



**HAL**  
open science

# Expérience bordelaise sur le syndrome de Rubinstein-Taybi : corrélations phénotype/génotype et identification de gènes candidats

Julien Van-Gils

► **To cite this version:**

Julien Van-Gils. Expérience bordelaise sur le syndrome de Rubinstein-Taybi : corrélations phénotype/génotype et identification de gènes candidats. Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01584062

**HAL Id: dumas-01584062**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01584062>**

Submitted on 8 Sep 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Expérience bordelaise sur le syndrome de Rubinstein-Taybi : corrélations phénotype/génotype et identification de gènes candidats

Julien Van-Gils

► **To cite this version:**

Julien Van-Gils. Expérience bordelaise sur le syndrome de Rubinstein-Taybi : corrélations phénotype/génotype et identification de gènes candidats. Médecine humaine et pathologie. 2016. <dumas-01584062>

**HAL Id: dumas-01584062**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01584062>**

Submitted on 8 Sep 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux  
U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2016

Thèse n°3126

Thèse pour l'obtention du

**DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement

Le 10 Octobre 2016

Par

**Julien VAN-GILS**

Né le 24 Mai 1986 à Mont-Saint-Aignan

**EXPERIENCE BORDELAISE SUR LE SYNDROME  
DE RUBINSTEIN-TAYBI :  
CORRELATIONS PHENOTYPE/GENOTYPE  
IDENTIFICATION DE GENES CANDIDATS**

**Directeur de thèse : Madame le Dr Patricia FERGELOT**

**Rapporteur de thèse : Monsieur le Pr Alain VERLOES**

**Composition du Jury :**

Monsieur le Pr Didier LACOMBE	Président
Monsieur le Pr Benoit ARVEILER	Juge
Monsieur le Pr Cyril GOIZET	Juge
Madame le Dr Caroline ESPIL-TARIS	Juge
Madame le Dr Patricia FERGELOT	Juge

## **REMERCIEMENTS**

### **Monsieur le Professeur Didier LACOMBE, Président du Jury**

Professeur des universités en génétique médicale – Praticien Hospitalier.

CHU Bordeaux, service de Génétique.

Merci de me faire l'honneur d'accepter de présider ce Jury de thèse. Merci de m'avoir accueilli au sein de votre service et pour votre disponibilité et votre écoute tout au long de mon cursus. Votre connaissance encyclopédique de la syndromologie (et de la tintinologie) et votre passion pour l'histoire de votre discipline et de la médecine en général sont pour moi un exemple et une référence. C'est un privilège d'avoir pu travailler sur le syndrome de Rubinstein-Taybi, historiquement lié à ce service depuis plus de deux décennies maintenant. Merci de votre confiance pour poursuivre l'aventure dans les deux prochaines années, j'espère m'en montrer digne.

### **Monsieur le Professeur Alain VERLOES, Rapporteur**

Professeur des universités en génétique médicale – Praticien Hospitalier.

CHU Robert Debré, Paris, service de Génétique.

Vous avez accepté de rapporter ce travail. C'est un immense honneur que vous me faites. L'excellence de vos connaissances et votre implication pédagogique en génétique sont un exemple à suivre. Votre présence à cette soutenance est une très grande fierté pour moi. Veuillez trouver l'expression de mes sincères remerciements et de toute mon admiration.

### **Monsieur le Professeur Benoit ARVEILER, Juge**

Professeur des universités en génétique médicale – Praticien Hospitalier.

CHU Bordeaux, service de Génétique.

Merci de me faire l'honneur de juger mon travail. Merci pour ta disponibilité de chaque instant, tes conseils et ton humilité. C'est toujours un plaisir d'échanger avec toi sur le plan professionnel comme extra-professionnel. Je te prie de bien vouloir accepter toute ma reconnaissance.

**Monsieur le Professeur Cyril GOIZET, Juge**

Professeur des universités en génétique médicale – Praticien Hospitalier.

CHU Bordeaux, service de Génétique.

Ce sont des remerciements tout particuliers que je veux t'adresser. Tout d'abord, bien sûr, pour accepter de juger ce travail. Mais surtout, pour ta disponibilité, ta gentillesse, ta pédagogie, ta rigueur et ton enthousiasme. C'est avec une grande émotion que je t'écris ces quelques lignes qui ne pourront pas retranscrire toute l'importance que tu as eue pour moi dans mon parcours jusqu'ici. Alors c'est avec toute mon admiration, mon respect, mais surtout ma sincère amitié que je te dis Merci.

**Madame le Docteur Caroline ESPIL-TARIS, Juge**

Praticien Hospitalier. CHU Bordeaux, service de Pédiatrie.

Merci du grand honneur que tu me fais en acceptant de juger mon travail. Ton enthousiasme pour accepter et ta présence dans ce Jury sont pour moi une grande fierté. Interne dans ton service, j'ai pu apprécier ta rigueur, ton plaisir à transmettre, ta grande humanité envers les enfants et leur famille et surtout, chose rare, ton esprit juste en toute circonstance. Savoir dire ce qui ne va pas pour recadrer, mais savoir complimenter pour réassurer est une qualité rare témoignant de ta pédagogie et de ton humanité. Vois en ces mots l'expression de toute ma reconnaissance et de mon respect.

**Madame le Docteur Patricia FERGELOT, Directeur**

Praticien Hospitalier. CHU Bordeaux, service de Génétique.

Vous m'avez confié ce projet très tôt dans mon cursus. Vous demander de diriger ce travail était une évidence pour moi et je suis très honoré que vous ayez accepté. J'ai énormément appris à vos côtés durant ces années. Votre rigueur et votre perfectionnisme m'ont poussé à constamment chercher à m'améliorer. J'espère pouvoir poursuivre ce projet passionnant avec vous. Merci pour votre savoir, pour votre intégrité, pour votre profonde passion pour la biologie et la recherche, merci pour nos longues discussions scientifiques qui finissaient toujours par déborder, merci pour votre soutien sans faille. Pour tout ça et tout ce qui suivra, Patricia Merci.

A vous, Maman et Papa, qui m'avez accompagné, poussé, motivé à chaque grande étape de ma vie. Merci pour votre amour sans borne. Vous nous avez toujours soutenu et guidé avec Florian quelles que soient nos décisions et parfois nos erreurs. Je ne vous le dis pas assez, mais je vous aime.

A toi Florian, mon frère. A toi qui me pousse à devenir une meilleure personne parce que je veux que tu sois fier de moi. A ton courage, ta détermination, ta passion dans chaque chose que tu entreprends. C'est toi aujourd'hui mon modèle pour toutes tes qualités intellectuelles et humaines et ton humilité. Tu es et resteras la personne la plus importante dans ma vie. Je t'aime.

A mes filleuls Manon et Jules. A vos parents d'avoir été assez fous pour me confier cette responsabilité. Vous voir grandir est une chance et un bonheur pour moi. A toi Jules, le tombeur de ces dames, qui n'a pas fini de les faire craquer (même si tu es fan du PSG). A toi Manon, la plus belle des princesses, tu grandis trop vite, je me vois encore te prendre dans mes bras à la maternité.

A tata Colette et tonton Minou. Merci de tout votre amour, merci de m'avoir fait grandir. Il existe peu de personnes avec de telles qualités humaines et je pense que je ne mesure pas assez la chance que j'ai de vous savoir près de moi.

A mes tantes Nicole, Janine, Denise et mon oncle Joël. Merci d'avoir supporté mes caprices pendant toutes ces années et merci d'être toujours à mes côtés, bienveillants.

A mes cousines, à mes cousins, Carole, Bidouille, Sébastien, Stéphanie, Aurélie. Merci pour tous ces heureux moments que j'ai partagé avec vous et pour tous les suivants.

A tata Fessard et tonton Jean-Pierre. C'est avec une immense émotion que je pense à vous qui avez fait ce que je suis aujourd'hui. Vous êtes toujours dans mon cœur. Tonton, j'espère que tu liras ces quelques lignes là tu es.

A Annie et à Pierrot. Merci d'avoir été là, de m'avoir accompagné dans ma transition de petit garçon à ma vie d'homme. Merci pour ces parties de cartes où vous avez supporté mon côté mauvais perdant légendaire. Je n'oublie pas non plus Virginie et JC, je vous embrasse.

A mes potos de toujours Alexis et Romain. Que de chemin parcouru depuis le CD des L5, les parties d'oofball ou les concerts privés de Romain en plein cours d'histoire. Que de souvenirs partagés et toujours autant d'enthousiasme et de folie quand on se retrouve (beaucoup trop rarement). A toutes les prochaines années !

Charline et Lise, une grande pensée pour vous qui devez les supporter au quotidien.

A mon Sebou et mon Nounours. A notre amitié résistante à toutes les tempêtes. A nos coups de cœur, nos coups de gueule, nos coups de sang. Dix ans après le souvenir intemporel de nos pious pious forever, je suis tellement fier de vous et heureux de vous connaître. Et même si je ne sais pas prendre la bonne sortie pour aller à la Rochelle, je vous aime quand même !

A Benoit et Romain. Aux vacances inoubliables que l'on a passées ensemble. On se voit trop peu, vous me manquez.

A mon Franques, mon frèèèère. A notre rencontre, notre coloc, nos cups, nos délires et à notre amitié si précieuse pour moi. Je m'arrête là parce que les larmes me montent à la gueule ma gueule.

A mon Florian, mon Judas d'amour. A tes saltos par-dessus les barrières, à tes gamelles solidaires en ski, à ton loup-garou qui a failli coûter une amitié, à tout ce que la pudeur m'interdit de dire.

A mon Vincent. A nos gueules de con, à tes clés de bras, à tes cheveux (qu'ils reposent en paix), à Solène, à ton petit bonhomme adorable et à sa future petite sœur. A nos djoko, à nos Nadal, à nos FIFA, mais surtout à toi qui va terriblement me manquer. Réserve-moi une petite place sur un transat les pieds dans l'eau.

A mon Toto. A nos parties de tennis endiablées dans les 3 premiers jeux, à tes cours de ski, à Yvonne, au cardiologue qu'il ne faut pas emmerder. A toi mon Thomas et à notre belle rencontre, pourvu que ça dure. Un gros bisou à toi Elisa, la snowboardeuse de l'extrême.

A mon Arnaud. A ta folie, à nos parties de ping-pong où je t'ai battu une seule fois à 3 grammes, à nos soirées tarot. A ta fidélité sans faille en amitié et ta présence quoiqu'il arrive. Merci pour tout.

A ma Flavie d'amour. A notre soirée Top Gun, à tes baleines douloureuses, à ton caractère en acier trempé, à ton carré Hermès, à ton côté troisième chance, à la Sicile. Malgré nos coups de sang, tu as toujours été là et tu es très importante pour moi.

A toi Alex. A mon coloc, à ta phobie des insectes debout sur ton lit, à ton lift légendaire au ping-pong, au fait que l'on ne s'éloigne plus.

A toutes les belles rencontres que j'ai pu faire durant mon internat et à toutes celles qui l'accompagne encore aujourd'hui. Je pense à Albane, Mumu, Marion, Amandine, Vincent, Louis, Elsa, Florian T, Hélène, Claire, Sophie.

A Marine, bien au-delà de ma co-interne, mon amie. Merci d'être aussi chiant, merci pour nos fous rires même au bout de la fatigue, merci de ton épaule quand j'avais besoin de pleurer, merci pour tout.

A Guillaume, qui pourrait avoir la délicatesse de me laisser gagner de temps en temps au badminton.

A mes deux compères gourmets Julie et Claudio et surtout à notre cordon-bleu en chef Marie-Hélène.

A mes colocs, Capu, Baptiste, Audrey, Romain « Pinto » pour les intimes. A ces soirées trop déguisées, à ces trivials pourcuites, à cette Isterybask de dingue. Merci à vous pour ces belles rencontres et ces moments précieux.

A tous mes co-internes de génétique de France que je prends plaisir à retrouver à chaque fois et tout particulièrement aux bordelais les meilleurs. Un gros poutou à Aurélien (mon Casper coloc d'amour), Louise, Vincent et Henri. Je ne t'oublie pas Perrine, partenaires depuis le début et maintenant bordelaise d'adoption.



A tous mes super co-internes (et Docteurs pour certains maintenant) même s'ils savaient mieux faire les BOM ou les PL que moi. Je pense à Fanny, Edouard, Hélène, Caroline, Noémie, Ludo, Hugo, Antoine, Lydia, Arnaud.

Un merci tout spécial à mes voisines de bureau Lucie et Julie pour leur patience, leur sourire sans faille et leur dévouement dans la relecture de cette thèse. Ca a été un réel plaisir de travailler, de rire et d'échanger avec vous. Merci également à toi Sébastien pour tes conseils, ton écoute et ta disponibilité de tous les instants.

A tous les médecins, biologistes ou ingénieurs avec qui j'ai appris tellement et avec qui c'était un plaisir de travailler, tout particulièrement Dr Frédéric Villéga, Dr Marie Husson, Dr Jean-Michel Pedespan, Dr Raphaëlle Badiola, Dr Jérôme Toutain, Pr Robert Saura, Dr Guilhem Solé, Dr Xavier Ferrer, Dr Stéphanie Cubizolle, Dr Idoïa Lacoste, Dr Michel Longy, Dr Virginie Bubien, Dr Emmanuelle Barouk, Françoise (sacrée Françoise), Dr Nathalie Jones, Pr Jean-Luc Pellegrin, Pr Jean-François Viallard, Pr Estibaliz Lazaro, Dr Carine Greib, Dr Emmanuel Ribeiro, Dr Eulalie Lasseaux, Dr Marie-Pierre Reboul, Dr Caroline Rooryck-Thambo, Dr Sophie Naudion, Dr Fanny Morice-Picard, Dr Nada Houcinat.

Aux techniciens de laboratoire rencontrés lors de mes stages en cytogénétique et en génétique moléculaire.

Aux équipes géniales infirmières de neuro-pédiatrie, de neurologie du 10<sup>e</sup> aile 2 et de médecine interne à Haut-Lévêque. Un merci tout spécial à Danielle et Stéphanie, notre équipe de choc, nos patcheuses EMLA devant l'éternel, nos piqueuses de l'extrême.

Aux secrétaires, conseillères en génétique, psychologues, kinésithérapeutes, orthophonistes (je ne t'oublie pas Florence !), psychomotriciens (spéciale dédicace à CDD), et enseignants.

