Hum Genet.* 2014
22. Yuen RK, Thiruvahindrapuram B, Merico D, Walker S, Tammimies K, Hoang N, Chrysler C, Nalpathamkalam T, Pellecchia G, Liu Y, Gazzellone MJ, D'Abate L, De-neault E, Howe JL, Liu RS, Thompson A, Zarrei M, Uddin M, Marshall CR, Ring RH, Zwaigenbaum L, Ray PN, Weksberg R, Carter MT, Fernandez BA, Roberts W, Szatmari P, Scherer SW, Whole-genome sequencing of quartet families with autism spectrum disorder, *Nat Med.*, 2015

NGLN2

1. Bremer A, Giacobini M, Eriksson M, Gustavsson P, Nordin V, Fernell E, Gillberg C, Nordgren A, Uppströmer A, Anderlid BM, Nordenskjöld M, Schoumans J, Copy number variation characteristics in subpopulations of patients with autism spectrum disorders, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 2011
2. Sun C1, Cheng MC, Qin R, Liao DL, Chen TT, Koong FJ, Chen G, Chen CH, Identification and functional characterization of rare mutations of the neuroligin-2 gene (*NLGN2*) associated with schizophrenia, *Hum Mol Genet.*, 2011
3. Belligni EF, Di Gregorio E, Biamino E, Calcia A, Molinatto C, Talarico F, Ferrero GB, Brusco A, Silengo MC, 790 Kb microduplication in chromosome band 17p13.1 associated with intellectual disability, afebrile seizures, dysmorphic features, diabetes, and hypothyroidism, *Eur J Med Genet.*, 2012
4. Prasad A, Merico D, Thiruvahindrapuram B, Wei J, Lionel AC, Sato D, Rickaby J, Lu C, Szatmari P, Roberts W, Fernandez BA, Marshall CR, Hatchwell E, Eis PS, Scherer SW, A discovery resource of rare copy number variations in individuals with autism spectrum disorder, *G3 (Bethesda)*, 2012
5. Sajjan SA, Fernandez L, Nieh SE, Rider E, Bukshpun P, Wakahiro M, Christian SL, Rivière JB, Sullivan CT, Sudi J, Herriges MJ, Paciorkowski AR, Barkovich AJ, Glessner JT, Millen KJ, Hakonarson H, Dobyns WB, Sherr EH, Both rare and de novo copy number

variants are prevalent in agenesis of the corpus callosum but not in cerebellar hypoplasia or polymicrogyria, *PLoS Genet.*, 2013

6. Girirajan S, Dennis MY, Baker C, Malig M, Coe BP, Campbell CD, Mark K, Vu TH, Alkan C, Cheng Z, Biesecker LG, Bernier R, Eichler EE, Refinement and discovery of new hotspots of copy-number variation associated with autism spectrum disorder, *Am J Hum Genet.*, 2013

7. Krumm N, O’Roak BJ, Karakoc E, Mohajeri K, Nelson B, Vives L, Jacquemont S, Munson J, Bernier R, Eichler EE, Transmission disequilibrium of small CNVs in simplex autism, *Am J Hum Genet.*, 2013

8. Roberts JL, Hovanes K, Dasouki M, Manzardo AM, Butler MG, Chromosomal microarray analysis of consecutive individuals with autism spectrum disorders or learning disability presenting for genetic services, *Gene*, 2014

9. Mooneyham KA, Holden KR, Cathey S, Dwivedi A, Dupont BR, Lyons MJ, Neurodevelopmental delays and macrocephaly in 17p13.1 microduplication syndrome, *Am J Med Genet A.*, 2014

NGLN3

1. Jamain S, Quach H, Betancur C, Råstam M, Colineaux C, Gillberg IC, Soderstrom H, Giros B, Leboyer M, Gillberg C, Bourgeron T; Paris Autism Research International Sibpair Study, Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism, *Nat Genet.*, 2003

2. Gauthier J, Bonnel A, St-Onge J, Karemera L, Laurent S, Motttron L, Fombonne E, Joobert R, Rouleau GA, NLGN3/NLGN4 gene mutations are not responsible for autism in the Quebec population, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 2005

3. Ylisaukko-oja T1, Rehnström K, Auranen M, Vanhala R, Alen R, Kempas E, Ellonen P, Turunen JA, Makkonen I, Riikonen R, Nieminen-von Wendt T, von Wendt L, Peltonen L, Järvelä I, Analysis of four neuroligin genes as candidates for autism, *Eur J Hum Genet.*, 2005

4. Blasi F, Bacchelli E, Pesaresi G, Carone S, Bailey AJ, Maestrini E; International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (IMGSAC), Absence of coding mutations in the X-linked genes neuroligin 3 and neuroligin 4 in individuals with autism from the IMGSAC collection, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 2006

5. Gong X, Bacchelli E, Blasi F, Toma C, Betancur C, Chaste P, Delorme R, Durand CM, Fauchereau F, Botros HG, Leboyer M, Mouren-Simeoni MC, Nygren G, Anckarsäter H, Rastam M, Gillberg IC, Gillberg C, Moreno-De-Luca D, Carone S, Nummela I, Rossi M,

- Battaglia A; International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (IMGSAC), Jarvela I, Maestrini E, Bourgeron T, Analysis of X chromosome inactivation in autism spectrum disorders, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 2008
6. Glessner JT, Wang K, Cai G, Korvatska O, Kim CE, Wood S, Zhang H, Estes A, Brune CW, Bradfield JP, Imielinski M, Frackelton EC, Reichert J, Crawford EL, Munson J, Sleiman PM, Chiavacci R, Annaiah K, Thomas K, Hou C, Glaberson W, Flory J, Otieno F, Garris M, Soorya L, Klei L, Piven J, Meyer KJ, Anagnostou E, Sakurai T, Game RM, Rudd DS, Zurawiecki D, McDougle CJ, Davis LK, Miller J, Posey DJ, Michaels S, Klevzon A, Silverman JM, Bernier R, Levy SE, Schultz RT, Dawson G, Owley T, McMahon WM, Wassink TH, Sweeney JA, Nurnberger JI, Coon H, Sutcliffe JS, Minshew NJ, Grant SF, Bucan M, Cook EH, Buxbaum JD, Devlin B, Schellenberg GD, Hakonarson H, Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes, *Nature*, 2009
7. Levy D, Ronemus M, Yamrom B, Lee YH, Leotta A, Kendall J, Marks S, Lakshmi B, Pai D, Ye K, Buja A, Krieger A, Yoon S, Troge J, Rodgers L, Iossifov I, Wigler M, Rare de novo and transmitted copy-number variation in autistic spectrum disorders, *Neuron.*, 2011
8. Sanders SJ, Ercan-Sencicek AG, Hus V, Luo R, Murtha MT, Moreno-De-Luca D, Chu SH, Moreau MP, Gupta AR, Thomson SA, Mason CE, Bilguvar K, Celestino-Soper PB, Choi M, Crawford EL, Davis L, Wright NR, Dhodapkar RM, DiCola M, DiLullo NM, Fernandez TV, Fielding-Singh V, Fishman DO, Frahm S, Garagaloyan R, Goh GS, Kammela S, Klei L, Lowe JK, Lund SC, McGrew AD, Meyer KA, Moffat WJ, Murdoch JD, O'Roak BJ, Ober GT, Pottenger RS, Raubeson MJ, Song Y, Wang Q, Yaspan BL, Yu TW, Yurkiewicz IR, Beaudet AL, Cantor RM, Curland M, Grice DE, Günel M, Lifton RP, Mane SM, Martin DM, Shaw CA, Sheldon M, Tischfield JA, Walsh CA, Morrow EM, Ledbetter DH, Fombonne E, Lord C, Martin CL, Brooks AI, Sutcliffe JS, Cook EH Jr, Geschwind D, Roeder K, Devlin B, State MW, Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism, *Neuron.*, 2011
9. Yu J1, He X, Yao D, Li Z, Li H, Zhao Z, A sex-specific association of common variants of neuroligin genes (NLGN3 and NLGN4X) with autism spectrum disorders in a Chinese Han cohort, *Behav Brain Funct.*, 2011
10. Iourov IY, Vorsanova SG, Kurinnaia OS, Zelenova MA, Silvanovich AP, Yurov YB, Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies, *Mol Cytogenet.*, 2012