Merci à vous tous, vous avez accompagné mon internat de vos sourires et de votre bonne humeur.

A toute l'équipe du laboratoire de génétique humaine et fonctions cognitives et tout particulièrement à Thomas, Sophie, Alex et Julien. Merci d'avoir fait de ce master 2, une des étapes les plus enrichissantes de ma vie, sur le plan humain comme intellectuel.

Merci à tous ceux que j'ai oubliés, ils se reconnaîtront.

# SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	12
<b>PREMIERE PARTIE: GENERALITES</b> .....	<b>13</b>
I. Modifications épigénétiques et déficience intellectuelle.....	13
A. Epigénétique et chromatine .....	13
B. Modifications post-traductionnelles des protéines .....	15
1. Différents mécanismes de modification des histones.....	15
2. Acétylation des histones et acétyltransférases .....	16
a) Mécanisme général.....	16
b) Découverte et classification .....	16
c) Fonction dans le remodelage chromatinien.....	17
3. Découverte des protéines CBP et p300 .....	18
a) Evolution phylogénétique .....	19
b) Structure des protéines CBP et p300.....	21
c) Fonction des protéines CBP et p300 .....	21
C. Régulation épigénétique et fonction cognitive dans le SRT .....	23
1. Modifications d'acétylation des histones et développement de la mémoire .....	24
2. L'apport du modèle animal .....	25
a) Différents modèles murins .....	26
(1) Mutants <i>knock-out</i> : .....	27
(2) Mutants <i>knock-in</i> : .....	27
(3) Mutants <i>knock-out</i> conditionnés:.....	27
(4) Mutants transgéniques: .....	28
b) Rôle des protéines KAT3 dans le neurodéveloppement .....	29
c) Manifestations syndromiques chez le modèle murin .....	30
d) Déficience intellectuelle et troubles mnésiques .....	31
D. Etiologie moléculaire du SRT .....	33
II. Description clinique du syndrome de Rubinstein-Taybi .....	33
A. Anomalies anténatales et grossesse.....	34
B. Retard de croissance staturo-pondéral et microcéphalie .....	34
C. Système nerveux central.....	36
D. Développement psychomoteur .....	37
E. Caractéristiques crânio-faciales.....	37
F. Anomalies des extrémités : pouces et hallux larges .....	40
G. Malformations squelettiques .....	42
H. Aspect oro-dentaire et ORL .....	42
I. Anomalies oculaires .....	43
J. Système uro-génital .....	44
K. Appareil digestif et nutrition .....	44
L. Anomalies cardiaques .....	44
M. Appareil respiratoire .....	45
N. Atteinte cutanée .....	45
O. Prédisposition tumorale.....	46

III.	Génotypage.....	47
A.	Rappel historique.....	47
B.	Premières hypothèses de transmission .....	47
C.	Première assignation à un locus .....	48
D.	Identification des gènes <i>CREBBP</i> et <i>EP300</i> .....	48
1.	Structure des gènes <i>CREBBP</i> et <i>EP300</i> .....	49
2.	Spectre mutationnel de <i>CREBBP</i> .....	50
3.	Spectre mutationnel d' <i>EP300</i> .....	51
IV.	Tentatives de corrélation phénotype/génotype.....	53
A.	Comparaison des patients atteints de SRT avec et sans mutation identifiée.....	53
B.	Comparaison des phénotypes entre les patients avec mutation <i>CREBBP</i> et avec mutation <i>EP300</i> .....	55
C.	Corrélations phénotype-génotype selon le domaine protéique atteint .....	56
1.	Domaine KAT .....	56
2.	Autres domaines .....	57
D.	Impact des grands réarrangements sur le phénotype.....	57
V.	Prise en charge et pistes thérapeutiques .....	58
A.	Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) .....	58
1.	Prise en charge diagnostique .....	59
2.	Evaluation des comorbidités et de la sévérité .....	59
3.	Prise en charge thérapeutique.....	60
a)	Traitements pharmacologiques .....	60
b)	Autres traitements et prestations .....	60
4.	Suivi des patients.....	61
5.	Diagnostic prénatal.....	62
B.	Pistes thérapeutiques .....	62
1.	Les inhibiteurs de HDAC .....	62
2.	Amélioration de l'environnement et ergothérapie.....	64
	<b>DEUXIEME PARTIE: ETUDE CLINIQUE</b> .....	<b>65</b>
I.	Objectifs de l'étude .....	65
II.	Patients et méthodes .....	66
A.	Sélection des patients et recueil des données cliniques et paracliniques .....	66
B.	Analyses génétiques .....	67
1.	Evolution des techniques.....	67
a)	Recherche des réarrangements de grande taille .....	68
b)	Détection des mutations ponctuelles .....	69
2.	Analyses actuelles .....	70
a)	Détection des mutations ponctuelles .....	71
(1)	Panel NGS (Next Generation Sequencing) .....	71
(2)	Pathogénicité des variants .....	72
(3)	Validation par séquençage Sanger.....	72
b)	Détection des réarrangements de grande taille.....	72
3.	Analyse des patients négatifs par séquençage d'exome en trio.....	73

III.	Résultats .....	75
A.	Description de la cohorte Rubinstein-Taybi.....	75
1.	Mutations dans <i>CREBBP</i> .....	75
a)	Mutations tronquantes .....	77
b)	Grands remaniements .....	78
c)	Mutations faux-sens .....	79
2.	Mutations dans <i>EP300</i> .....	79
a)	Mutations tronquantes .....	79
b)	Grands remaniements .....	80
c)	Mutations faux-sens .....	80
B.	Etude de corrélation phénotype/génotype .....	82
1.	Impact des grandes délétions sur le phénotype .....	82
a)	Phénotype des patients avec délétion complète de <i>CREBBP</i> .....	82
(1)	Période pédiatrique .....	84
(2)	Malformations d'organes.....	84
(3)	Anomalies squelettiques et des extrémités .....	85
(4)	Dysmorphie cranio-faciale .....	85
b)	Caractérisation des délétions complètes au locus 16p13.3 .....	85
c)	Phénotype des patients porteurs de délétions dans <i>EP300</i> .....	90
(1)	Période néonatale.....	95
(2)	Période pédiatrique .....	95
(3)	Malformations d'organes.....	96
(4)	Anomalies squelettiques et des extrémités .....	96
(5)	Dysmorphie crânio-faciale .....	96
d)	Démarche diagnostique et génotype des patients porteurs de délétions <i>EP300</i> . 98	
2.	Description des variants faux-sens pathogènes .....	104
a)	Phénotype des patients porteurs de mutations faux-sens dans <i>CREBBP</i> et <i>EP300</i> 104	
(1)	Période pré et néonatale.....	104
(2)	Période pédiatrique .....	104
(3)	Malformations d'organes.....	105
(4)	Anomalies squelettiques et des extrémités .....	106
(5)	Dysmorphie crânio-faciale.....	106
b)	Génotype des patients porteurs de mutations faux-sens.....	106
C.	Etude de 5 patients par WES, avec un phénotype de SRT sans mutation identifiée dans <i>CREBBP</i> ou <i>EP300</i> .....	119
1.	Description phénotypique .....	119
2.	Résultats du séquençage d'exome.....	127
a)	Identification des variants .....	127
b)	Réseau d'interaction protéine-protéine .....	129
IV.	Discussion .....	130
A.	Spectre mutationnel de notre cohorte Rubinstein-Taybi.....	131
1.	Rendement diagnostique .....	131
2.	Mutations identifiées dans <i>CREBBP</i> .....	132
3.	Mutations identifiées dans <i>EP300</i> .....	135

B.	Etude de corrélation phénotype/génotype .....	136
1.	Impact des larges délétions sur le phénotype des patients SRT .....	136
a)	Phénotypes des patients délétés pour <i>CREBBP</i> .....	137
b)	Patients porteurs de délétions dans <i>EP300</i> .....	139
2.	Caractéristiques des patients porteurs de mutations faux-sens .....	142
3.	Conséquences des mutations dans <i>EP300</i> pour les patients .....	145
4.	Cas particulier des variants dans la région des exons 30 et 31.....	147
C.	Apport des techniques de séquençage de nouvelle génération au diagnostic .....	148
1.	Résultats du séquençage d'exome.....	148
2.	Le gène <i>MLLTI</i> comme potentiel gène candidat ? .....	151
V.	Conclusion et perspectives .....	154
	<b>ANNEXES</b> .....	156
	Table des figures .....	183
	Table des tableaux .....	185
	Abréviations .....	186
	<b>REFERENCES</b> .....	188
	<b>TRAVAUX SCIENTIFIQUES</b> .....	208
	<b>SERMENT D'HIPPOCRATE</b> .....	221

## INTRODUCTION

Le syndrome de Rubinstein-Taybi (SRT ; MIM #180849, MIM #613684) ou anciennement syndrome des pouces et hallux larges, est une anomalie génétique rare neuro-développementale dont l'incidence est actuellement estimée entre 1/100 000 et 1/125000 naissances<sup>1</sup>. La transmission se fait selon un mode autosomique dominant et l'extrême majorité des cas (~99%) est de survenue sporadique par mutation *de novo* bien que quelques cas familiaux aient été rapportés<sup>2</sup>.

Ce syndrome est aujourd'hui bien défini sur le plan phénotypique et se caractérise principalement par un retard de croissance post-natal, une dysmorphie faciale caractéristique, des pouces et hallux larges et un déficit intellectuel<sup>3,4</sup>.

Il n'existe pas de critères pathognomonique de SRT, mais associé à ces signes cardinaux, il existe un spectre phénotypique beaucoup plus large. Il est rapporté de multiples malformations notamment cardiaques, génito-urinaires, digestives, ORL ou encore cutanées. Ces patients présentent également un risque accru de survenue de tumeurs bénignes (pilomatricomes) voire malignes (tumeurs cérébrales, leucémies aiguës, lymphomes)<sup>3,5-7</sup>.

Des mutations dans deux gènes hautement conservés lors de l'évolution ont été impliquées dans l'étiologie du SRT. Il s'agit de *cAMP response element-binding protein (CREB) binding protein (CREBBP* ; NM\_600140) localisé en 16p13.3<sup>8</sup> et *EAI-associated protein p300 (EP300* ; NM\_602700) localisé en 22q13<sup>9</sup> mutés respectivement dans 55%<sup>2,8-15</sup> et 8% des cas<sup>9,16-20</sup>.

*CREBBP* et *EP300* sont deux gènes d'expression ubiquitaire ayant un rôle majeur dans le remodelage chromatinien par acétylation des histones, mécanisme notamment impliqué dans la plasticité neuronale et la cognition<sup>9,21</sup>. Le syndrome de Rubinstein-Taybi représente donc aujourd'hui un modèle de désordre développemental dont la physiopathologie repose principalement sur un mécanisme épigénétique.

## **PREMIERE PARTIE: GENERALITES**

### **I. Modifications épigénétiques et déficience intellectuelle**

#### ***A. Epigénétique et chromatine***

Historiquement, le dogme central de la biologie moléculaire était de décrire comment, à elle seule, la séquence de l'acide désoxyribonucléique (ADN) pouvait dicter les fonctions cellulaires. Des recherches récentes ont observé différents phénomènes prouvant que la réalité était plus complexe. L'observation de jumeaux identiques en est une des meilleures illustrations. En effet des jumeaux identiques héritent de la même séquence d'ADN, mais peuvent présenter des différences physiques, intellectuelles ou encore sur l'incidence de maladies. Autre exemple : le génome humain code pour seulement deux fois plus de gènes que le génome de la mouche ; le nombre de gènes ne peut donc pas, à lui seul, expliquer la plus grande complexité de l'espèce humaine.

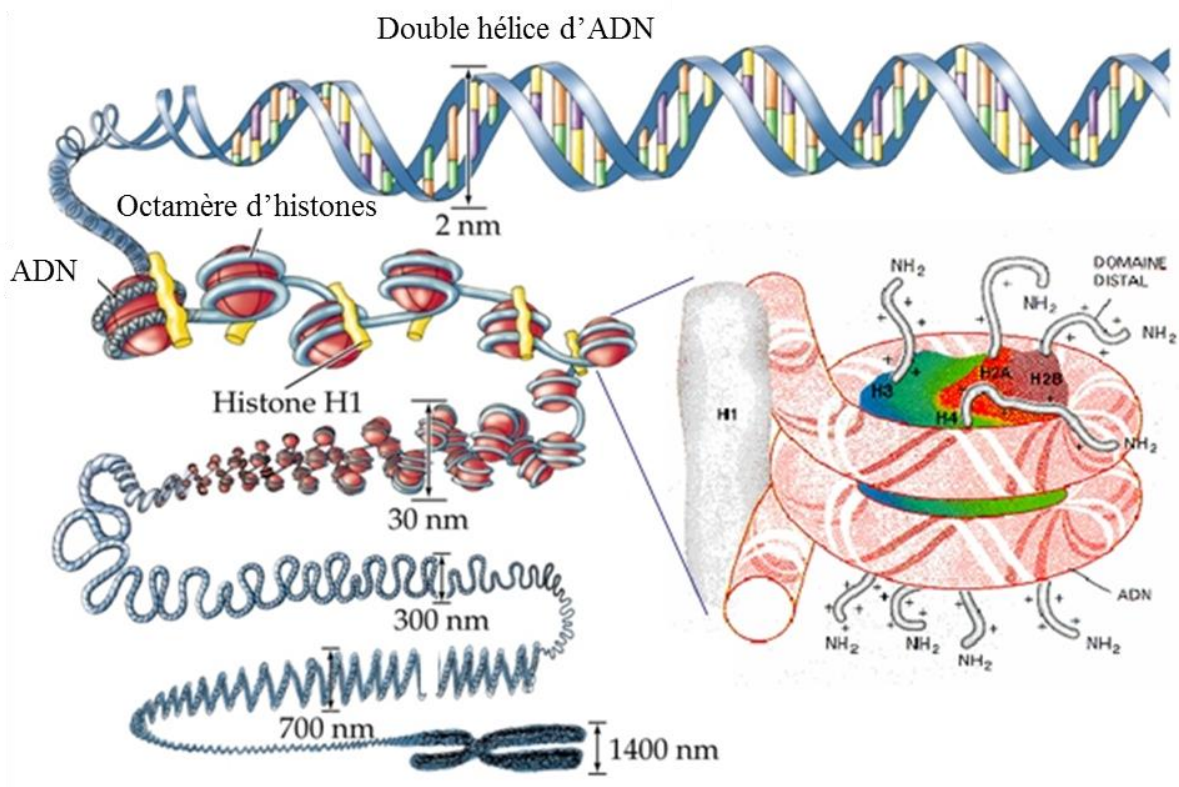
Ces exemples illustrent les différents mécanismes connus aujourd'hui sous le terme d'épigénétique. Le terme «épigénétique» a été inventé par Waddington en 1942, montrant qu'entre le génotype et le phénotype se trouvait un ensemble complexe de processus de développement<sup>22</sup>.