11. Steinberg KM, Ramachandran D, Patel VC, Shetty AC, Cutler DJ, Zwick ME, Identification of rare X-linked neuroligin variants by massively parallel sequencing in males with autism spectrum disorder, *Mol Autism.*, 2012
12. Yanagi K, Kaname T, Wakui K, Hashimoto O, Fukushima Y, Naritomi K, Identification of Four Novel Synonymous Substitutions in the X-Linked Genes Neuroligin 3 and Neuroligin 4X in Japanese Patients with Autistic Spectrum Disorder, *Autism Res Treat.*, 2012
13. Volaki K, Pampanos A, Kitsiou-Tzeli S, Vrettou C, Oikonomakis V, Sofocleous C, Kanavakis E, Mutation screening in the Greek population and evaluation of NLGN3 and NLGN4X genes causal factors for autism, *Psychiatr Genet.*, 2013
14. Jiang YH, Yuen RK, Jin X, Wang M, Chen N, Wu X, Ju J, Mei J, Shi Y, He M, Wang G, Liang J, Wang Z, Cao D, Carter MT, Chrysler C, Drmic IE, Howe JL, Lau L, Marshall CR, Merico D, Nalpathamkalam T, Thiruvahindrapuram B, Thompson A, Uddin M, Walker S, Luo J, Anagnostou E, Zwaigenbaum L, Ring RH, Wang J, Lajonchere C, Wang J, Shih A, Szatmari P, Yang H, Dawson G, Li Y, Scherer SW, Detection of clinically relevant genetic variants in autism spectrum disorder by whole-genome sequencing, *Am J Hum Genet.*, 2013

NGLN4X

1. Thomas NS, Sharp AJ, Browne CE, Skuse D, Hardie C, Dennis NR, Xp deletions associated with autism in three females, *Hum Genet.* 1999
2. Jamain S, Quach H, Betancur C, Råstam M, Colineaux C, Gillberg IC, Soderstrom H, Giros B, Leboyer M, Gillberg C, Bourgeron T; Paris Autism Research International Sibpair Study, Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism, *Nat Genet.*, 2003
3. Laumonnier F, Bonnet-Brilhault F, Gomot M, Blanc R, David A, Moizard MP, Raynaud M, Ronce N, Lemonnier E, Calvas P, Laudier B, Chelly J, Fryns JP, Ropers HH, Hamel BC, Andres C, Barthélémy C, Moraine C, Briault S, X-linked mental retardation and autism are associated with a mutation in the NLGN4 gene, a member of the neuroligin family, *Am J Hum Genet.*, 2004
4. Ylisaukko-oja T, Rehnström K, Auranen M, Vanhala R, Alen R, Kempas E, Ellonen P, Turunen JA, Makkonen I, Riikonen R, Nieminen-von Wendt T, von Wendt L, Peltonen L, Järvelä I, Analysis of four neuroligin genes as candidates for autism, *Eur J Hum Genet.*, 2005

5. Gauthier J, Bonnel A, St-Onge J, Karemera L, Laurent S, Mottron L, Fombonne E, Joover R, Rouleau GA, NLGN3/NLGN4 gene mutations are not responsible for autism in the Quebec population, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 2005
6. Yan J, Oliveira G, Coutinho A, Yang C, Feng J, Katz C, Sram J, Bockholt A, Jones IR, Craddock N, Cook EH Jr, Vicente A, Sommer SS, Analysis of the neuroligin 3 and 4 genes in autism and other neuropsychiatric patients, *Mol Psychiatry*.
7. Talebizadeh Z, Lam DY, Theodoro MF, Bittel DC, Lushington GH, Butler MG, Novel splice isoforms for NLGN3 and NLGN4 with possible implications in autism, *J Med Genet.*, 2006
8. Blasi F, Bacchelli E, Pesaresi G, Carone S, Bailey AJ, Maestrini E; International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (IMGSAC), Absence of coding mutations in the X-linked genes neuroligin 3 and neuroligin 4 in individuals with autism from the IMGSAC collection, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 2006
9. Rajcan-Separovic E, Harvard C, Liu X, McGillivray B, Hall JG, Qiao Y, Hurlburt J, Hildebrand J, Mickelson EC, Holden JJ, Lewis ME, Clinical and molecular cytogenetic characterisation of a newly recognised microdeletion syndrome involving 2p15-16.1, *J Med Genet.*, 2007
10. Macarov M, Zeigler M, Newman JP, Strich D, Sury V, Tennenbaum A, Meiner V, Deletions of VCX-A and NLGN4 : a variable phenotype including normal intellect, *J Intellect Disabil Res.* 2007
11. Wermter AK, Kamp-Becker I, Strauch K, Schulte-Körne G, Remschmidt H, No evidence for involvement of genetic variants in the X-linked neuroligin genes NLGN3 and NLGN4X in probands with autism spectrum disorder on high functioning level, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 2008
12. Lawson-Yuen A, Saldivar JS, Sommer S, Picker J, Familial deletion within NLGN4 associated with autism and Tourette syndrome, *Eur J Hum Genet.*, 2008
13. Marshall CR, Noor A, Vincent JB, Lionel AC, Feuk L, Skaug J, Shago M, Moessner R, Pinto D, Ren Y, Thiruvahindrapuram B, Fiebig A, Schreiber S, Friedman J, Ketelaars CE, Vos YJ, Ficocioglu C, Kirkpatrick S, Nicolson R, Sloman L, Summers A, Gibbons CA, Teebi A, Chitayat D, Weksberg R, Thompson A, Vardy C, Crosbie V, Luscombe S, Baatjes R, Zwaigenbaum L, Roberts W, Fernandez B, Szatmari P, Scherer SW, Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder, *Am J Hum Genet.*, 2008

14. Kent L, Bowdin S, Kirby GA, Cooper WN, Maher ER, Beckwith Weidemann syndrome : a behavioral phenotype-genotype study, *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 2008
15. Mochel F, Missirian C, Reynaud R, Moncla A, Normal intelligence and social interactions in a male patient despite the deletion of NLGN4X and the VCX genes, *Eur J Med Genet.*, 2008
16. Daoud H, Bonnet-Brilhault F, Védrine S, Demattéi MV, Vourc'h P, Bayou N, Andres CR, Barthélémy C, Laumonnier F, Briault S, Autism and nonsyndromic mental retardation associated with a de novo mutation in the NLGN4X gene promoter causing an increased expression level, *Biol Psychiatry*, 2009
17. Chakrabarti B, Dudbridge F, Kent L, Wheelwright S, Hill-Cawthorne G, Allison C, Banerjee-Basu S, Baron-Cohen S, Genes related to sex steroids, neural growth, and social-emotional behavior are associated with autistic traits, empathy, and Asperger syndrome, *Autism Res.*, 2009
18. Pampanos A, Volaki K, Kanavakis E, Papandreou O, Youroukos S, Thomaidis L, Karkelis S, Tzetis M, Kitsiou-Tzeli S, A substitution involving the NLGN4 gene associated with autistic behavior in the Greek population, *Genet Test Mol Biomarkers*, 2009
19. Qi H, Xing L, Zhang K, Gao X, Zheng Z, Huang S, Guo Y, Zhang F, Positive association of neuroligin-4 gene with nonspecific mental retardation in the Qinba Mountains Region of China, *Psychiatr Genet.*, 2009
20. Zhang C, Milunsky JM, Newton S, Ko J, Zhao G, Maher TA, Tager-Flusberg H, Bolliger MF, Carter AS, Boucard AA, Powell CM, Südhof TC, A neuroligin-4 missense mutation associated with autism impairs neuroligin-4 folding and endoplasmic reticulum export, *J Neurosci.* 2009
21. Horikoshi T, Kikuchi A, Tamaru S, Ono K, Kita M, Takagi K, Miyashita S, Kawame H, Shimokawa O, Harada N, Prenatal findings in a fetus with contiguous gene syndrome caused by deletion of Xp22.3 that includes locus for X-linked recessive type of chondrodysplasia punctata (CDPX1), *J Obstet Gynaecol Res.*, 2010
22. Zhang K, Gao X, Qi H, Li J, Zheng Z, Zhang F, Gender differences in cognitive ability associated with genetic variants of NLGN4, *Neuropsychobiology*, 2010
23. Shen Y, Dies KA, Holm IA, Bridgemohan C, Sobeih MM, Caronna EB, Miller KJ, Frazier JA, Silverstein I, Picker J, Weissman L, Raffalli P, Jeste S, Demmer LA, Peters HK, Brewster SJ, Kowalczyk SJ, Rosen-Sheidley B, McGowan C, Duda AW 3rd, Lincoln SA, Lowe KR, Schonwald A, Robbins M, Hisama F, Wolff R, Becker R, Nasir R, Urion

- DK, Milunsky JM, Rappaport L, Gusella JF, Walsh CA, Wu BL, Miller DT; Autism Consortium Clinical Genetics/DNA Diagnostics Collaboration, Clinical genetic testing for patients with autism spectrum disorders, *Pediatrics*, 2010
24. Avdjieva-Tzavella DM1, Todorov TP, Todorova AP, Kirov AV, Hadjidekova SP, Rukova BB, Litvinenko IO, Hristova-Naydenova DN, Analysis of the genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 in Bulgarian patients with autism, Tincheva RS, Toncheva DI, *Genet Couns.*, 2012
25. Cho EH1, Kim SY, Kim JK, A case of 9.7 Mb terminal Xp deletion including OA1 locus associated with contiguous gene syndrome, *J Korean Med Sci.*, 2012
26. Steinberg KM, Ramachandran D, Patel VC, Shetty AC, Cutler DJ, Zwick ME, Identification of rare X-linked neuroligin variants by massively parallel sequencing in males with autism spectrum disorder, *Mol Autism.*, 2012
27. Yanagi K, Kaname T, Wakui K, Hashimoto O, Fukushima Y, Naritomi K, Identification of Four Novel Synonymous Substitutions in the X-Linked Genes Neuroligin 3 and Neuroligin 4X in Japanese Patients with Autistic Spectrum Disorder, *Autism Res Treat.*, 2012
28. Iourov IY, Vorsanova SG, Kurinnaia OS, Zelenova MA, Silvanovich AP, Yurov YB, Molecular karyotyping by array CGH in a Russian cohort of children with intellectual disability, autism, epilepsy and congenital anomalies, *Mol Cytogenet.*, 2012
29. Willemsen MH1, de Leeuw N, de Brouwer AP, Pfundt R, Hehir-Kwa JY, Yntema HG, Nillesen WM, de Vries BB, van Bokhoven H, Kleefstra T, Interpretation of clinical relevance of X-chromosome copy number variations identified in a large cohort of individuals with cognitive disorders and/or congenital anomalies, *Eur J Med Genet.*, 2012
30. Griswold AJ, Ma D, Cukier HN, Nations LD, Schmidt MA, Chung RH, Jaworski JM, Salyakina D, Konidari I, Whitehead PL, Wright HH, Abramson RK, Williams SM, Menon R, Martin ER, Haines JL, Gilbert JR, Cuccaro ML, Pericak-Vance MA, Evaluation of copy number variations reveals novel candidate genes in autism spectrum disorder-associated pathways, *Hum Mol Genet.*, 2012
31. Volaki K, Pampanos A, Kitsiou-Tzeli S, Vrettou C, Oikonomakis V, Sofocleous C, Kanavakis E, Mutation screening in the Greek population and evaluation of NLGN3 and NLGN4X genes causal factors for autism, *Psychiatr Genet.*, 2013
32. Yu TW, Chahrour MH, Coulter ME, Jiralerspong S, Okamura-Ikeda K, Ataman B, Schmitz-Abe K, Harmin DA, Adli M, Malik AN, D’Gama AM, Lim ET, Sanders SJ, Mochida GH, Partlow JN, Sunu CM, Felie JM, Rodriguez J, Nasir RH, Ware J, Joseph RM, Hill RS, Kwan BY, Al-Saffar M, Mukaddes NM, Hashmi A, Balkhy S, Gascon

GG, Hisama FM, LeClair E, Poduri A, Oner O, Al-Saad S, Al-Awadi SA, Bastaki L, Ben-Omran T, Teebi AS, Al-Gazali L, Eapen V, Stevens CR, Rappaport L, Gabriel SB, Markianos K, State MW, Greenberg ME, Taniguchi H, Braverman NE, Morrow EM, Walsh CA, Using whole-exome sequencing to identify inherited causes of autism, *Neuron.*, 2013

33. Battaglia A, Doccini V, Bernardini L, Novelli A, Loddo S, Capalbo A, Filippi T, Carey JC, Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features, *Eur J Paediatr Neurol.*, 2013

34. Xu X1, Xiong Z, Zhang L, Liu Y, Lu L, Peng Y, Guo H, Zhao J, Xia K, Hu Z, Variations analysis of NLGN3 and NLGN4X gene in Chinese autism patients, *Mol Biol Rep.*, 2014

NGLN4Y

1. Ylisaukko-oja T, Rehnström K, Auranen M, Vanhala R, Alen R, Kempas E, Ellonen P, Turunen JA, Makkonen I, Riikonen R, Nieminen-von Wendt T, von Wendt L, Peltonen L, Järvelä I, Analysis of four neuroligin genes as candidates for autism, *Eur J Hum Genet.*, 2005

2. Yan J, Oliveira G, Coutinho A, Yang C, Feng J, Katz C, Sram J, Bockholt A, Jones IR, Craddock N, Cook EH Jr, Vicente A, Sommer SS, Analysis of the neuroligin 3 and 4 genes in autism and other neuropsychiatric patients, *Mol Psychiatry.*

3. Serajee FJ1, Mahbubul Huq AH, Association of Y chromosome haplotypes with autism, *J Child Neurol.*, 2009

4. Shen Y, Dies KA, Holm IA, Bridgemohan C, Sobeih MM, Caronna EB, Miller KJ, Frazier JA, Silverstein I, Picker J, Weissman L, Raffalli P, Jeste S, Demmer LA, Peters HK, Brewster SJ, Kowalczyk SJ, Rosen-Sheidley B, McGowan C, Duda AW 3rd, Lincoln SA, Lowe KR, Schonwald A, Robbins M, Hisama F, Wolff R, Becker R, Nasir R, Urion DK, Milunsky JM, Rappaport L, Gusella JF, Walsh CA, Wu BL, Miller DT; Autism Consortium Clinical Genetics/DNA Diagnostics Collaboration, Clinical genetic testing for patients with autism spectrum disorders, *Pediatrics*, 2010

5. Bishop DV1, Scerif G, Klinefelter syndrome as a window on the aetiology of language and communication impairments in children : the neuroligin-neurexin hypothesis, *Acta Paediatr.*, 2011

6. Cordeiro L1, Tartaglia N, Roeltgen D, Ross J, Social deficits in male children and adolescents with sex chromosome aneuploidy : a comparison of XXY, XYY, and XXYY syndromes, *Res Dev Disabil.*, 2012
7. Hedges DJ, Hamilton-Nelson KL, Sacharow SJ, Nations L, Beecham GW, Kozhekbaeva ZM, Butler BL, Cukier HN, Whitehead PL, Ma D, Jaworski JM, Nathanson L, Lee JM, Hauser SL, Oksenberg JR, Cuccaro ML, Haines JL, Gilbert JR, Pericak-Vance MA, Evidence of novel fine-scale structural variation at autism spectrum disorder candidate loci, *Mol Autism.*, 2012
8. O’Roak BJ, Vives L, Girirajan S, Karakoc E, Krumm N, Coe BP, Levy R, Ko A, Lee C, Smith JD, Turner EH, Stanaway IB, Vernot B, Malig M, Baker C, Reilly B, Akey JM, Borenstein E, Rieder MJ, Nickerson DA, Bernier R, Shendure J, Eichler EE, Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of de novo mutations, *Nature*, 2012
9. Ross JL, Tartaglia N, Merry DE, Dalva M, Zinn AR, Behavioral phenotypes in males with XYY and possible role of increased NLGN4Y expression in autism features, *Genes Brain Behav.*, 2015

Bibliographie

- [1] Leo Kanner. *Autistic disturbances of affective contact*. Nervous Child, 1943.
- [2] Hans ASPERGER. *Die autistische Psychopathen im Kindesalter*. Archiv für psychiatrie und nervenkrankheiten, 1944.
- [3] Dsm-v, 2013. URL <http://www.dsm5.org/Documents/Autism%20Spectrum%20Disorder%20Fact%20Sheet.pdf>.
- [4] Freitag CM. The genetics of autistic disorders and its clinical relevance : a review of the literature. *Mol Psychiatry.*, 2007.
- [5] Lombardo Michael V. Auyeung Bonnie Chakrabarti Bhisimadev Baron-Cohen Simon Lai, Meng-Chuan. Sex/gender differences and autism : setting the scene for future research. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2015.
- [6] Fernell Gillberg. Autism spectrum disorder diagnoses in stockholm preschoolers. *Res Dev Disabil.*, 2010.
- [7] Centers for Disease Control and Prevention. Prevalence of autism spectrum disorders—autism and developmental disabilities monitoring network, 14 sites, united states, 2008. autism and developmental disabilities monitoring network surveillance year 2008. *MMWR Surveill Summ.*, 2012.
- [8] Gyllenberg D Langridge A Sandin S Hansen SN Leonard H Gissler M Reichenberg A Schendel DE Bourke J Hultman CM Grice DE Buxbaum JD Parner ET. Atladottir HO1. The increasing prevalence of reported diagnoses of childhood psychiatric disorders : a descriptive multinational comparison. *Eur Child Adolesc Psychiatry.*, 2014.
- [9] Langridge A Sandin S Hansen SN Leonard H Gissler M Reichenberg A Schendel DE Bourke J Hultman CM Grice DE Buxbaum JD Parner ET Atladottir HO, Gyllenberg D. The increasing prevalence of reported diagnoses of childhood psychiatric disorders : a descriptive multinational comparison. *Eur Child Adolesc Psychiatry.*, 2015.