Il existe plusieurs mécanismes cellulaires qui contribuent à la transmission épigénétique. En plus de l'ADN hérité par les gamètes durant la méiose, l'embryon reçoit de l'acide ribonucléique (ARN) maternel. Ces ARN servent à diverses fonctions transitoires durant les premières divisions cellulaires avant d'être dégradés. En outre, l'ADN hérité n'est pas une séquence nue mais est compacté dans une structure qui est la chromatine.

Le génome humain, dont une copie est contenue dans presque toutes les cellules humaines, mesure environ 2 m de longueur totale, si la séquence est placée bout à bout. La compaction du génome au sein de la chromatine permet d'obtenir une longueur totale d'environ 0,09 mm, lui permettant d'entrer dans le noyau cellulaire, qui est classiquement inférieur à 0,01 mm de diamètre<sup>23</sup>.

La chromatine est composée de sous-unités fondamentales appelées nucléosomes. Un nucléosome est constitué de 146 paires de bases (pb) d'ADN enroulées autour d'un octamère d'histones.

L'octamère d'histones se compose de deux exemplaires de chacun des histones H2A, H2B, H3, et H4. De plus, au moins 20 pb d'ADN entre chaque nucléosome peuvent être compactées par l'histone de liaison, H1<sup>24</sup>. Les histones, ne sont cependant, pas uniquement une structure de compaction, mais ils organisent également l'ADN de manière à pouvoir stocker et récupérer les informations (Figure 1).



**Figure 1: Les différents niveaux de condensation de l'ADN.**

Le premier niveau de compaction de l'ADN est l'enroulement de l'ADN autour du cœur protéique du nucléosome. Le deuxième niveau de compaction est, quant à lui, imposé par l'histone H1 qui force un empilement de nucléosomes. Cette fibre nucléosomique ainsi formée se spiralise en fibre solénoïde, rendue solidaire par le biais des histones H1, jusqu'au niveau de compaction aboutissant au chromosome. Extrait de <sup>25</sup>.

La conformation de la chromatine peut alors être influencée par différents facteurs, notamment des éléments de séquence d'ADN, des modifications de l'ADN ou encore des modifications des histones.



La structure physique de la chromatine a des répercussions fonctionnelles sur la matrice d'ADN, notamment au niveau de l'expression génique, la réplication ou la réparation de l'ADN. L'ouverture de la chromatine va alors favoriser la transcription et la réplication de l'ADN, alors que sa compaction va réprimer ces mécanismes<sup>26</sup>.

Ainsi les modifications post-traductionnelles (MPT) des histones vont altérer la structure de la chromatine, au cours de la vie, en fonction de nombreux facteurs environnementaux, modifiant ainsi l'expression des gènes au sein d'une cellule ou d'une lignée cellulaire sans modifier la séquence d'ADN.

## ***B. Modifications post-traductionnelles des protéines***

### **1. Différents mécanismes de modification des histones**

Les protéines peuvent être régulées par une grande variété de changements. Ces changements sont appelés modifications post-traductionnelles. Les MPT jouent un rôle majeur dans la régulation protéique et peuvent affecter l'activité enzymatique, les interactions protéine-protéine ou d'autres fonctions de la protéine<sup>26-28</sup>.

Actuellement, les MPT les mieux caractérisées sont celles impliquant les protéines histones. Les histones ne jouent donc pas uniquement un rôle de structure statique de compaction de l'ADN, comme imaginé à l'origine, mais sont également des protéines dynamiques, qui sous l'influence de multiples MPT, vont réguler la fonction de la chromatine<sup>29</sup>. La complexité des MPT des histones est reflétée par plus de 10 différents types de modifications (telles que l'acétylation, la méthylation, la phosphorylation, l'ubiquitination, la sumoylation, la ADP-ribosylation (adénosine diphosphate-ribosylation), la désamination, la biotinylation, la butyrylation, la N-formylation ou l'isomérisation des prolines) et près de 80 sites de liaison<sup>26</sup>. La queue N-terminale des 4 groupements protéiques histones du nucléosome (H2A, H2B, H3 et H4) possède une grande flexibilité et permet des interactions dynamiques entre les histones et l'ADN par le biais de ces différentes modifications. Le nombre de MPT des histones va probablement augmenter dans les prochaines années en raison de la découverte de nouveaux sites de MPT grâce aux nouvelles techniques de cartographie du génome<sup>30</sup>.

Nous allons ici davantage aborder l'acétylation des lysines.

## **2. Acétylation des histones et acétyltransférases**

### **a) Mécanisme général**

L'acétylation de la lysine est une réaction dans laquelle un groupement acétyle ( $\text{COCH}_3$ ) du cofacteur de l'acétyl-coenzyme A (acétylCoA) est transféré à l'amine epsilon des résidus lysines. Le coenzyme A est présent dans tous les organismes vivants sur terre et est synthétisé par les cellules à partir de l'acide pantothénique (Vitamine B5) et la cystéine<sup>31</sup>. Cette réaction est catalysée par des histones acétyltransférases (HAT), alors que la réaction inverse est réalisée par les histones désacétylases (HDAC).

Cependant, ces enzymes possèdent d'autres substrats que les histones et sont impliquées dans de multiples voies de signalisation comme le remodelage chromatinien donc, mais également dans le cycle cellulaire, l'épissage, le transport nucléaire ou encore le métabolisme mitochondrial. C'est pourquoi la nomenclature actuelle a remplacé le terme HAT par KAT, où le K signifie lysine<sup>32</sup>.

### **b) Découverte et classification**

Dès le début des années 1960, il a été observé que les histones peuvent être modifiées de manière covalente par des groupes acétyles<sup>33</sup>, et rapidement, cette modification a été associée à l'activation de la transcription<sup>34</sup>. Cependant, les premières protéines catalytiques KAT ont été isolées et clonées seulement dans les années 1990<sup>35</sup>. Ces protéines ont été regroupées en deux classes (Figure 2). Les KAT de type A ont pour fonction d'acétyler les histones du nucléosome pendant la transcription, tandis que les KAT de type B acétylent principalement les histones nouvellement synthétisées dans le cytoplasme avant leur assemblage dans la chromatine. Les KAT de type A sont séparées en cinq familles en fonction de leur degré de similarité de séquence protéique. De la même façon les protéines HDAC sont classées, selon la fonction de la protéine et leur similarité de séquence, en cinq familles qui comprennent HDAC1 à 11 et sirtuines SIRT1 à 7 (Figure 2).

HDACs	KATs
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Class I: HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC8</li> <li>• Class IIa: HDAC4, HDAC5, HDAC7, HDAC9</li> <li>• Class IIb: HDAC6, HDAC10</li> <li>• Class III: SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6, SIRT7</li> <li>• Class IV: HDAC11</li> </ul>	<p>Type A (nuclear KATs)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• GNAT family (KAT2A/hGCN5, KAT2B/PCAF, KAT9/ELP3)</li> <li>• p300/CBP family (KAT3A/CBP, KAT3B/p300)</li> <li>• MYST family (KAT5/TIP60/PLIP, KAT6A/MOZ/MYST3, KAT6B/MORF/MYST4, KAT7/HBO1/MYST2, KAT8/HMOF/MYST1)</li> <li>• Transcription factor related (KAT12/TCIIIC90, KAT4/TAF1)</li> <li>• Nuclear receptor associated (KAT13A/SCR1, KAT13B/ACTR, KAT13C/P160, KAT13D/CLOCK)</li> </ul> <p>Type B (cytoplasmic KATs): KAT1/HAT1</p>

**Figure 2: Tableau représentant les différentes familles de protéines HDAC et KAT.**

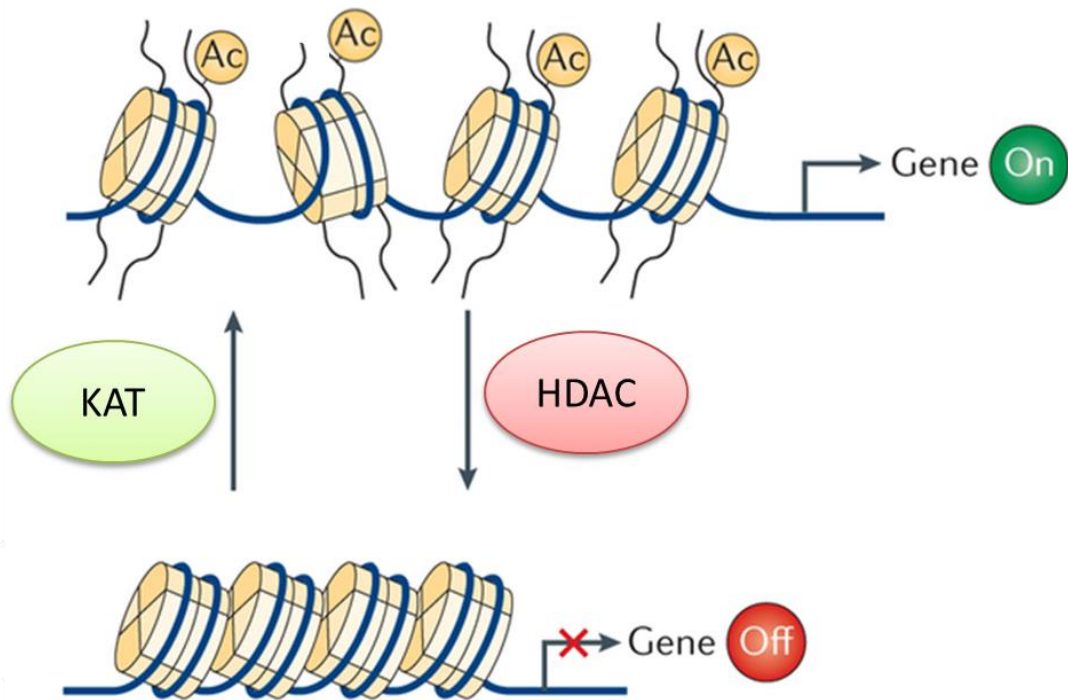
Les protéines HDAC sont classées en cinq familles comprenant HDAC1 à 11 et sirtuines SIRT1 à 7, selon la fonction de la protéine et leur similarité de séquence. De la même façon, les protéines KAT sont réparties en deux classes : le type A regroupe les KAT de localisation nucléaire et est divisé en 5 sous-familles selon leur similarité de séquence et le type B comprenant les KAT cytoplasmiques. Extrait de <sup>36</sup>.

### c) Fonction dans le remodelage chromatinien

Cette acétylation des histones va donc jouer un rôle clé dans l'activation transcriptionnelle par deux mécanismes moléculaires distincts. D'une part, l'acétylation va neutraliser partiellement la charge positive des histones, ce qui va affaiblir leur interaction avec l'ADN. Cela va donc permettre l'ouverture de la structure chromatinienne et ainsi faciliter l'accès des facteurs de transcription à leurs éléments de reconnaissance<sup>37</sup>. D'autre part, les lysines acétylées peuvent créer un signal spécifique pour les facteurs de régulation ou les complexes de remodelage chromatinien permettant de cibler une région spécifique.

En accord avec ce mécanisme, il a été constaté que de nombreuses acétyltransférases possèdent des bromodomains qui agissent comme des modules de reconnaissance acétyl-lysine, en dirigeant ces enzymes vers des sites chromosomiques spécifiques<sup>37,38</sup>.

A l'opposé, la désacétylation des histones, médiée par l'histone désacétylase (HDAC) va être associée à la répression de l'expression génique<sup>39</sup> (Figure 3).



**Figure 3: Fonction des protéines KAT et HDAC.**

Représentation schématique de l'équilibre des activités KAT et des HDAC et l'impact de cet équilibre sur la conformation de la chromatine et l'expression génique. L'addition de groupements acétyles (Ac) au niveau des queues d'histone du nucléosome permet une décompaction de la chromatine et facilite l'accès des facteurs de transcription. Extrait de <sup>40</sup>.

### 3. Découverte des protéines CBP et p300

Les protéines CBP et p300 sont des coactivateurs transcriptionnels paralogues avec une activité intrinsèque lysine acétyltransférase (KAT). Elles sont les deux seuls membres de la famille KAT3 en raison de leur faible homologie de séquence avec les autres acétyltransférases du génome humain<sup>32</sup>. Ces protéines sont présentes chez l'Homme et la plupart des eucaryotes « supérieurs ». La protéine p300 (également appelée EP300 ou KAT3B) est ainsi nommée en raison de sa taille d'environ 300 kilodalton (kDa), composée de 2414 acides aminés. P300 a été décrite en 1985<sup>41</sup> et 1989<sup>42</sup> (et clonée en 1994<sup>43</sup>) dans des études à la recherche de protéines se liant à E1A, un facteur de transcription d'un adénovirus oncogénique. La protéine CBP (également appelée CREBBP ou KAT3A), quant à elle, a été rapportée et clonée en 1993 comme une protéine se liant à CREB, un facteur de transcription qui lie les éléments de réponse de l'AMPc (CRE)<sup>44</sup>.