- [10] Itard. *Mémoire sur le mutisme produit par la lésion des fonctions intellectuelles*. Mémoires de l'Académie royale de médecine, Paris, 1828.
- [11] Bourneville. *Assistance, traitement et éducation des enfants idiots et dégénérés, Rapport fait au Congrès national d'assistance publique*. Col. Bibliothèque d'Éducation Spéciale, No 4, Alcan, Paris, 1895.
- [12] Emil Kraepelin. *Introduction à la psychiatrie clinique*. Hachette Livre BNF, Coll. : Sciences, ISBN 2012889786, 1907.
- [13] Bleuler. *La découverte de l'autisme*. 1912.
- [14] Mélanie Klein. *Déductions théoriques à partir d'une analyse de démence précoce dans l'enfance précoce*. Paris, P.U.F., 1929.
- [15] Tracy Cermak Opal Ousley. Autism spectrum disorder : Defining dimensions and subgroups. *Curr Dev Disord Rep.*, 2013.
- [16] Dr Bernard Golse. À propos de l'autisme et des troubles envahissants du développement. du « processus autistique » à l'autisme de scanner... URL http://www.cairn.info/resume.php?ID_ARTICLE=PSYE_501_0029.
- [17] Bruno Bettelheim. *La Forteresse vide*. Gallimard, 1969.
- [18] Margaret Malher. *Psychose infantile : symbiose humaine et individuation*. Paris : Payot, 1990.
- [19] Bonnie Evans. How autism became autism : The radical transformation of a central concept of child development in Britain. *Hist Human Sci.*, 2013.
- [20] Claude Bernard. *Principes de médecine expérimentale*. Émile Martinet éditeur, 160 p. (OCLC 45998924), 1867.
- [21] Cim-10. URL <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2008/fr>.
- [22] Cftmea. URL <http://www.psychiatrie-francaise.com/Data/Documents/files/CFTMEA%20-%20R-2012.pdf>.
- [23] Rutter M. Research review : Child psychiatric diagnosis and classification : concepts, findings, challenges and potential. *J Child Psychol Psychiatry.*, 2011.
- [24] Toro R Leboyer M Gillberg C Bourgeron T Delorme R1, Ey E. Progress toward treatments for synaptic defects in autism. *Nat Med.*, 2013.
- [25] Docteur Amaria Baghdadi. Fédération française de psychiatrie. Recommandations pour la pratique professionnelle du diagnostic de l'autisme,

2005. URL http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/recommandations_autisme.pdf.
- [26] Recommandation de bonne pratique, autisme et autres troubles envahissants du développement : interventions éducatives et thérapeutiques coordonnées chez l'enfant et l'adolescent, 2012. URL http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-03/recommandations_autisme_ted_enfant_adolescent_interventions.pdf.
- [27] Gillberg C Lundervold AJ Hysing M Sivertsen B, Posserud MB. Sleep problems in children with autism spectrum problems : a longitudinal population-based study. *Autism*, 2012.
- [28] Pescosolido MF McLean RL Joseph RM Spence SJ Morrow EM Viscidi EW, Triche EW. Clinical characteristics of children with autism spectrum disorder and co-occurring epilepsy. *PLoS One*, 2013.
- [29] Karpen S Sharp WG McElhanon BO, McCracken C. Gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder : a meta-analysis. *Pediatrics*, 2014.
- [30] Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2010 Principal Investigators ; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, united states, 2010. *MMWR Surveill Summ.*, 2014.
- [31] Profil sensoriel de dunn, 2010. URL <http://www.ecpa.fr/psychologie-clinique/test.asp?id=1969>.
- [32] Pina L Moreno C González-Vioque E Zalsman G Arango C Parellada M, Penzol MJ. The neurobiology of autism spectrum disorders. *Eur Psychiatry*, 2014.
- [33] Lasalle JM. Autism genes keep turning up chromatin. *OA Autism*, 2013.
- [34] McEwen F Stewart C Curran SR Woodhouse E Gillan N Hallett V Lietz S Garnett T Ronald A Plomin R Rijdsdijk F Happé F Bolton P Colvert E, Tick B. Heritability of autism spectrum disorder in a uk population-based twin sample. *JAMA Psychiatry*, 2015.
- [35] Baron-Cohen S Lauritsen MB Jørgensen M-Schieve LA Yeargin-Allsopp M Obel C Parner ET. Parental age and autism spectrum disorders. *Ann Epidemiol.*, 2012.
- [36] Ergaz Z Ornoy A, Weinstein-Fudim L. Prenatal factors associated with autism spectrum disorder (asd). *Reprod Toxicol.*, 2015.

- [37] Phillips J Cohen B Torigoe T Miller J Fedele A-Collins J Smith K Lotspeich L Croen LA Ozono S Lajonchere C Grether JK O'Hara R Hallmayer J Froehlich-Santino W Londono Tobon A Cleveland S, Torres A. Prenatal and perinatal risk factors in a twin study of autism spectrum disorders. *J Psychiatr Res.*, 2014.
- [38] Swerdfeger AL Eslick GD. Taylor LE. Vaccines are not associated with autism : An evidence-based meta-analysis of case-control and cohort studies. *Vaccine*, 2014.
- [39] Rosenfeld CS. Microbiome disturbances and autism spectrum disorders. *Drug Metab Dispos.*, 2015.
- [40] Geschwind DH Werling DM. Recurrence rates provide evidence for sex-differential, familial genetic liability for autism spectrum disorders in multiplex families and twins. *Mol Autism.*, 2015.
- [41] Hallett V Happé F Plomin R Ronald A. Holmboe K, Rijdsdijk FV. Strong genetic influences on the stability of autistic traits in childhood. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2014.
- [42] Diaz-Anzaldú A. Diaz-Martinez A. [genetic, environmental, and epigenetic contribution to the susceptibility to autism spectrum disorders]. *Rev Neurol.*, 2013.
- [43] Orphanet : Rett syndrome. URL [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=91&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=rett&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Rett-syndrome&title=Rett-syndrome&search=Disease_Search_Simple](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=91&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=rett&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Rett-syndrome&title=Rett-syndrome&search=Disease_Search_Simple).
- [44] Orphanet : Fragil x syndrome. URL [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=120&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Fragile-X-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Fragile-X-syndrome&title=Fragile-X-syndrome&search=Disease_Search_Simple](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=120&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Fragile-X-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Fragile-X-syndrome&title=Fragile-X-syndrome&search=Disease_Search_Simple).
- [45] Fragile x syndrome. URL <http://www.smartspeechtherapy.com/spotlight-on-syndromes-an-slps-perspective-on-fragile-x-syndrome/>.
- [46] Orphanet : Tuberous sclerosis. URL http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=660&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=bourneville&Disease_

- Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Tuberous-sclerosis--Bourneville-syndrome-&title=Tuberous-sclerosis--Bourneville-syndrome-&search=Disease_Search_Simple.
- [47] Reddy KS. Cytogenetic abnormalities and fragile-x syndrome in autism spectrum disorder. *BMC Med Genet.*, 2005.
- [48] Orphanet : Fraxe. URL [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=90&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Angelman&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Angelman-syndrome&title=Angelman-syndrome&search=Disease_Search_Simple](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=90&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Angelman&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Angelman-syndrome&title=Angelman-syndrome&search=Disease_Search_Simple).
- [49] Orphanet : Syndrome de parder-willi, . URL [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=139&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Prader-Willi-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Prader-Willi-syndrome&title=Prader-Willi-syndrome&search=Disease_Search_Simple](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=139&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Prader-Willi-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Prader-Willi-syndrome&title=Prader-Willi-syndrome&search=Disease_Search_Simple).
- [50] Orphanet : Syndrome de parder-willi, . URL <https://www.orpha.net/data/patho/Pro/fr/PraderWilli-FRfrPro139.pdf>.
- [51] Shen M de la Grange P Stamm S Falaleeva M, Surface J. Snord116 and snord115 change expression of multiple genes and modify each other's activity. *Gene.*, 2015.
- [52] Orphanet : Fraxe. URL [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=126&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=DiGeorge-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=22q11-2-deletion-syndrome--DiGeorge-syndrome-&title=22q11-2-deletion-syndrome--DiGeorge-syndrome-&search=Disease_Search_Simple](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=126&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=DiGeorge-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=22q11-2-deletion-syndrome--DiGeorge-syndrome-&title=22q11-2-deletion-syndrome--DiGeorge-syndrome-&search=Disease_Search_Simple).
- [53] Orphanet : Fraxe. URL [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=588&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sotos&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Sotos-syndrome&title=Sotos-syndrome&search=Disease_Search_Simple](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=588&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=sotos&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Sotos-syndrome&title=Sotos-syndrome&search=Disease_Search_Simple).
- [54] orphanet : Syndrome de smith, 2007. URL http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=FR&data_id=11705&Disease_Disease_

- [Search_diseaseGroup=AP1S2&Disease_Disease_Search_diseaseType=Gen&Maladie\(s\)/groupes%20de%20maladies=Syndrome-de-Fried&title=Syndrome-de-Fried&search=Disease_Search_Simple.](#)
- [55] Zimmerman AW Tierney E Bukelis I, Porter FD. Smith-lemli-opitz syndrome and autism spectrum disorder. *Am J Psychiatry.*, 2007.
- [56] Orphanet : Phelan mac dermid syndrome. URL [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=10630&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Phelan-McDermid-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Monosomy-22q13--Phelan-McDermid-syndrome-&title=Monosomy-22q13--Phelan-McDermid-syndrome-&search=Disease_Search_Simple](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=10630&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Phelan-McDermid-syndrome&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Monosomy-22q13--Phelan-McDermid-syndrome-&title=Monosomy-22q13--Phelan-McDermid-syndrome-&search=Disease_Search_Simple).
- [57] Delorme R Bourgeron T Guilmatre A, Huguet G. The emerging role of shank genes in neuropsychiatric disorders. *Dev Neurobiol.*, 2014.
- [58] Gupta AR Murdoch JD Raubeson MJ Willsey AJ Ercan-Sencicek AG DiLullo NM Parikshak NN Stein JL Walker MF Ober GT Teran NA Song Y El-Fishawy P Murtha RC Choi M Overton JD Bjornson RD Carriero NJ Meyer KA Bilguvar K Mane SM Sestan N Lifton RP Gunel M Roeder K Geschwind DH Devlin B State MW Sanders SJ1, Murtha MT. De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature*, 2012.
- [59] Dueker ND Slifer SH Lee JM Whitehead PL Lalanne E Leyva N Konidari I Gentry RC Hulme WF Booven DV Mayo V Hofmann NK Schmidt MA Martin ER-Haines JL Cuccaro ML Gilbert JR Pericak-Vance MA Cukier HN. Exome sequencing of extended families with autism reveals genes shared across neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *Mol Autism.*, 2014.
- [60] Simons Fondation Autism Research Initiative. Human gene module. URL https://gene.sfari.org/autdb/HG_Home.do.
- [61] Bourgeron T Huguet G, Ey E. The genetic landscapes of autism spectrum disorders. *Annu Rev Genomics Hum Genet.*, 2013.
- [62] Fish. URL https://en.wikipedia.org/wiki/Fluorescence_in_situ_hybridization.
- [63] Fish. URL <http://www.slh.wisc.edu/clinical/cytogenetics/fish/>.
- [64] Delaby E Pinto D and col. Convergence of genes and cellular pathways dysregulated in autism spectrum disorders. *Am J Hum Genet.*, 2014.

- [65] Klei L Anney R Merico D Regan R Conroy J Magalhaes TR Correia C Abrahams BS Almeida J Bacchelli E Bader GD-Bailey AJ Baird G Battaglia A Berney T Bolshakova N Bölte S Bolton PF Bourgeron T Brennan S Brian J Bryson SE Carson AR Casallo G Casey J Chung BH Cochrane L Corsello C Crawford EL Crossett A Cytrynbaum C Dawson G de Jonge M Delorme R Drmic I Duketis E Duque F Estes A Farrar P Fernandez BA Folstein SE Fombonne E-Freitag CM Gilbert J Gillberg C Glessner JT Goldberg J Green A Green J Guter SJ Hakonarson H Heron EA Hill M Holt R Howe JL Hughes G Hus V Iglizzi R Kim C Klauck SM-Kolevzon A Korvatska O Kustanovich V Lajonchere CM Lamb JA Laskawiec M Leboyer M Le Couteur A Leventhal BL Lionel AC Liu XQ Lord C Lotspeich L Lund SC Maestrini E Mahoney W Mantoulan C Marshall CR McConachie H McDougle CJ McGrath J McMahon WM Merikangas A Migita O Minshew NJ Mirza GK Munson J Nelson SF Noakes C Noor A Nygren G Oliveira G Papanikolaou K Parr JR Parrini B Paton T Pickles A Pilorge M Piven J Ponting CP Posey DJ Poustka A Poustka F Prasad A Ragoussis J Renshaw K Rickaby J Roberts W Roeder K Roge B Rutter ML Bierut LJ Rice JP Salt J Sansom K Sato D Segurado R Sequeira AF Senman L Shah N Sheffield VC Soorya L Sousa I Stein O Sykes N Stoppioni V Strawbridge C Tancredi R Tansey K Thiruvahindrapduram B Thompson AP Thomson S Tryfon A Tsiantis J Van Engeland H Vincent JB Volkmar F Wallace S Wang K Wang Z Wassink TH Webber C Weksberg R Wing K Wittemeyer K Wood S Wu J Yaspan BL Zurawiecki D Zwaigenbaum L Buxbaum JD Cantor RM Cook EH Coon H Cuccaro ML Devlin B Ennis S Gallagher L Geschwind DH Gill M Haines JL Hallmayer J Miller J Monaco AP Nurnberger JI Jr Paterson AD Pericak-Vance MA Schellenberg GD Szatmari P Vicente AM Vieland VJ Wijsman EM Scherer SW Sutcliffe JS Betancur C. Pinto D, Pagnamenta AT. Functional impact of global rare copy number variation in autism spectrum disorders. *Nature*, 2010.
- [66] Cheung SW Shinawi M. The array cgh and its clinical applications. *Drug Discov.*, 2008.
- [67] Principe de la cgh-array. URL <http://slideplayer.fr/slide/1149198/#>.
- [68] Ecole Normale Supérieure Frédéric Devaux, Laboratoire de génétique moléculaire. Quelques notions de quelques notions de génomique fonctionnelle : l'exemple des puces ple des puces à adn. URL <http://campus.cerimes.fr/genetique-medicale/enseignement/genetique19/site/html/cours.pdf>.
- [69] Paris V Université Pierre et Marie Curie. Cours de génétique. URL http://www.edu.upmc.fr/sdv/masselot_05001/polymorphisme/snp.html.