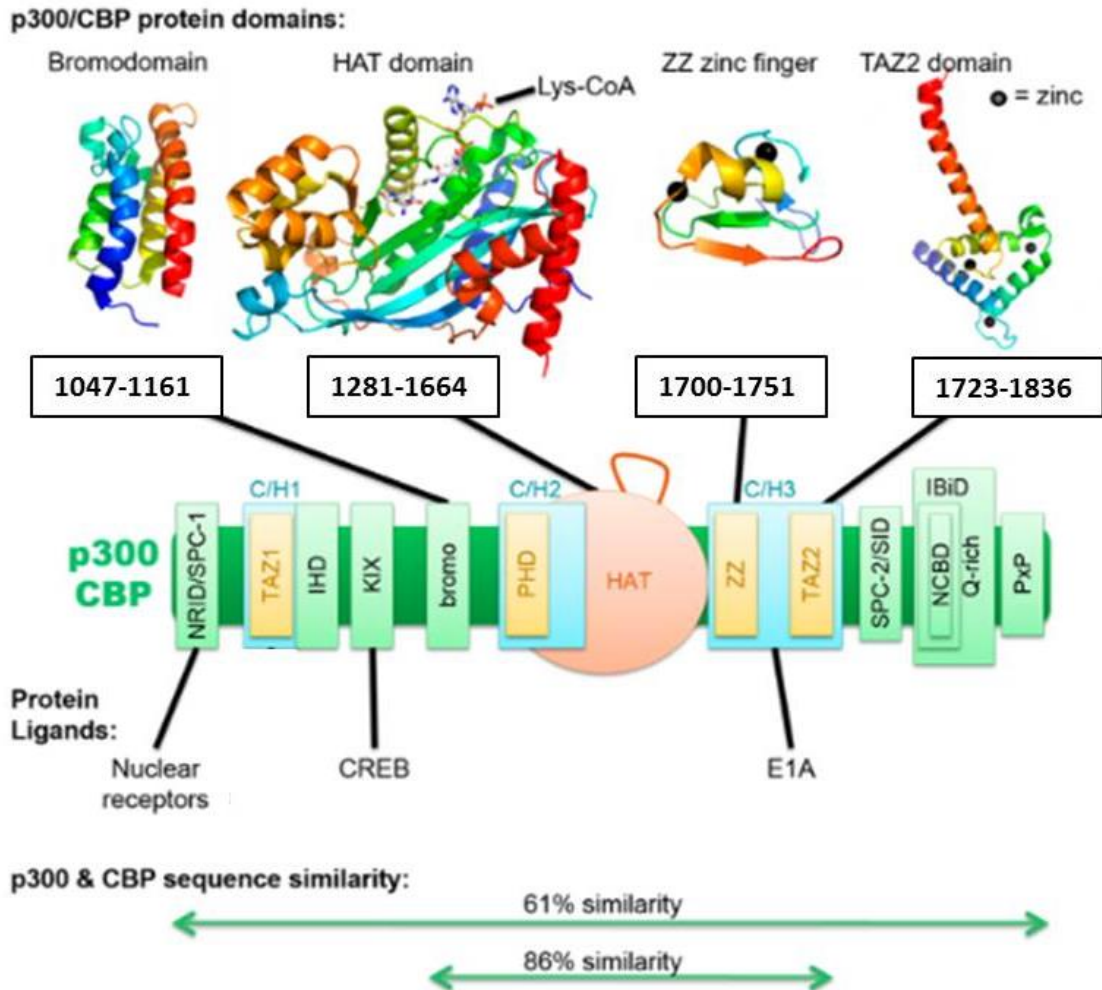
## a) Evolution phylogénétique

La recherche de protéines orthologues de p300 / CBP chez de nombreux organismes vivants a permis des découvertes intéressantes. Premièrement, aucun orthologue n'a été retrouvé chez les procaryotes et, chez les eucaryotes, seuls les eucaryotes «supérieurs» semblent avoir des orthologues pour p300 / CBP<sup>45</sup>. Les structures nucléaire<sup>46</sup> et chromatinienne<sup>47</sup> étant largement conservées entre eucaryotes «inférieurs» et «supérieurs», l'évolution des protéines p300 / CBP n'aurait donc pas été déclenchée par l'évolution du noyau et de la chromatine, mais bien plus tard lors de l'évolution des métazoaires. Ainsi, la fonction de p300 / CBP pourrait avoir un rôle particulièrement important au niveau de la croissance et du développement des organismes multicellulaires, notamment pour la communication intercellulaire ou la morphogenèse d'organes<sup>48</sup>.

Quand les vertébrés ont évolué, la région chromosomique correspondant à *EP300 / CREBBP*, ainsi que huit gènes voisins, semblent avoir subi une duplication qui a entraîné la formation du gène *EP300* (localisé sur le chromosome 22 chez l'homme, au locus 22q13) et du gène *CREBBP* (localisé sur le chromosome 16 chez l'homme, au locus 16p13)<sup>49</sup>. Ainsi, diverses espèces comme le poulet, l'opossum, la souris et l'homme ont tous un gène *EP300* et un gène *CREBBP*. Cependant, même au sein des vertébrés, il y a une certaine variation du nombre de copies. Par exemple, les grenouilles semblent avoir perdu leur gène *EP300*, le poisson zèbre semble avoir perdu le gène *CREBBP* alors que les poissons-globes semblent avoir dupliqué leur gène *CREBBP*.

Après l'événement de duplication, p300 et CBP ont divergé lors de l'évolution, aboutissant à une similarité de séquence d'environ 61% aujourd'hui. Fait intéressant, certains domaines ont conservé plus d'homologie que d'autres. Ainsi, la séquence codante pour le domaine catalytique a été hautement conservé lors de l'évolution, avec actuellement 86% de similarité de séquence entre les protéines CBP et p300 au niveau de la région correspondant au domaine acétyltransférase et ses deux domaines flanquants.

Cette conservation suggère une fonction évolutive optimisée du domaine catalytique et souligne l'importance du rôle de p300 et CBP.



**Figure 4: Structure des protéines p300/CBP.**

Des exemples de structure de protéine pour le bromodomaine, le domaine catalytique HAT, le doigt de zinc ZZ et le domaine TAZ2 sont représentés. Les protéines p300 et CBP sont colorées en gradient arc en ciel, en bleu à l'extrémité N-terminale et rouge à l'extrémité C-terminale. Les résidus d'acides aminés (AA) inclus dans chaque structure sont énumérés en dessous. Les ions de zinc sont schématisés par des sphères noires.

Une modélisation de la protéine p300/CBP avec tous les domaines est représentée: trois domaines cystéine / riches en histidine (C/H) sont présentés en turquoise, trois domaines en doigts de zinc sont indiqués en jaune, et le domaine catalytique acétyltransférase est représenté en orange. Quelques exemples de protéines se liant à p300/CBP y sont énumérés juste en dessous.

Enfin, il est noté le pourcentage de similarité de séquence entre p300 et CBP, au sein de la protéine entière et plus particulièrement au sein de la région catalytique allant du bromodomaine au domaine C/H3). Extrait de <sup>50</sup>.

## **b) Structure des protéines CBP et p300**

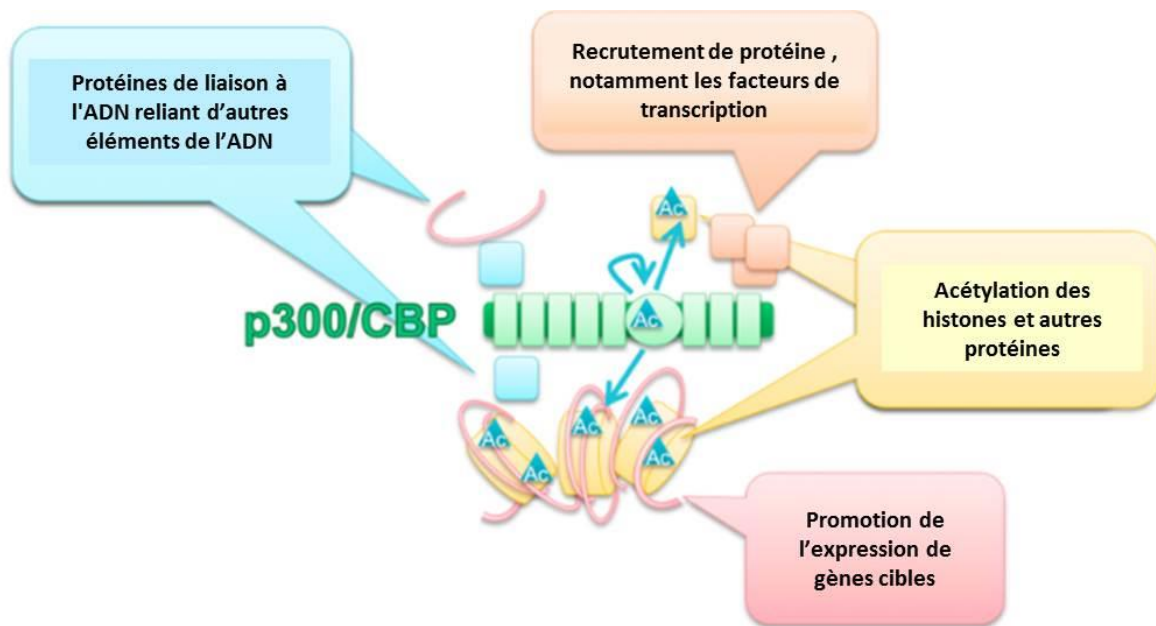
Ces deux protéines partagent une structure similaire avec différents domaines fonctionnels, incluant différents types de motifs d'interaction protéine-protéine. Le domaine KAT couvre les résidus 1281 à 1664. D'autres domaines non catalytiques présentent une forte similarité de séquence (Figure 4). Du côté N-terminal, il y a un domaine d'interaction aux récepteurs nucléaires (*NRID* ou *RID*), qui est également l'un des deux domaines *SPC* (*SPC-1* et *SPC-2*), qui peut se lier à des motifs *PXXP*. *SPC-2* est également un domaine d'interaction Sin3 (*SID*). Il y a trois régions riches en cystéine-histidine (C/H1 à C/H3) impliquées dans les interactions protéine-protéine. Les domaines C/H1 et C/H3 contiennent des adaptateurs transcriptionnels en doigt de zinc (*TAZ1* et *TAZ2*), et le domaine C/H3 contient également un domaine doigt de zinc *ZZ* et interagit avec l'oncoprotéine EA1. Le C/H2, qui fait partie du domaine catalytique, contient un homéodomaine (*PHD*). Entre les régions C/H1 et C/H2, il y a un domaine de liaison à l'interféron (*IHD*), un domaine KIX qui permet l'interaction de CREB, plus particulièrement au résidu 133 (Ser133) phosphorylé de la protéine CREB, avec d'autres facteurs de transcription et enfin un bromodomaine (BD) qui relie les lysines acétylées<sup>51</sup>. Du côté de l'extrémité C-terminale de p300/CBP il existe un domaine de transactivation de liaison à l'interféron (*IBiD*), qui contient un domaine coactivateur de liaison nucléaire (*NCBD*) et un domaine riche en glutamine, suivi d'un *PxP* motif contenant de la proline<sup>52,53</sup>.

## **c) Fonction des protéines CBP et p300**

La fonction principale des protéines CBP et p300 est d'être des cofacteurs de transcription pour un certain nombre des protéines nucléaires. Elles sont capables d'interagir avec les facteurs de base de la transcription, la *TATA-binding protein (TBP)* et *TFIIB*, et peuvent former un complexe avec l'ARNpolIII<sup>54-56</sup>. Ces interactions permettent aux enzymes KAT3 de jouer un rôle crucial dans l'initiation de la transcription. Elles sont également des cofacteurs pour des oncoprotéines, pour la transformation des protéines virales (par exemple : E1A) ou encore pour des protéines suppresseurs de tumeur (par exemple p53 ou BRCA1)<sup>57</sup>.

Ainsi, CBP et p300 favorisent la transcription de deux façons: d'une part, elles agissent comme un pont, reliant les facteurs de transcription liant l'ADN à la machinerie de

transcription, et d'autre part, par acétylation des histones, elles créent un environnement chromatinien favorisant l'expression génique, comme indiqué précédemment (Figure 5).



**Figure 5 : Fonctions de p300/CBP comme protéines d'échafaudage et activité acétyltransférase.**

Les réactions d'acétylation sont illustrées par des flèches turquoise, à la fois par acétylation des histones et également des substrats non histones (en jaune). La fonction de pont est illustrée par des carrés turquoise, ce qui représente des protéines de liaison à l'ADN qui interagissent avec des éléments d'ADN à proximité avec p300/CBP. La fonction d'échafaudage est illustrée par des carrés oranges, représentant le complexe protéique recruté par p300/CBP. Ces fonctions permettent ainsi l'expression des gènes. Extrait de <sup>50</sup>.

En dehors de la transcription, p300 et CBP agissent indirectement dans d'autres processus nucléaires par leur interaction avec plusieurs protéines (qu'elles acétylent souvent) impliquées dans la réplication et la réparation de l'ADN<sup>58,59</sup>. Elles ont également été impliquées dans la régulation de la progression du cycle cellulaire par l'intermédiaire d'interactions avec la cycline E et la kinase cycline-dépendante 2<sup>60</sup>, ainsi que dans le transport intranucléaire par acétylation de l'importin- $\alpha$ <sup>61</sup>.

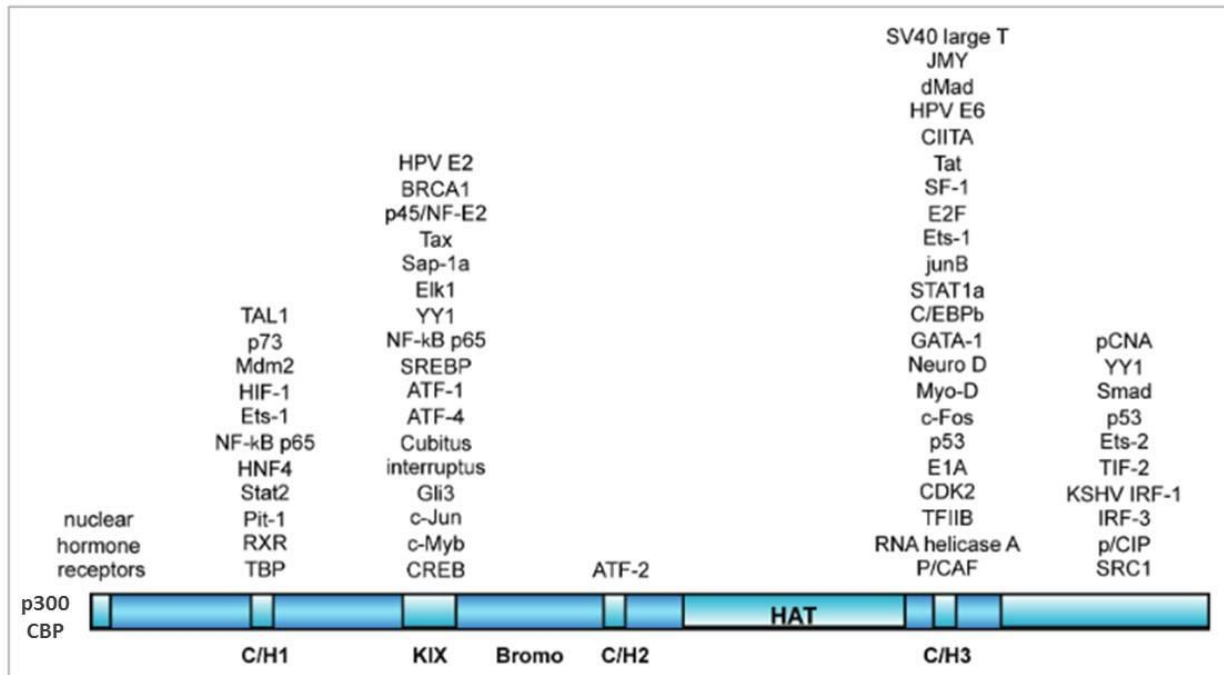
Cependant, en dépit d'une importante similarité de séquence et de plus de 312 protéines d'interactions communes<sup>62</sup> (Figure 6), des études *in vivo* ont révélé que les protéines CBP et p300 pourraient avoir des fonctions spécifiques. Par exemple, alors que les souris *knock-out* (KO) à la fois CBP et p300 meurent avant la naissance par anomalie de fermeture du tube



neural, seuls les embryons p300<sup>-/-</sup> présentent un défaut de développement cardiaque.

En revanche, les souris CBP<sup>+/-</sup> présentent un retard de croissance et des anomalies crânio-faciales ainsi qu'une augmentation de l'incidence des hémopathies malignes, qui ne sont pas partagés par leurs homologues p300<sup>+/-</sup> 63,64.

Ces données suggèrent que les protéines CBP et p300 ont également des fonctions distinctes et non redondantes dans de nombreux tissus et principalement le cerveau 65,66.



**Figure 6: Exemples de facteurs de transcription, d'activateurs et de co-activateurs associés aux différents domaines fonctionnels de CBP et p300.**

Les domaines indiqués sont les motifs cystéine et histidine (C/H), le domaine de liaison à CREB (KIX), le bromodomaine (Bromo) et le domaine histone acétyltransférase (HAT). Extrait de 67.

### ***C. Régulation épigénétique et fonction cognitive dans le SRT***

Comme nous l'avons vu, les mécanismes épigénétiques, notamment les modifications post-traductionnelles des histones, agissent comme une interface moléculaire entre les gènes et l'environnement.

Ces mécanismes sont connus depuis de nombreuses années pour jouer un rôle clé dans la différenciation des lignées cellulaires pendant le développement embryonnaire.

Par exemple, les modifications épigénétiques de la chromatine durant la différenciation cellulaire vont permettre à des cellules, ayant le même génome, d'acquérir des propriétés

modifiant le profil d'expression génique qui sera ensuite transmis aux cellules filles tout au long des divisions cellulaires successives<sup>68</sup>.

En revanche l'idée que les mécanismes épigénétiques soient également impliqués dans la cognition est relativement récente. Cela représente aujourd'hui une perspective dans la compréhension des variations phénotypiques comportementales et cognitives observées chez les humains. De nombreux gènes ont été associés à des troubles neurodéveloppementaux entraînant des déficiences intellectuelles. Ce groupe inclut plus de 50 gènes (soit environ 10% du nombre total de gènes impliqués à l'heure actuelle dans les déficiences intellectuelles) qui codent pour des protéines impliquées dans l'architecture épigénétique du génome et le remodelage chromatinien.

### **1. Modifications d'acétylation des histones et développement de la mémoire**

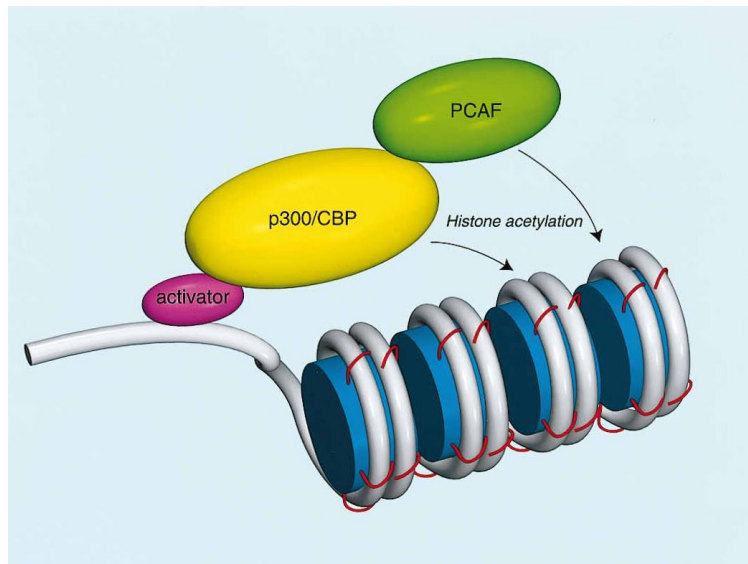
Chez les vertébrés et les invertébrés, des modifications d'acétylation des histones dans le noyau du neurone ont été associées à l'acquisition de la mémoire. Des expérimentations chez la souris indiquent que plusieurs positions du nucléosome sont acétylées pendant les tâches d'apprentissage. Ces marques sont associées à des étapes spécifiques de développement mnésique et ont été détectées dans la chromatine de cellules neuronales. Par exemple, l'acétylation de H3 augmente rapidement dans l'hippocampe et dans l'amygdale latérale après un conditionnement contextuel à la peur<sup>69,70</sup>, alors que l'acquisition de la mémoire spatiale (dans un labyrinthe d'eau) est associée à l'acétylation de H2B et H4 au niveau de l'hippocampe<sup>71</sup>.

D'autre part, certaines études sur les rongeurs ont démontré que les modifications de l'acétylation pouvaient être limitées aux promoteurs de gènes connus pour être impliqués dans la formation de la mémoire, tel que celui codant pour la neurotrophine *BDNF* (impliqué dans la plasticité synaptique et le maintien de la mémoire à long-terme). Ainsi, l'histone H3 est hyperacétylée au niveau du promoteur du gène du *BDNF* lors de la récupération de la mémoire de peur conditionnée, cette hyperacétylation étant nécessaire pour la reconsolidation de la mémoire<sup>72</sup> ; tandis que l'extinction de cette mémoire de peur conditionnée est associée à l'hyperacétylation de H4 dans le même promoteur dans les neurones du cortex préfrontal<sup>73</sup>.

Ces données indiquent que les histones peuvent être différemment acétylées durant la formation de la mémoire.

L'acétylation des histones est médiée par l'activité lysine acétyltransferase (KAT) et est généralement associée à l'activation des gènes, alors que la désacétylation des histones, médiée par l'histone désacétylase (HDAC), a été associée à la répression de l'activité génique<sup>39</sup>. Les protéines KAT et HDAC jouent donc un rôle clé dans le développement de la mémoire.

Ces protéines sont exprimées de façon ubiquitaire, mais certaines sont particulièrement exprimées dans des aires cérébrales impliquées dans les apprentissages et la mémoire, comme l'hippocampe ou le cortex pré-frontal<sup>74</sup>. Des déficits en activité KAT ont été associés à des déficiences intellectuelles et des troubles cognitifs, c'est pourquoi les protéines KAT sont considérées comme des régulateurs positifs des processus cognitifs. C'est notamment le cas des protéines de la famille KAT3 (CBP et p300) et KAT2B (également nommée *p300/CBP-associated factor*, PCAF)<sup>75,76</sup> (Figure 7).



**Figure 7: Modèle de fonction de CBP, p300 et PCAF.**

Ces protéines forment un complexe au niveau du promoteur de certains gènes. Ce complexe va acétyler les queues des histones (rouge) de manière promoteur-spécifique et permettre la transcription de ces gènes. Extrait de <sup>77</sup>.

## 2. L'apport du modèle animal

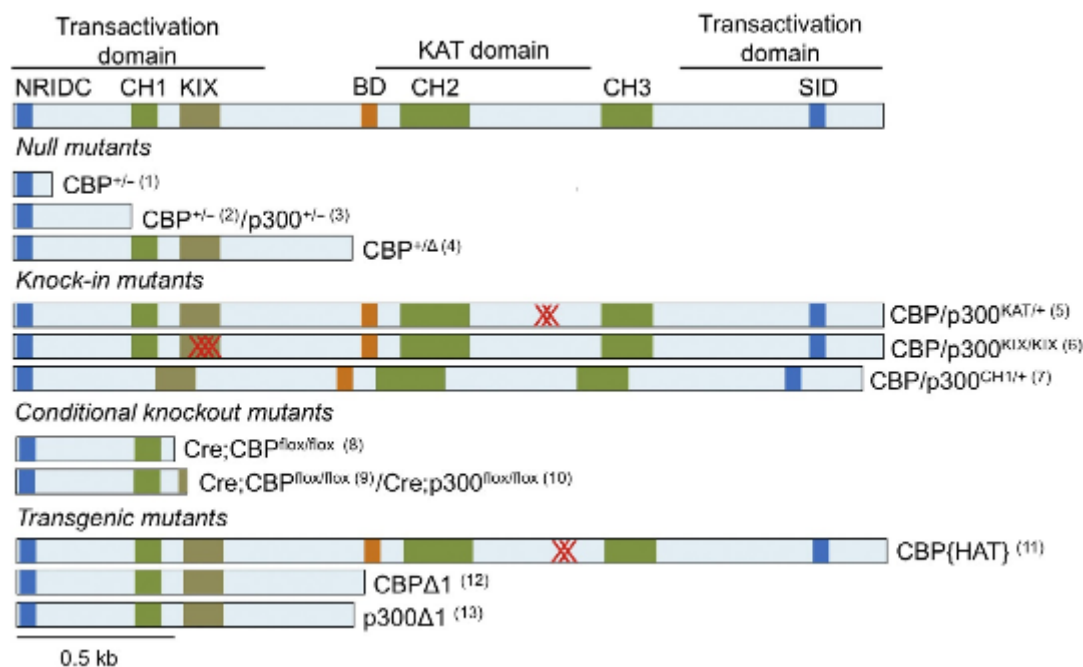
La recherche fondamentale sur les souches de souris génétiquement modifiées destinées à reproduire les altérations génétiques impliquées dans les anomalies de développement embryonnaire représente aujourd'hui, l'une des approches préférentielles afin de progresser

dans la compréhension et le traitement de ces désordres congénitaux.

Le SRT représente un excellent exemple de l'utilité des modèles de souris car la plupart des progrès dans la compréhension de ce trouble est issue de la production et la caractérisation des souches de souris qui reproduisent les mutations délétères décelées chez les patients.

### a) Différents modèles murins

Différentes souches de souris CBP et p300 déficientes ont été générées pour tenter de comprendre les spécificités phénotypiques du SRT et d'élucider la fonction de ces protéines au niveau du système nerveux (Figure 8):



**Figure 8 : Représentation linéaire de la souche sauvage et des différentes souches mutantes de CBP et p300 utilisées dans des modèles murins de SRT.**

L'emplacement des différents domaines fonctionnels de CBP et p300 est indiqué; il s'agit du domaine lysine acétyltransférase (KAT), du bromodomaine (BD), des deux domaines de transactivation, des trois motifs riches en histidine/cystéine (C/H1 à C/H3) et de multiples domaines d'interaction spécifique pour les différents facteurs de transcription, tels que le domaine KIX et le domaine d'interaction aux récepteurs nucléaires (NRIDC) à l'extrémité N-terminale de la protéine.

Les différentes études expérimentant ces modèles sont référencées : (1) Tanaka *et al.*<sup>78</sup> ; (2) Kung *et al.*<sup>63</sup> ; (3) Yao *et al.*<sup>64</sup> ; (4) Oike *et al.*<sup>79</sup> ; (5) Roth *et al.*<sup>80</sup> (6) et (7) Kasper *et al.*<sup>81</sup> ; (8) Zhang *et al.*<sup>82</sup> ; (9) Kang-Decker *et al.*<sup>83</sup> ; (10) Kasper *et al.*<sup>66</sup> ; (11) Korzus *et al.*<sup>84</sup> ; (12) Wood *et al.*<sup>85</sup> ; (13) Oliveira *et al.*<sup>86</sup>. Extrait de <sup>21</sup>.

### **(1) Mutants knock-out:**

Les souris *knock-out* (KO) hétérozygotes conventionnelles pour *CREBBP* ( $CBP^{+/-}$ ) ou *EP300* ( $p300^{+/-}$ ) sont les modèles les plus appropriés pour reproduire le spectre phénotypique complexe du SRT car elles sont porteuses d'altérations génétiques équivalentes aux mutations hétérozygotes retrouvées chez les patients. Ces modèles murins permettent l'exploration des différentes anomalies notamment cognitives, squelettiques ou hématologiques.

Trois souches KO indépendantes dans lesquelles le gène *CREBBP* était ciblé ont été générées et une souche KO ciblant le gène *EP300*<sup>63,64,78,79</sup>. Le but de la génération de toutes ces souches était de produire une protéine tronquée non fonctionnelle.

### **(2) Mutants knock-in:**

Restreindre la mutation à des régions spécifiques est une approche utile pour mieux comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents de la maladie en évaluant l'implication de domaines protéiques spécifiques. Trois domaines de CBP/p300 ont été ciblés en utilisant des procédures *knock-in* (KI), à savoir les domaines KAT, KIX et C/H1.

Dans le premier cas, des mutations ponctuelles d'inactivation ont été introduites dans le domaine KAT de *CREBBP* et d'*EP300* pour étudier l'implication de ce domaine dans la formation d'organes<sup>80,87</sup>.

Dans le cas du domaine KIX, trois mutations ponctuelles dans *CREBBP* ou d'*EP300* ont permis de diminuer l'interaction de ces co-activateurs avec des partenaires spécifiques, tels que CREB<sup>66</sup>.