- [70] Service d'Histo-Embryo-Cytogénétique Hôpital Necker Enfants Malades Paris
Serge Romana, Valérie Malan. Cytogénétique moléculaire, collège national des
enseignants et praticiens de génétique médicale. URL [http://campus.cerimes.
fr/genetique-medicale/enseignement/genetique19/site/html/cours.pdf](http://campus.cerimes.fr/genetique-medicale/enseignement/genetique19/site/html/cours.pdf).
- [71] Wikipedia Encyclopedie. Mutations génétiques. URL
[https://fr.wikipedia.org/wiki/Mutation_\(g%C3%A9n%C3%A9tique\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Mutation_(g%C3%A9n%C3%A9tique)).
- [72] 1000 genomes project, . URL <http://www.1000genomes.org/>.
- [73] 1000 genomes project, . URL <http://autism.mindspec.org/autdb/Welcome.do>.
- [74] PubMed. Articles : autisme et génétique. URL
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=autism+genetics>.
- [75] Girirajan S-Rosenfeld JA Vu TH Baker C Williams C Stalker H Hamid R Hannig
V Abdel-Hamid H Bader P McCracken E Niyazov D Leppig K Thiese H Hummel
M Alexander N Gorski J Kussmann J Shashi V Johnson K Rehder C Ballif BC
Shaffer LG Eichler EE Cooper GM, Coe BP. A copy number variation morbidity
map of developmental delay. *Nat Genet.*, 2011.
- [76] Sanders SJ-Ronemus M Krumm N Levy D Stessman HA Witherspoon KT Vives
L Patterson KE Smith JD Paeper B Nickerson DA Dea J Dong S Gonzalez LE
Mandell JD Mane SM Murtha MT Sullivan CA Walker MF Waqar Z Wei L
Willsey AJ Yamrom B Lee YH Grabowska E Dalkic E Wang Z Marks S Andrews
P Leotta A Kendall J Hakker I Rosenbaum J Ma B Rodgers L Troge J Narzisi G
Yoon S Schatz MC Ye K McCombie WR Shendure J Eichler EE State MW
Wigler M Iossifov I, O'Roak BJ. The contribution of de novo coding mutations to
autism spectrum disorder. *Nature*, 2014.
- [77] Sfari. URL https://gene.sfari.org/autdb/HG_About.do.
- [78] Goldberg AP Poultney CS Samocha K Cicek AE Kou Y Liu L Fromer M Walker
S Singh T Klei L Kosmicki J Shih-Chen F Aleksic B Biscaldi M Bolton PF
Brownfeld JM Cai J Campbell NG Carracedo A Chahrour MH Chiochetti AG
Coon H Crawford EL Curran SR Dawson G Duketis E Fernandez BA Gallagher
L Geller E Guter SJ Hill RS Ionita-Laza J Jimenz Gonzalez P Kilpinen H Klauck
SM Kolevzon A Lee I Lei I Lei J Lehtimäki T Lin CF Ma'ayan A Marshall CR
McInnes AL Neale B Owen MJ Ozaki N Parellada M Parr JR Purcell S Puura K
Rajagopalan D Rehnström K Reichenberg A Sabo A Sachse M Sanders SJ
Schafer C Schulte-Rüther M Skuse D Stevens C Szatmari P Tammimies K
Valladares O Voran A Li-San W Weiss LA Willsey AJ Yu TW Yuen RK ; DDD
Study ; Homozygosity Mapping Collaborative for Autism ; UK10K Consortium

- Cook EH Freitag CM Gill M Hultman CM Lehner T Palotie A Schellenberg GD Sklar P State MW Sutcliffe JS Walsh CA Scherer SW Zwick ME Barrett JC Cutler DJ Roeder K Devlin B Daly MJ Buxbaum JD De Rubeis S, He X. Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, 2014.
- [79] Bourgeron T. The genetics and neurobiology of autism : The third birgit olsson lecture. *Nord J Psychiatry.*, 2015.
- [80] Boeckers TM Bockmann J Chaste P Fauchereau F Nygren G Rastam M Gillberg IC Anckarsäter H Sponheim E Goubran-Botros H Delorme R Chabane N Mouren-Simeoni MC de Mas P Bieth E Rogé B Héron D Burglen L Gillberg C Leboyer M Bourgeron T Durand CM, Betancur C. Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein shank3 are associated with autism spectrum disorders. *Nat Genet.*, 2007.
- [81] Sutcliffe JS Skaug J Pinto D Vincent J Zwaigenbaum L Fernandez B Roberts W Szatmari P Scherer SW Moessner R, Marshall CR. Contribution of shank3 mutations to autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet.*, 2007.
- [82] Yan J Song W Yang C Bockholt A Cook EH Jr Skinner C Schwartz CE Sommer SS Feng J, Schroer R. High frequency of neurexin 1beta signal peptide structural variants in patients with autism. *Neurosci Lett.*, 2006.
- [83] Jamain S Quach H Betancur C Rastam M, Colineaux C Gillberg IC Soderstrom H Giros B Leboyer M Gillberg C Bourgeron T ; Paris Autism Research International Sibpair Study. Mutations of the x-linked genes encoding neuroligins nlg3 and nlg4 are associated with autism. *Nat Genet.*, 2003.
- [84] Wang L Guo J Shen J et col. Intra-family phenotypic heterogeneity of 16p11.2 deletion carriers in a three-generation chinese family. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.*, 2011.
- [85] Shendure J Eichler EE Krumm N, O’Roak BJ. A de novo convergence of autism genetics and molecular neuroscience. *Trends Neurosci.*, 2014.
- [86] Tammimies K Pellicchia G Alipanahi B Hu P Wang Z Pinto D Lau L Nalpathamkalam T Marshall CR Blencowe BJ Frey BJ Merico D Yuen RK Scherer SW Uddin M. Brain-expressed exons under purifying selection are enriched for de novo mutations in autism spectrum disorder. *Nat Genet.*, 2014.
- [87] Delorme R Proepper C Betancur C Huguet G Konyukh M Chaste P Ey E Rastam M Anckarsäter H Nygren G Gillberg IC Melke J Toro R-Regnault B Fauchereau F Mercati O Lemièrre N Skuse D Poot M Holt R Monaco AP Järvelä

- I Kantojärvi K Vanhala R Curran S Collier DA Bolton P Chiocchetti A Klauck SM Poustka F Freitag CM Waltes R Kopp M Duketis E Bacchelli E Minopoli F Ruta L Battaglia A Mazzone L Maestrini E Sequeira AF Oliveira B Vicente A Oliveira G Pinto D Scherer SW Zelenika D Delepine M Lathrop M Bonneau D Guinchat V Devillard F Assouline B Mouren MC Leboyer M Gillberg C Boeckers TM Bourgeron T. Leblond CS, Heinrich J. Genetic and functional analyses of shank2 mutations suggest a multiple hit model of autism spectrum disorders. *PLoS Genet.*, 2012.
- [88] Knudson hypothesis, 2014. URL http://en.wikipedia.org/wiki/Knudson_hypothesis.
- [89] Exome variant server. URL <http://evs.gs.washington.edu/EVS/>.
- [90] dbSNP (build 137). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>.
- [91] Primer3plus. URL <http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus>.
- [92] pcr. URL <http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr>.
- [93] Dapple. URL <http://www.broadinstitute.org/mpg/dapple/dapple.php>.
- [94] Database of genomic variants. URL <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>.
- [95] Sift human protein. URL http://sift.jcvi.org/www/SIFT_enst_submit.html.
- [96] Polyphen2, . URL <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>.
- [97] Geneontology. URL <http://geneontology.org/page/go-enrichment-analysis>.
- [98] National institute of mental health. URL <https://www.nimh.nih.gov/index.shtml>.
- [99] National institute of mental health : Any mental illness among adults, . URL <http://www.nimh.nih.gov/health/statistics/prevalence/any-mental-illness-ami-among-adults.shtml>.
- [100] National institute of mental health : Social phobia, . URL <http://www.nimh.nih.gov/health/statistics/prevalence/social-phobia-among-adults.shtml>.
- [101] National institute of mental health : Adhd, . URL <http://www.nimh.nih.gov/health/statistics/prevalence/attention-deficit-hyperactivity-disorder-among-children.shtml>.