Enfin, le rôle du domaine C/H1, en tant que domaine de transactivation transcriptionnelle, a été exploré en supprimant les exons codant pour les acides aminés 342-393 dans CBP et 329-379 dans p300<sup>88</sup>.

### **(3) Mutants knock-out conditionnés:**

L'étude du rôle précis des protéines KAT3 dans des conditions normales et dans le cerveau malade est entravée par la létalité prénatale de souris KO homozygotes. Cette situation peut être contournée par l'utilisation de souris *knock-out* conditionnées (cKOs) pour lesquelles l'expression de la mutation peut être limitée dans l'espace et/ou dans le temps.

Par exemple, l'ablation neuronale restreinte peut être obtenue par le croisement de souris « floxées » (animaux dans lesquels des sites loxP ont été introduits au niveau d'exons flanquants spécifiques) avec des souris transgéniques exprimant la Cre recombinase dans les neurones.

Cela se traduit par la suppression des exons flanqués dans le tissu neuronal et la perte conséquente de l'expression ou la production d'une protéine tronquée. L'utilisation de recombinases inductibles, en déclenchant l'ablation du gène au moment décidé par l'expérimentateur, permet une compréhension plus précise encore de l'implication des protéines KAT3 dans la fonction cognitive en écartant les biais induits de retard de croissance, d'anomalies du squelette ou encore d'anomalies cardiaques observés chez les souris KO classiques<sup>89</sup>.

Deux souches de mutants *CREBBP* « floxés » ont été générées dans lesquelles des sites loxP ont été introduits flanquant l'exon 7<sup>82</sup> ou 9<sup>83</sup>. Dans le cas d'*EP300*, la seule souche cKO disponible a été générée en flanquant l'exon 9<sup>66</sup>.

#### **(4) Mutants transgéniques:**

Les approches transgéniques, basées sur l'utilisation de promoteurs de tissus ou de cellules spécifiques, peuvent aider à déterminer la contribution de régions cérébrales ou types subcellulaires spécifiques sur l'expression du phénotype. En outre, certaines approches transgéniques permettent également de contrôler l'expression dans le temps du transgène permettant d'explorer la réversibilité du phénotype, ce qui est impossible avec les modèles cKO.

Ainsi, le premier modèle transgénique de SRT, appelé souris CBP {HAT-}, exprimé sous le contrôle du système CaMKII $\alpha$ -tTA/tetO, porte deux mutations ponctuelles au niveau de résidus très conservés (Y1540 / F1541) dans le domaine KAT, ce qui abolit complètement son activité enzymatique, tout en conservant les autres interactions protéine-protéine<sup>84</sup>. Dans ce système, le transgène est spécifiquement exprimé dans les neurones du cerveau antérieur postnatal, et l'expression peut être activée ou désactivée par la suppression ou l'ajout de doxycycline dans l'alimentation<sup>90</sup>. La même approche transgénique a ensuite été utilisée pour exprimer une protéine p300 tronquée (acides aminés 1-1031) dépourvue du domaine KAT et de sa moitié C-terminale<sup>86</sup>.

## **b) Rôle des protéines KAT3 dans le neurodéveloppement**

Les protéines KAT3, CBP et p300 jouent un rôle capital durant le développement en contrôlant la prolifération et la différenciation de différentes lignées cellulaires, notamment celles du système nerveux<sup>91</sup>.

Chez les mammifères, les deux protéines sont d'abord nécessaires à la fermeture du tube neural au stade embryonnaire. Ainsi, les souris homozygotes portant des allèles nuls *CREBBP*<sup>-/-</sup> ou *EP300*<sup>-/-</sup> meurent tôt au cours du développement embryonnaire<sup>64,79,92</sup>. La mort peut survenir par exencéphalie<sup>64,92</sup> ou par malformation vasculaire ou cardiaque<sup>64,79,92</sup>. Par ailleurs, les mutations doubles hétérozygotes *CREBBP*<sup>+/-</sup> et *EP300*<sup>+/-</sup> sont également létales<sup>79</sup>. Il est à noter que la perte fonctionnelle de l'une des deux protéines, chez les souris hétérozygotes, est compensée par la surexpression de l'autre lors des stades ultérieurs de développement<sup>93-95</sup>. Cela indique que ces deux protéines jouent des rôles redondants au cours des stades précoces du développement et qu'un certain niveau total d'activité de CPB et p300 est essentiel lors du développement embryonnaire.

Cependant, la comparaison des souris déficientes pour CBP ou p300 a pu révéler d'importantes différences dans le rôle de ces deux protéines au cours du développement en dehors du cerveau. Par exemple, les embryons *p300*<sup>+/-</sup>, ayant perdus leur activité KAT, présentent plusieurs malformations d'organes affectant le muscle squelettique<sup>80</sup>, le cœur et la vascularisation coronaire, l'épithélium pulmonaire et l'intestin grêle<sup>87</sup>, ce qui n'est pas observé chez les mutants équivalents pour CBP.

En revanche, des troubles de l'hématopoïèse et un taux d'hémopathies malignes sont plus importants chez les mutants *CBP*<sup>63,66,83</sup> bien que p300 soit également essentiel dans d'autres aspects de la différenciation hématopoïétique. Ces divergences fonctionnelles pourraient s'expliquer par des interactions protéine-protéine différentes et des spécificités de substrats<sup>65</sup> mais, malheureusement, un catalogue précis de ces interactions *in vivo* n'est actuellement pas disponible.

### c) Manifestations syndromiques chez le modèle murin

Les souris hétérozygotes *CREBBP* et *EP300* ( $CBP^{+/-}$  et  $p300^{+/-}$ ) sont viables et fertiles, mais présentent une dysmorphie crânio-faciale (front proéminent, nez émoussé et fontanelle antérieure large) ainsi que d'autres anomalies squelettiques associées au SRT, telles que des anomalies de la cage thoracique<sup>79,95</sup>. Les pouces et hallux larges, critères diagnostiques caractéristique du SRT, ne sont apparemment pas reproduits chez la souris.

En plus des anomalies squelettiques, les mutants hétérozygotes présentent également un retard de croissance<sup>63,78,79,95</sup>, une sensibilité accrue à l'insuline<sup>96</sup> et des troubles de l'hématopoïèse avec une tendance à développer des hémopathies malignes<sup>63</sup>, ce qui est concordant avec le rôle de suppresseur de tumeur des protéines KAT3<sup>97</sup> ainsi qu'avec le risque accru de cancer observé chez les patients SRT<sup>98</sup> (détaillé dans la section II.).

Bien que les phénotypes des différentes souches de mutants hétérozygotes n'aient jamais été comparés, la souche *knock-in* générée par Oike et ses collègues, qui exprime une protéine CBP tronquée après le domaine KAT, semble présenter un phénotype plus sévère que les souris  $KO^{+/-}$ , avec des anomalies crânio-faciales et squelettiques, un ralentissement psychomoteur et des malformations cardiaques<sup>79</sup>. Comme déjà rapporté pour les mutants KI dans le domaine KAT, ce résultat est interprété comme un effet dominant négatif de la protéine CBP tronquée et non comme un mécanisme d'haplo-insuffisance. Dans l'haplo-insuffisance, deux copies fonctionnelles du gène sont nécessaires pour synthétiser suffisamment de produit pour le développement normal. Dans le mécanisme dominant négatif, le produit anormal dérivé de l'allèle mutant inhibe le produit issu de l'allèle sauvage. Chez l'Homme, la présence d'une protéine tronquée, quelle qu'en soit la séquence résiduelle ou l'absence de protéine CBP mutée, aboutit au phénotype de SRT. L'haplo-insuffisance semble donc être aujourd'hui le mécanisme pathogène le plus probable<sup>8</sup>.

Contrairement aux souris *knock-in* pour le domaine KAT, les souris KI homozygotes  $CBP^{KIX/KIX}$  et  $p300^{KIX/KIX}$  sont viables. Cependant dans les souches *p300*, certains décès ont été observés autour de l'âge de 3 semaines et les animaux survivants avaient tendance à être plus petits et à présenter des troubles hématopoïétiques.



Les mutants KI hétérozygotes pour le domaine C/H1 sont également viables et ne présentent pas de différence phénotypique majeure. Cependant certaines anomalies caractéristiques du SRT ont été observées, telles que des anomalies crânio-faciales et un retard de croissance, chez des mutants combinés hétérozygotes pour les deux protéines (CBP<sup>+/-</sup> $\Delta$ <sup>CH1</sup> et p300<sup>+/-</sup> $\Delta$ <sup>CH1</sup>)<sup>81</sup>.

Toutes les souches étudiées de souris floxées (CBP<sup>flox/flox</sup> ou p300<sup>flox/flox</sup>) sont indiscernables de leurs congénères *wild-type* en l'absence de cre recombinase.

#### d) Déficience intellectuelle et troubles mnésiques

Pour tenter de modéliser et de comprendre les déficits cognitifs rencontrés chez les patients SRT, les différents modèles de souris, précédemment détaillés, ont été examinés pour de nombreux exercices d'apprentissage et de mémoire.

Ces expériences ont révélé des troubles de la mémoire associative (peur conditionnée ou tâches d'évitement), de la mémoire épisodique (tâche de reconnaissance d'objet) et de la mémoire spatiale (tâche du labyrinthe aquatique de Morris) ainsi que dans d'autres aspects comportementaux liés à la déficience intellectuelle<sup>99</sup>.

Dans l'ensemble, les études ont souligné l'importance des fonctions de CBP et p300 dans les processus liés à la plasticité neuronale, notamment l'apprentissage et la mémoire<sup>51</sup>.

Des expériences ont notamment été menées sur des souris transgéniques avec une expression régulable d'un variant dominant négatif de *CREBBP* avec un domaine KAT muté (souris CBP {HAT-}). Les résultats ont suggéré qu'une activité KAT intacte dans le prosencéphale adulte était nécessaire pour la consolidation de certaines formes de mémoire<sup>84</sup>.

La plupart des souches mutantes de CBP ont montré des déficits spécifiques de la mémoire à long terme mais sans retentissement sur la mémoire à court terme, ce qui suggère un rôle de la protéine CBP dans la consolidation de la mémoire. Cependant, en 2010 Chen *et al.* ont étudié des souris cKO dans lesquelles CBP a été complètement inactivée dans les neurones excitateurs du prosencéphale postnatal et ont montré des déficits dans les deux types de mémoire à long terme comme à court terme<sup>93</sup>. Cela suggère un rôle de CBP à la fois dans le stockage de la mémoire mais également dans l'encodage de la mémoire.

Ces résultats sont toutefois à pondérer car cet effet sur la mémoire à court terme n'a pas été répliqué dans des études ultérieures utilisant le même modèle de souris cKO<sup>94,100</sup>.

En plus des déficits mnésiques, plusieurs souches avec une protéine CBP déficiente, notamment les souris hétérozygotes CBP<sup>+/-</sup> et les souris KI homozygotes CBP<sup>KIX/KIX</sup>, portant une mutation ponctuelle dans le domaine KIX bloquant l'interaction CBP-CREB, présentaient des troubles de coordination motrice<sup>86,101</sup>. Cela peut se rapprocher des troubles locomoteurs et de la coordination observés chez les patients atteints de SRT.

En comparaison, l'analyse des souris déficientes pour p300 a révélé des déficits plus modérés. Des souris transgéniques exprimant une protéine p300 tronquée dans l'hippocampe, l'amygdale, le cortex et le cervelet présentent des déficits mnésiques pour le réflexe de peur conditionnée et les tâches de reconnaissance d'objet<sup>86</sup>. Ces résultats ont également été observés chez les souris cKO p300<sup>102</sup>.

En revanche, les analyses des souris KO hétérozygotes p300<sup>+/-</sup>, présentant une altération génétique plus proche du SRT chez l'humain, n'ont révélé que des déficiences légères de la mémoire spatiale (labyrinthe d'eau) mais sans aucun retentissement sur le réflexe de peur conditionnée ou les tâches de reconnaissance d'objet<sup>95</sup>.

Les souris KO hétérozygotes p300<sup>+/-</sup> présentent également des déficits moteurs légers comme une démarche anormale ou une vitesse de nage réduite.

Ces observations sont donc en accord avec la présentation phénotypique plus modérée des patients atteints de SRT mutés dans *EP300* en comparaison de ceux mutés dans *CREBBP*. Nous reviendrons plus en détail sur ces différences phénotypiques dans la section IV. B.

## **D. Etiologie moléculaire du SRT**

Ainsi les expériences menées sur des modèles animaux de SRT suggèrent que l'altération de la fonction des protéines CBP et p300 peut contribuer à l'étiologie des phénotypes observés chez les patients atteints de SRT par deux principaux mécanismes :

D'une part, l'altération neuronale de l'acétylation des histones. Il a par ailleurs été montré des déficits similaires d'acétylation des histones chez des patients atteints de SRT dans des lignées cellulaires lymphoblastoïdes<sup>103</sup>.

D'autre part, l'altération de la transcription des gènes dépendants de CREB. En effet, il a été observé que la transcription était altérée dans des lignées cellulaires lymphoblastoïdes provenant de patients atteints de SRT porteurs de mutations du domaine KAT de *CREBBP*<sup>11</sup>. La même observation a été faite dans des neurones de souris transgéniques exprimant une protéine CBP à effet dominant négatif<sup>84</sup>. Par ailleurs, il a été montré une amélioration de la plasticité synaptique chez les souris *cbp*<sup>+/-</sup> par une augmentation de l'activité de CREB<sup>101</sup>.

## **II. Description clinique du syndrome de Rubinstein-Taybi**

La première description de ce syndrome date de 1957 par Michail *et al.*<sup>104</sup>, dans la littérature française, qui rapporte un cas présentant des pouces larges avec une déviation radiale. Ce syndrome reste cependant relativement méconnu jusqu'en 1963 quand J. H. Rubinstein, pédiatre, et H. Taybi, radiologue, rapportent les cas de sept enfants avec pouces et hallux larges, critères mineurs faciaux et déficit intellectuel<sup>4</sup>. Depuis cette date, ce syndrome est clairement identifié comme une anomalie sévère du développement embryonnaire. En 1990, Rubinstein publie l'ensemble des cas décrits dans la littérature mondiale, rapportés par des confrères, des familles ou encore issus de ses observations personnelles. Il référence ainsi 571 patients à travers le monde (caucasiens, africains et asiatiques) permettant d'affiner le spectre phénotypique de ce syndrome<sup>3</sup>.

La prévalence dans la population générale, initialement estimée entre 1/300000 et 1/720000 naissances<sup>105</sup>, est aujourd'hui établie entre 1/100000 et 1/125000 naissances<sup>1</sup>.

Le diagnostic est le plus souvent posé à la naissance ou dans la petite enfance devant l'association classique d'un retard de croissance post-natal, d'une dysmorphie faciale caractéristique, de pouces et hallux larges et d'un déficit intellectuel.

La meilleure connaissance de ce syndrome, par plus de 600 cas rapportés aujourd'hui dans la littérature, a permis d'élargir le spectre phénotypique.

### **A. Anomalies anténatales et grossesse**

Le diagnostic de SRT n'est généralement jamais fait, ni même évoqué lors de la grossesse. Les signes d'appel en anténatal sont le plus souvent absents. Un retard de croissance intra-utérin (RCIU) modéré est parfois noté et un hydramnios est retrouvé dans 30% des cas. Récemment, il a été rapporté plusieurs cas de pré-éclampsie et d'hypertension artérielle (HTA) gravidique lors de grossesses d'enfants porteurs d'une mutation dans le second gène impliqué dans le SRT, *EP300*<sup>17,18,20</sup>. Grâce à l'Association Française du syndrome de Rubinstein-Taybi (« L'olivier »), notre centre de référence a pu réaliser une étude rétrospective des données anténatales d'enfants nés et suivis avec un diagnostic de SRT. Sur les 12 cas étudiés, deux cas d'hydramnios et un seul cas de RCIU sont retrouvés. Les anomalies typiques de la face et des extrémités sont de recherche difficile en échographie et ne sont retrouvés que dans 2 cas, ce qui explique la méconnaissance du diagnostic en échographie anténatale. Par ailleurs, une agénésie du corps calleux et deux fœtus avec grosses vésicules biliaires sont décrits (Naudion *et al.* non publié).

### **B. Retard de croissance staturo-pondéral et microcéphalie**

Basées sur ces observations ainsi que sur les spécificités du syndrome de Rubinstein-Taybi, de nouvelles courbes de croissance spécifiques ont été éditées en 2014 pour la taille, le poids, le périmètre crânien (PC) mais également pour l'indice de masse corporelle (IMC)<sup>106</sup>.

Les enfants atteints de SRT évoluent le plus souvent avec un retard statural modéré et une microcéphalie. Classiquement, la croissance intra-utérine et les mensurations à la naissance (poids, taille et PC) apparaissent normales autour du 50<sup>e</sup> percentile. Le poids moyen à la naissance est de 3,300 kg pour les garçons et 2,970 kg pour les filles. La taille moyenne à la naissance est de 49,7 cm pour les garçons et 48,6 cm pour les filles. Le périmètre crânien à la naissance est de 34,2 cm pour les garçons et 32,2 cm pour les filles.

Cependant, pendant les premiers mois de vie les paramètres de taille et de poids vont chuter autour du 5<sup>e</sup> percentile et se stabiliser ainsi jusqu'à l'entrée en scolarité; puis à l'adolescence, la taille et le poids vont chuter sous le 5<sup>e</sup> percentile. On ne note pas de poussée de croissance pendant l'adolescence, ce qui est un facteur supplémentaire de taille finale réduite des hommes et des femmes atteints de SRT.

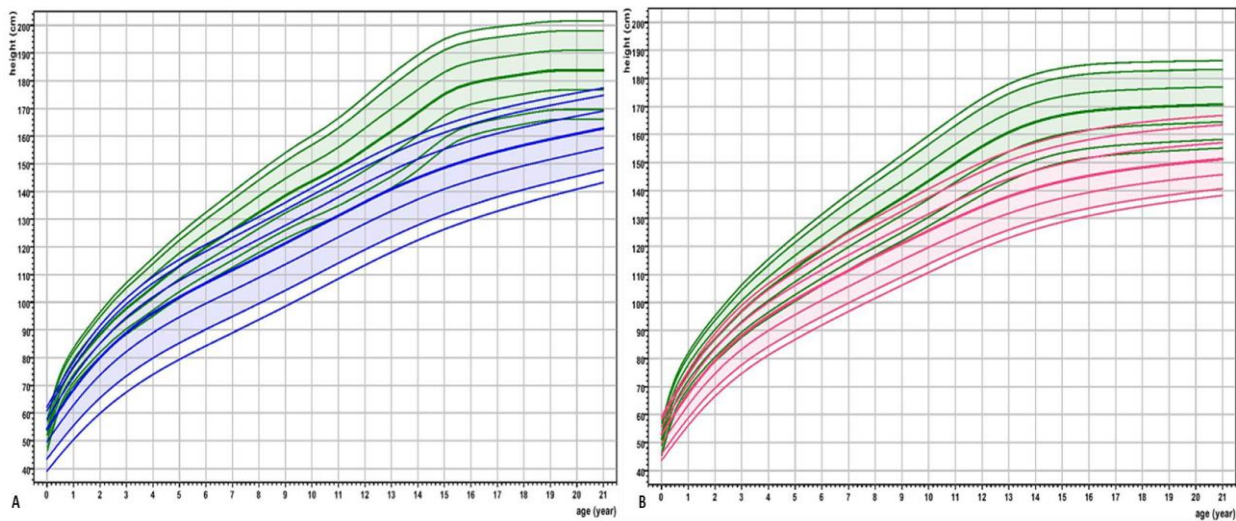
Il n'existe pas de plateau final clair de la croissance à l'âge adulte, ce qui semble indiquer une croissance possible après 18 ans pour un nombre limité d'années. Il existe par ailleurs un risque de surcharge pondérale apparaissant dans l'enfance chez le garçon et à la puberté chez la fille, qu'il convient de surveiller et de prévenir par des mesures hygiéno-diététiques. Ce risque apparaît plus élevé chez les femmes puisque le poids à l'âge adulte est en moyenne de 61,43 +/- 14,89 kg avec un IMC moyen à 26,64 +/- 5,5 kg/m<sup>2</sup> contre un poids moyen final chez le garçon de 60,67 +/- 13,63 kg pour un IMC moyen de 21,90 +/- 3.45 kg/m<sup>2</sup>.

En comparant leurs résultats aux courbes de patients atteints de SRT publiées dans les années 1990, Beets *et al.* ont montré en 2014 une taille adulte chez le garçon significativement plus importante avec une taille adulte moyenne à 162,6 cm (-2 DS) contre 153,1 cm (-3 DS) en 1990. En revanche, il n'est pas noté de différence significative sur la taille moyenne à l'âge adulte des femmes mesurée à 151 cm (-2.2 DS) contre 146,7 cm (-3 DS) dans les années 1990<sup>106,107</sup> (Figure 9).

La microcéphalie est une caractéristique classique dans le syndrome de Rubinstein-Taybi, et est présente, selon les études dans 35 à 94% des cas<sup>3,5,107,108</sup>. Ces écarts selon les études peuvent s'expliquer par le fait que l'incidence de la microcéphalie est âge-dépendant. En effet il est désormais établi que l'évolution du phénotype dans le SRT comprend une réduction de la vitesse de croissance du PC. Il peut être normal à la naissance, descendre sous le 3<sup>e</sup> percentile dans les premiers mois de vie, et à l'âge adulte, de nombreux patients atteints de SRT ont un PC normal. Il est également noté que le PC à la naissance est plus élevé chez les femmes que chez les hommes (25<sup>e</sup> et 10<sup>e</sup> percentile respectivement). Les garçons vont chuter sous le 3<sup>e</sup> percentile vers 1 an contre 2-3 ans chez les filles et se stabiliser sous ce seuil durant l'enfance et l'adolescence.

En revanche à l'âge adulte, le PC moyen masculin se normalise entre le 25<sup>e</sup> et le 90<sup>e</sup> percentile selon les études alors que le PC moyen des femmes reste inférieur au 3<sup>e</sup> percentile<sup>108</sup>.

En 2014, Beets *et al.* ont référencé 92 patients atteints de SRT (dont 46 garçons) et retrouvent des PC moyens à l'âge adulte à 54,40 +/- 1,4 cm chez les hommes (-1,89 DS) et 50,70 +/- 1,38 cm chez les femmes (-2,71 DS)<sup>106</sup>.



**Figure 9: Comparaison entre les courbes de croissance construites pour les patients SRT et les courbes de croissance de référence pour l'âge (selon les normes néerlandaises de 2009).**

Les courbes de référence sont en vert et les courbes de croissance adaptées aux patients SRT sont en bleu pour les garçons (A) et en rose pour les filles (B). Extrait de <sup>106</sup>.

### C. *Système nerveux central*

Des anomalies non spécifiques à l'électroencéphalogramme (EEG) sont retrouvées dans 57 à 66% des cas mais seuls environ 25% des enfants atteints de SRT vont présenter des manifestations épileptiques<sup>3,5</sup>. Plus rarement des malformations cérébrales ont été rapportées comme une agénésie du corps calleux, une malformation d'Arnold Chiari, une hypoplasie de la tige pituitaire ou des malformations de Dandy-Walker<sup>3,5,7,109,110</sup>.

Des malformations de la moelle épinière ont également été décrites (moelle attachée basse, lipome et filum terminal tendu)<sup>5,111</sup>.

Une régression cognitive et/ou développementale n'est pas attendue dans le syndrome de Rubinstein-Taybi et doit nécessiter une évaluation urgente. Si le patient présente une modification de son examen neurologique, une augmentation du PC avec cassure de la courbe ou des symptômes d'hypertension intracrânienne, il faut rechercher l'apparition d'une tumeur cérébrale<sup>98,112,113</sup>.

## ***D. Développement psychomoteur***

La déficience intellectuelle chez les patients atteints de SRT est quasi constante mais son degré est très variable avec des quotients intellectuels (QI) compris entre 25 et 79<sup>5,7</sup>. Le retard de langage est présent dans 90% des cas<sup>7</sup>. Quelques individus n'ont aucun langage verbal et utilisent le langage des signes ou d'autres méthodes de langage non verbal.

L'acquisition de la marche se fait avec retard, volontiers vers l'âge de 2 à 3ans, du fait d'une hypotonie constante initialement. En 2009, Galera *et al.* ont décrit des caractéristiques comportementales spécifiques fréquemment retrouvées dans le syndrome de Rubinstein-Taybi associant: des difficultés attentionnelles, des stéréotypies motrices, une maladresse visio-spatiale et des difficultés de coordination visio-motrice<sup>14</sup>. Il peut s'y associer une hyperactivité et une labilité émotionnelle.

Par ailleurs, les enfants avec SRT sont souvent décrits par leur famille comme ayant un comportement sympathique et jovial. Par la suite Yagihashi *et al.* ont montré que le phénotype comportemental était âge-dépendant et se modifiait durant l'adolescence puis à l'âge adulte avec l'émergence d'anxiété, de trouble obsessionnel compulsif, d'instabilité de l'humeur, de trouble du spectre de l'autisme et de comportement auto et hétéro agressif<sup>15</sup>. Le clinicien doit donc rester vigilant sur l'éventuelle émergence de problèmes psychiatriques dans le suivi des patients adultes.

## ***E. Caractéristiques crânio-faciales***

L'aspect facial classique chez l'enfant associe une microcéphalie, une rétraction bitemporale, une orientation en bas et en dehors des fentes palpébrales, des replis épicanthiques, des sourcils arqués avec des cils longs, un ptosis des paupières, un strabisme, une voûte palatine très ogivale et des oreilles bas implantées en rotation postérieure. Le critère dysmorphique le plus caractéristique est l'aspect prononcé du nez, dont la racine est large, avec un septum long et saillant et une columelle en dessous du niveau des ailes du nez. Un autre critère évocateur est l'aspect très caractéristique au sourire avec fermeture des fentes palpébrales.

Cette dysmorphie faciale ne devient caractéristique que tardivement dans l'enfance. Le phénotype facial est évolutif et l'aspect est différent chez le nouveau-né, avec un hémangiome capillaire, une orientation plus souvent en haut et en dehors des fentes palpébrales, une dépression de la racine du nez avec un hypertélorisme et une microrétrognathie (Figure 10). L'aspect est souvent évident chez l'adulte (Figure 11). Moins fréquemment, le phénotype facial peut comprendre une fontanelle antérieure large ou un retard de fermeture, des bosses frontales, une implantation basse des cheveux, une déviation du septum nasal, une lèvre supérieure fine, une petite bouche, un hélix supérieur fin ou encore des pits à la partie postérieure de l'hélix<sup>3,5,7,116,117</sup>.



**Figure 10: Aspect crânio-facial néonatal de patients atteints de SRT.**

On peut noter : la microcéphalie, l'implantation basse des cheveux sur la nuque et le front, l'hémangiome de la glabella, la rétraction bitemporale, une orientation des fentes palpébrales plus horizontales, les replis épicanthiques, la lèvre supérieure fine, la racine du nez large avec un septum long et saillant et une columelle en dessous du niveau des ailes du nez.