- [102] National institute of mental health : Anxiety disorder, . URL <http://www.nimh.nih.gov/health/statistics/prevalence/any-anxiety-disorder-among-adults.shtml>.
- [103] National institute of mental health : Mood disorders, . URL <http://www.nimh.nih.gov/health/statistics/prevalence/any-mood-disorder-among-adults.shtml>.
- [104] National institute of mental health : Obsessive compulsive disorder, . URL <http://www.nimh.nih.gov/health/statistics/prevalence/obsessive-compulsive-disorder-among-adults.shtml>.
- [105] National institute of mental health : Eating disorder, . URL <http://www.nimh.nih.gov/health/statistics/prevalence/eating-disorders-among-children.shtml>.
- [106] Merico D Walker S Tammimies K Hoang N Chrysler C Nalpathamkalam T Pellecchia G Liu Y Gazzellone MJ D'Abate L Deneault E Howe JL Liu RS-Thompson A Zarrei M Uddin M Marshall CR Ring RH Zwaigenbaum L Ray PN Weksberg R Carter MT Fernandez BA Roberts W Szatmari P Scherer SW Yuen RK, Thiruvahindrapuram B. Whole-genome sequencing of quartet families with autism spectrum disorder. *Nat Med.*, 2015.
- [107] Sudi J Kumar RA Liu S Karamohamed S Badner JA Matsui S Conroy J McQuaid D Gergel J Hatchwell E Gilliam TC Gershon ES Nowak NJ-Dobyns WB Cook EH Jr Christian SL, Brune CW. Novel submicroscopic chromosomal abnormalities detected in autism spectrum disorder. *Biol Psychiatry.*, 2008.
- [108] Labalme A Hirsch E Arzimanoglou A Genton P Motte J de Saint Martin A Valenti MP Boulay C De Bellescize J Kéo-Kosal P Boutry-Kryza N Edery P Sanlaville D Szepetowski P Lesca G, Rudolf G. Epileptic encephalopathies of the landau-kleffner and continuous spike and waves during slow-wave sleep types : genomic dissection makes the link with autism. *Epilepsia*, 2012.
- [109] Eriksson M Gustavsson P Nordin V Fernell E Gillberg C Nordgren A Uppströmer A Anderlid BM Nordenskjöld M Schoumans J Bremer A, Giacobini M. Copy number variation characteristics in subpopulations of patients with autism spectrum disorders. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2011.
- [110] Thiruvahindrapuram B Wei J Lionel AC Sato D Rickaby J Lu C Szatmari P Roberts W Fernandez BA Marshall CR Hatchwell E-Eis PS Scherer SW Prasad A, Merico D. A discovery resource of rare copy number variations in individuals with autism spectrum disorder. *G3 (Bethesda)*, 2012.

- [111] Dasouki M, Manzardo AM, Butler MG, Roberts JL, Hovanes K. Chromosomal microarray analysis of consecutive individuals with autism spectrum disorders or learning disability presenting for genetic services. *Gene*, 2014.
- [112] Karakoc E, Mohajeri K, Nelson B, Vives L, Jacquemont S, Munson J, Bernier R, Eichler EE, Krumm N, O’Roak BJ. Transmission disequilibrium of small cnvs in simplex autism. *Am J Hum Genet.*, 2013.
- [113] Baker C, Malig M, Coe BP, Campbell CD, Mark K, Vu TH, Alkan C, Cheng Z, Biesecker LG, Bernier R, Eichler EE, Girirajan S, Dennis MY. Refinement and discovery of new hotspots of copy-number variation associated with autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet.*, 2013.
- [114] Biamino E, Calcia A, Molinatto C, Talarico F, Ferrero GB, Brusco A, Silengo MC, Belligni EF, Di Gregorio E. 790 kb microduplication in chromosome band 17p13.1 associated with intellectual disability, afebrile seizures, dysmorphic features, diabetes, and hypothyroidism. *Eur J Med Genet*, 2012.
- [115] Cathey S, Dwivedi A, Dupont BR, Lyons MJ, Mooneyham KA, Holden KR. Neurodevelopmental delays and macrocephaly in 17p13.1 microduplication syndrome. *Am J Med Genet A*, 2014.
- [116] Furlong S, Heron E, Kenny G, Fahey C, Kelleher E, Ennis S, Tropea D, Anney R, Corvin AP, Donohoe G, Gallagher L-Gill M, Morris DW, Kenny EM, Cormican P. Excess of rare novel loss-of-function variants in synaptic genes in schizophrenia and autism spectrum disorders. *Mol Psychiatry*, 2014.
- [117] Mahbubul Huq AH, Serajee FJ. Association of y chromosome haplotypes with autism. *J Child Neurol.*, 2009.
- [118] Cartagenia. URL <http://www.cartagenia.com/?product=bench-lab-cnvr>.
- [119] Martin Holtmann, Christine Freitag, Fritz Poustka, Sven Bölte, Eva Westerwald. Autistic traits and autism spectrum disorders : The clinical validity of two measures presuming a continuum of social communication skills. *J Autism Dev Disord.*, 2011.
- [120] Aman MG, Lam KS. The repetitive behavior scale-revised : independent validation in individuals with autism spectrum disorders. *J Autism Dev Disord.*, 2007.
- [121] Moorhead M, Fakhrai-Rad H, Namsaraev E, Wong K, Wang Z, Chow SG, Lee L, Suyenaga K, Reichert J, Boudreau A, Eberle J, Bruckner C, Jain M, Karlin-Neumann G, Jones HB, Willis TD, Buxbaum JD, Davis RW, Faham M, Zheng J. Multiplexed

- variation scanning for 1,000 amplicons in hundreds of patients using mismatch repair detection (mrd) on tag arrays. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 2005.
- [122] Barros-Núñez P Peprah E Xu H, Rosales-Reynoso MA. Dna repair/replication transcripts are down regulated in patients with fragile x syndrome. *BMC Res Notes.*, 2013.
- [123] Exome variant server. URL <http://evs.gs.washington.edu/EVS/>.
- [124] String protein tool : Srgap3. URL http://string-db.org/newstring.cgi/show_network_section.pl.
- [125] Foyt Bruun C Gunnarsson C. Molecular characterization and clinical features of a patient with an interstitial deletion of 3p25.3-p26.1. *Am J Med Genet A.*, 2010.
- [126] Genebook : Schizophrenia. URL <http://atgu.mgh.harvard.edu/~spurcell/genebook/genebook.cgi?user=guest&cmd=verb-geneset&tbox=%7Bsecondary%7D%7BFMRP-Darnell%7D>.
- [127] Leimer U-Bartsch D Zatyka M Latif F Maher ER Tariverdian G Kirsch S Karch D Rappold GA Endris V, Wogatzky B. The novel rho-gtpase activating gene megap/ srgap3 has a putative role in severe mental retardation. *Proc Natl Acad Sci*, 2002.
- [128] String protein tool : Slc25a22. URL http://string-db.org/newstring.cgi/show_network_section.pl.
- [129] Chitsazzadeh V-Lasorsa FM Elhosary PC LaCoursiere CM Martin E Yuskaitis CJ Hill RS Atabay KD Barry B Partlow JN Bashiri FA Zeidan RM Elmalik SA Kabiraj MM-Kothare S Stödborg T McTague A Kurian MA Scheffer IE Barkovich AJ Palmieri F Salih MA Walsh CA Poduri A, Heinzen EL. Slc25a22 is a novel gene for migrating partial seizures in infancy. *Ann Neurol.*, 2013.
- [130] Polge A-Gauthier J Huguet G Lumbroso S Giuliano F Stordeur C Depienne C Mouzat K Pinto D Howe J Lemièrre N Durand CM Guibert J Ey E-Toro R Peyre H Mathieu A Amsellem F Rastam M Gillberg IC Rappold GA Holt R Monaco AP Maestrini E Galan P Heron D Jacquette A Afenjar A Rastetter A Brice A Devillard F Assouline B Laffargue F Lespinasse J Chiesa J Rivier F Bonneau D Regnault B Zelenika D Delepine M Lathrop M Sanlaville D Schluth-Bolard C Edery P Perrin L Tabet AC Schmeisser MJ Boeckers TM Coleman M Sato D Szatmari P Scherer SW Rouleau GA Betancur C Leboyer M Gillberg C Delorme R Bourgeron T Leblond CS, Nava C. Meta-analysis of shank mutations in autism spectrum disorders : a gradient of severity in cognitive impairments. *PLoS Genet.*, 2014.

- [131] String protein tool : Shank3. URL http://string-db.org/newstring.cgi/show_network_section.pl.
- [132] Lauritsen MB Jørgensen M Schieve LA Yeargin-Allsopp M Obel C Parner ET, Baron-Cohen S. Parental age and autism spectrum disorders. *Ann Epidemiol.*, 2012.
- [133] Perin JC Takahashi N Murphy K Wenocur AS-D'arcy M O'Hara RJ Goldmuntz E Grice DE Shaikh TH Hakonarson H Buxbaum JD Elia J White PS Gai X, Xie HM. Rare structural variation of synapse and neurotransmission genes in autism. *Mol Psychiatry.*, 2012.
- [134] String. URL <http://string-db.org/>.
- [135] Mahon SM. Management of patients with a genetic variant of unknown significance. *Oncol Nurs Forum.*, 2015.
- [136] Ucsf : Snp déjà connu pour le gène nlg2, . URL https://genome.ucsf.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg18&position=chr17%3A7252226-7263903&hgid=441213993_hfNhwpTL2W9DSW3AaVd8fM3wT9Yz.
- [137] Minx PJ Cordum HS Hillier L Brown LG Repping S Pyntikova T Ali J Bieri T Chinwalla A Delehaunty A Delehaunty K Du H Fewell G Fulton L Fulton R Graves T Hou SF Latrielle P Leonard S Mardis E Maupin R McPherson J Miner T Nash W Nguyen C Ozersky P Pepin K Rock S Rohlfing T Scott K Schultz B Strong C Tin-Wollam A Yang SP Waterston RH Wilson RK Rozen S Page DC. Skaletsky HI, Kuroda-Kawaguchi T. The male-specific region of the human y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*, 2003.
- [138] Wu RC Hu VW Sarachana T, Xu M. Sex hormones in autism : androgens and estrogens differentially and reciprocally regulate rora, a novel candidate gene for autism. *PLoS One.*, 2011.
- [139] Mueller S Moore RD Forgeot d'Arc B Jacquemont S Xiong L Mottron L, Duret P. Sex differences in brain plasticity : a new hypothesis for sex ratio bias in autism. *Mol Autism.*, 2015.
- [140] Nature impact factor. URL http://www.researchgate.net/journal/1476-4687_Nature.
- [141] Molecular autism. URL <http://www.molecularautism.com/about>.
- [142] Daniel H Geschwind Donna M Werling. Recurrence rates provide evidence for sex-differential, familial genetic liability for autism spectrum disorders in multiplex families and twins. *Mol Autism.*, 2015 May 13.

- [143] Endophenotypes. URL <http://en.wikipedia.org/wiki/Endophenotype>.
- [144] Cécile Pagan. Étude biochimique et génétique des anomalies de la voie sérotonine-mélatonine comme facteurs de vulnérabilité à l'autisme. 2012.
- [145] Bernard ; Kenneth R. Lewis John. Chromosome variability and geographic distribution in insects. *Science*, 1966.
- [146] Irving ; Todd Gould Gottesman. The endophenotype concept in psychiatry : Etymology and strategic intentions. *The American Journal of Psychiatry*, 2003.
- [147] American Academy of Paediatrics : Organizational Principles to Guide and Define the Child Health Care System and/or Improve the Health of all Children. Ethical and policy issues in genetic testing and screening of children, 2012. URL <http://pediatrics.aappublications.org/content/early/2013/02/17/peds.2012-3680.full.pdf+html>.
- [148] Académie de médecine, membres titulaires, dont pr galibert. URL <http://www.academie-medecine.fr/membres/>.
- [149] Calahorro F. Conserved and divergent processing of neuroligin and neurexin genes : from the nematode *c. elegans* to human. *Invert Neurosci.*, 2014.
- [150] Bourgeron T Ey E, Leblond CS. Behavioral profiles of mouse models for autism spectrum disorders. *Autism Res.*, 2011.
- [151] Le Sourd AM Leblond CS Boeckers TM Faure P Bourgeron T Ey E, Torquet N. The autism prosap1/shank2 mouse model displays quantitative and structural abnormalities in ultrasonic vocalisations. *Behav Brain Res.*, 2013.
- [152] Cheval H McGann JC Bissonnette JM Murtha MJ Foust KD Kaspar BK Bird A Mandel G Garg SK, Liroy DT. Systemic delivery of mecp2 rescues behavioral and cellular deficits in female mouse models of rett syndrome. *J Neurosci.*, 2013.
- [153] Adams IT Ransbottom M Christian D Ogier M Katz DM. Kron M, Howell CJ. Brain activity mapping in mecp2 mutant mice reveals functional deficits in forebrain circuits, including key nodes in the default mode network, that are reversed with ketamine treatment. *J Neurosci.*, 2012.
- [154] Phelep M Tyzio R Josse F Grandgeorge M Hadjikhani N Ben-Ari Y Lemonnier E, Degrez C. A randomised controlled trial of bumetanide in the treatment of autism in children. *Transl Psychiatry.*, 2012.
- [155] Macklin EA Smith KD Fahey JW Talalay P Zimmerman AW Singh K, Connors SL. Sulforaphane treatment of autism spectrum disorder (asd). *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014.

-
- [156] Watanabe T Takano Y Kawakubo Y Kuwabara H Iwashiro N Natsubori T Inoue H Suga M Takao H Sasaki H Gonoi W Kunimatsu A Kasai K Yamasue H Aoki Y, Yahata N. Oxytocin improves behavioural and neural deficits in inferring others' social emotions in autism. *Brain*, 2014.

Résumé

Les Troubles du Spectre Autistique (TSA) représentent un ensemble de troubles neurodéveloppementaux affectant environ 1% de la population générale, avec un sexe-ratio déséquilibré d'une fille pour 4 garçons dans les cas d'autisme typique. Les patients montrent des difficultés de communication sociale (verbale et non-verbale), des intérêts restreints, des comportements stéréotypés et parfois des troubles du langage. Les TSA sont à ce jour considérés comme la pathologie psychiatrique la plus héritable (de 56 à 95%), en faveur d'une origine génétique à ces troubles. L'étude de familles où plusieurs individus sont atteints de TSA (familles multiplexes (MPX)) vise à établir une corrélation génotype-phénotype au sein d'une cohorte.

L'étude de 49 patients avec TSA et de leurs 88 apparentés issus de 17 familles multiplexes recrutées dans la cohorte internationale PARIS (Paris Autism Research International Sibpairs) montre au plan clinique une importante sur-représentation des comorbidités psychiatriques tant chez les patients que chez les apparentés en comparaison avec les données en population générale (respectivement 73,7%, 70% et 18,6%) (p-value=2,3e-13), ainsi au plan génétique un taux similaire variants *de novo* exoniques chez les patients et les apparentés (1,68 contre 1,07 respectivement). Le "multiple hit model" décrit la traduction phénotypique de l'addition de l'effet délétère de variants *de novo* et hérités chez un même individu. Une méta-analyse des gènes de la famille des Neuroligines (*NLGN1*, *NLGN2*, *NLGN3*, *NLGN4X*, *NLGN4Y*) dans les TSA vise à évaluer la corrélation génotype-phénotype et ensuite à comparer ces résultats avec les phénotypes de patients présentant des délétions et duplications de *NLGN4Y* issus d'une cohorte de 212 garçons atteints de TSA. La connaissance plus approfondie de ces mécanismes physiopathologiques à travers l'étude des familles MPX permettra à l'avenir de trouver de nouveaux gènes candidats, de développer des approches pharmacogénétiques spécifiques des anomalies génétiques de chaque patient atteint de TSA.

Mots-clés : Troubles du Spectre Autistique, Psychiatrie, Génétique, Neuroligine, famille, multiplexe

Abstract

Autism Spectrum Disorder is a neurodevelopmental disease with an estimated prevalence of 1% and an unequal sexratio (1 girl for 4 boys in typical autism). Patients exhibit social communication difficulties, restrictive interests, stereotyped behaviors and sometimes language delay. ASD is known as the most heritable psychiatric disease (56 to 95%), in favor of genetic aetiologies. Family studies where several individuals have ASD (multiplex families(MPX)) aim to establish genotype-phenotype correlation in a cohort.

A study including 49 ASD patients and 88 related (from 17 MPX families included in PARIS international cohort [Paris Autism Research International Sibpairs]) shows an important overexpression of psychiatric comorbidities in ASD patients and in related people compared to prevalence in the general population (73.7%, 70% and 18.6% respectively) (p-value=2.3e-13). A similar rate of *de novo* exonic events in ASD patients and in siblings is found (1.68 vs 1.07 respectively). "Multiple hit model" describes phenotypic translation of additive *de novo* and inherited deleterious variants within a same individual. A meta-analysis of the neuroigin genes family (*NLGN1*, *NLGN2*, *NLGN3*, *NLGN4X*, *NLGN4Y*) in ASD is used to compare the phenotype-genotype link and to compare these results with patients with *NLGN4Y* deletions and duplications in a cohort of 212 ASD boys. Deeper knowledge in pathophysiological mechanisms using multiplex family studies will allow in the future to find new candidate genes, to develop pharmacogenetic approaches specific of a ASD patient genetic abnormalities.

Keywords : Autism Spectrum Disorder, Psychiatry, Genetic, Neuroigin, Multiplex, family