**Figure 11: Evolution du phénotype durant l'enfance, l'adolescence et à l'âge adulte.**

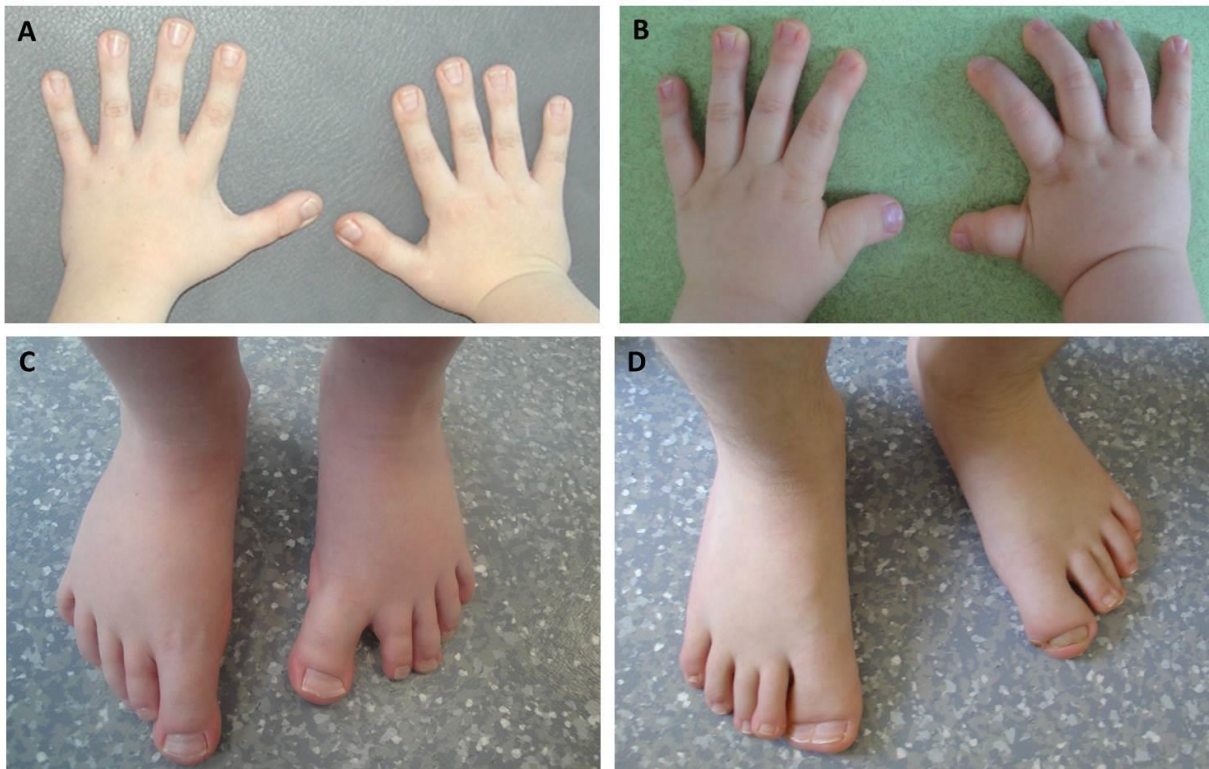
L'hémangiome de la glabelle disparaît classiquement pendant l'enfance. Les fentes palpébrales sont davantage orientées vers le bas et en dehors. Les caractéristiques nasales sont plus marquées avec un nez proéminent et une columelle saillante. On peut noter également l'aspect caractéristique au sourire avec fermeture des fentes palpébrales et le ptosis bilatéral et asymétrique des paupières.

## ***F. Anomalies des extrémités : pouces et hallux larges***

Les anomalies des extrémités sont habituellement un des éléments phénotypiques les plus caractéristiques permettant d'évoquer le diagnostic. La publication princeps de 1957 de ce syndrome par l'équipe de Michail *et al.* était d'ailleurs basée sur la description d'un cas présentant des pouces larges avec une déviation radiale<sup>104</sup> avant la caractérisation phénotypique classique établie par J. H. Rubinstein et H. Taybi en 1963<sup>118</sup>. Une hyperlaxité ligamentaire est également retrouvée dans environ 80% des cas.

Au niveau des mains, elles sont décrites courtes et larges avec un pouce massif caractéristique pouvant être spatulé, court et trapu, plat et large, ou simplement large<sup>3</sup>. Cette anomalie du pouce n'est pas pathognomonique mais est retrouvée dans environ 87% des cas. La déviation radiale de la dernière phalange du pouce est également très évocatrice mais n'est constatée que dans 22 à 48% des cas<sup>3,5</sup> (Figures 12 et 13). Les autres anomalies des mains retrouvées par fréquence décroissante sont des phalanges distales larges des autres doigts, une clinodactylie des 5<sup>e</sup> doigts, des coussinets palmaires persistants des phalanges distales, un pli palmaire transverse unique uni ou bilatéral, une camptodactylie et une déviation ulnaire des 2<sup>e</sup> ou 3<sup>e</sup> doigts<sup>5</sup>.

Au niveau des pieds, l'hallux très large est quasi constant, dans 11% des cas on peut observer une duplication de l'hallux sur les radiographies et une angulation de la dernière phalange en varus (7%) mais surtout en valgus (17%) est décrite<sup>3,5</sup> (Figures 12 et 13). Les autres anomalies observées sont des pieds plats, un chevauchement des orteils dans la moitié des cas, un élargissement entre les deux premiers orteils et une syndactylie II-III cutanée des orteils. Il a également été rapporté plus rarement des cas de pieds bots, de polydactylie post-axiale ou encore d'agénésie de la phalange distale de l'hallux<sup>3-5,7,119,120</sup>.



**Figure 12: Photographies des anomalies des extrémités avec pouces et hallux larges.**

A : aspect caractéristique des mains courtes et larges avec des pouces larges et des dernières phalanges spatulées des autres doigts ; B : déviation radiale des pouces, caractéristique inconstante mais très évocatrice ; C : les hallux très élargis sont un signe quasi-constant ; D : la duplication de l'hallux est retrouvée dans environ 11% des cas.



**Figure 13: Radiographies typiques des extrémités.**

A : élargissement de la dernière phalange du pouce avec déviation radiale; B : dernière phalange de l'hallux élargie avec déviation en varus.

## **G. Malformations squelettiques**

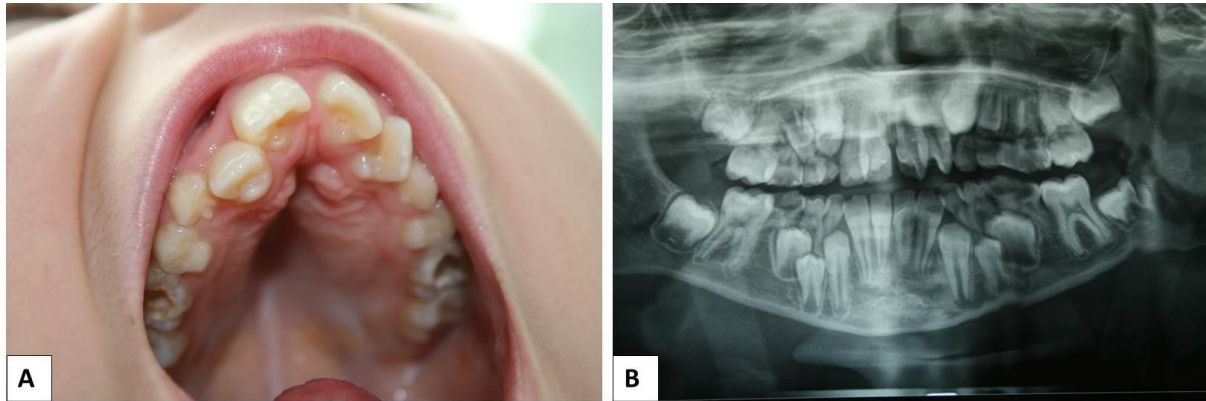
Le retard de croissance associé à un retard d'âge osseux est classique (74%). Une fontanelle antérieure large ou un retard de fermeture peuvent se voir. De nombreuses anomalies squelettiques ont été rapportées comme un *pectus excavatum*, des agénésies costales, des anomalies vertébrales cervicales (instabilité C1-C2, fusion des vertèbres cervicales)<sup>121</sup> ou un spina bifida. Les enfants avec SRT peuvent présenter des scolioses, lordoses ou cyphoses congénitales ou acquises<sup>3,5,7</sup>. C'est pourquoi le clinicien doit rester vigilant quant au développement d'une scoliose lors de l'évaluation clinique annuelle. L'évaluation articulaire est également primordiale car il est fréquemment décrit une hypotonie et une hyperlaxité ligamentaire et articulaire, pouvant entraîner une dislocation de la tête du radius (2%) ou de la rotule (3.4%), une luxation congénitale de hanche (1.4%) ou une épiphysiolyse fémorale (0.6%)<sup>3,5,122,123</sup>. Par ailleurs les enfants avec SRT semblent présenter un risque de fractures plus élevé qu'en population générale<sup>3,5</sup>.

## **H. Aspect oro-dentaire et ORL**

Les malformations orales non dentaires sont peu fréquentes dans le syndrome de Rubinstein-Taybi. Dans les données de la littérature on retrouve rarement des luettes bifides, des palatoschisis, des langues bifides, des macroglossies, une lèvre supérieure fine. Seul le palais haut ou ogival est retrouvé dans environ 90% des cas selon les études<sup>124</sup>.

En revanche les anomalies dentaires sont plus rapportées affectant 67% des enfants avec SRT<sup>5</sup>. Il existe un taux important de caries chez ces patients (15-36%). On ne retrouve pas de retard d'éruption mais il est décrit des hypodonties (30%), des dents surnuméraires (15%) et la persistance de dents lactéales. L'anomalie la plus fréquemment retrouvée est la présence de cuspides surnuméraires en talons (Figure 14). Cela réfère à une anomalie de développement dentaire consistant en une saillie accessoire de la zone cingulaire des dents antérieures supérieures ou inférieures, principalement canines et incisives supérieures définitives. Cette anomalie a déjà été rapportée avec *dens invaginatus* ou dans le syndrome d'Ellis-Van Crefeld mais est présente dans 50 à 70% des cas SRT contre environ 2,5% dans la population générale représentant un outil diagnostique pour le clinicien<sup>125</sup>.

Par ailleurs, un examen ORL avec audiogramme doit être réalisé précocement car une hypoacousie de transmission et/ou de perception peut survenir dans environ 24% des cas<sup>7</sup>. Des otites moyennes aiguës récurrentes surviennent dans 50% des cas et sont plus sévères (avec risque de perforation) qu'en population générale<sup>7</sup>.



**Figure 14: Aspect oro-dentaires dans le SRT.**

A : palais ogival avec présence de cuspides surnuméraires en talon au niveau des quatre incisives supérieures. On peut également noter les caries des prémolaires 15 et 25 ; B : panoramique dentaire avec visualisation de dents surnuméraires et persistance de dents lactéales.

### ***I. Anomalies oculaires***

Le risque de survenue de glaucome chez les patients SRT impose une évaluation ophtalmologique précoce dans la période néonatale avec une surveillance annuelle par la suite ou plus fréquente selon les anomalies. De nombreuses anomalies pouvant mimer un glaucome ont été rapportées incluant des lésions cornéennes, une mégalocornée, un colobome ou un kyste du nerf optique, une excavation papillaire et une augmentation du rapport *cup-disc*<sup>126</sup>. Les atteintes oculaires qui peuvent altérer la vision (retrouvées dans 80% des cas) sont très diverses dont les plus décrites sont le strabisme et le risque d'amblyopie associé (60-71%) et les anomalies de réfraction (41-56%). Les autres anomalies retrouvées sont le ptosis (29-32%), les colobomes uni ou bilatéraux, iriens, rétiniens ou du nerf optique (9-11%), le syndrome de Duane (8%) et la cataracte<sup>127</sup>. Les enfants avec un SRT présentent une plus grande fréquence d'obstruction des canaux lacrymaux (38-47%) pour laquelle l'intervention chirurgicale peut s'avérer nécessaire<sup>14</sup>.

## ***J. Système uro-génital***

La grande majorité des garçons avec SRT vont présenter une cryptorchidie (78-100%)<sup>5,7</sup>. Environ 52% des patients développent des anomalies rénales ou du tractus urinaire. Cela se manifeste par une agénésie rénale, une duplication rénale ou pyélique, un syndrome néphrotique, une hydronéphrose ou encore un reflux vésico-urétéral<sup>5,7,128,129</sup>. Des infections urinaires à répétition sont retrouvées dans 20 à 25% des cas. Plus rarement, des cas avec verge coudée ou hypospade ont été rapportés<sup>3,5</sup>.

## ***K. Appareil digestif et nutrition***

Les problèmes d'alimentation (71-80%) ainsi que le reflux gastro-œsophagien (RGO) et la constipation (40-74%) sont fréquents chez le jeune enfant atteint de SRT<sup>3,7,130</sup>. Plus rarement des cas de mégacolon/maladie de Hirschsprung ont été rapportés<sup>109,131</sup>.

Ces difficultés d'alimentation doivent être prises en charge précocement, à la fois par le traitement du reflux gastro-œsophagien et par la prise en charge de la coordination oro-motrice (difficultés de succion 35% et de déglutition 34%)<sup>132</sup>. L'hypotonie et son retentissement sur l'alimentation peuvent aussi conduire à un apport insuffisant en calories.

## ***L. Anomalies cardiaques***

Une évaluation cardiologique précoce avec échocardiographie trans-thoracique et électrocardiogramme est indispensable puisque l'on estime, selon les études, que 24 à 38% des patients atteints de SRT présentent des anomalies cardiaques<sup>3,5,7,133</sup>. Ces malformations cardiaques congénitales sont diverses allant de la malformation simple (communication interauriculaire ou interventriculaire, persistance du canal artériel, coarctation de l'aorte, bicuspidie aortique et sténose pulmonaire) associée ou non à des anomalies de conduction jusqu'à des malformations complexes avec entre autres *pseudotruncus*, hypoplasie du cœur gauche, dextrocardie ou ventricule unique.

Il est à noter que l'incidence d'autres malformations d'organes congénitales n'est pas plus élevée chez les patients présentant des malformations cardiaques congénitales comparée à celle des patients indemne de pathologie cardiaque<sup>133</sup>.

## ***M. Appareil respiratoire***

Les enfants atteints de SRT peuvent présenter un syndrome d'apnée obstructive du sommeil<sup>120,134</sup> en raison de l'hypotonie, de l'anatomie de l'oropharynx et des voies respiratoires (petites voies nasales, glossoptose, micro-rétrognathie, hypertrophie des amygdales et des végétations adénoïdes)<sup>116</sup> et l'obésité. Sans pouvoir directement extrapoler au syndrome de Rubinstein-Taybi, il est admis que les enfants ayant des anomalies crânio-faciales ont des résultats anormaux de polysomnographie nocturne dans 20 à 30% des cas contre 1 à 3% dans la population générale. C'est pourquoi les enfants atteints de SRT présentant des ronflements, des pauses respiratoires, des sueurs nocturnes, des positions de sommeil anormales (dormir debout) et / ou un sommeil agité doivent bénéficier d'une polysomnographie nocturne<sup>134</sup>.

Ces enfants souffrent fréquemment d'infections des voies respiratoires hautes à répétition, de multiples épisodes de pneumonie, wheezing ou stridor<sup>3,5</sup>.

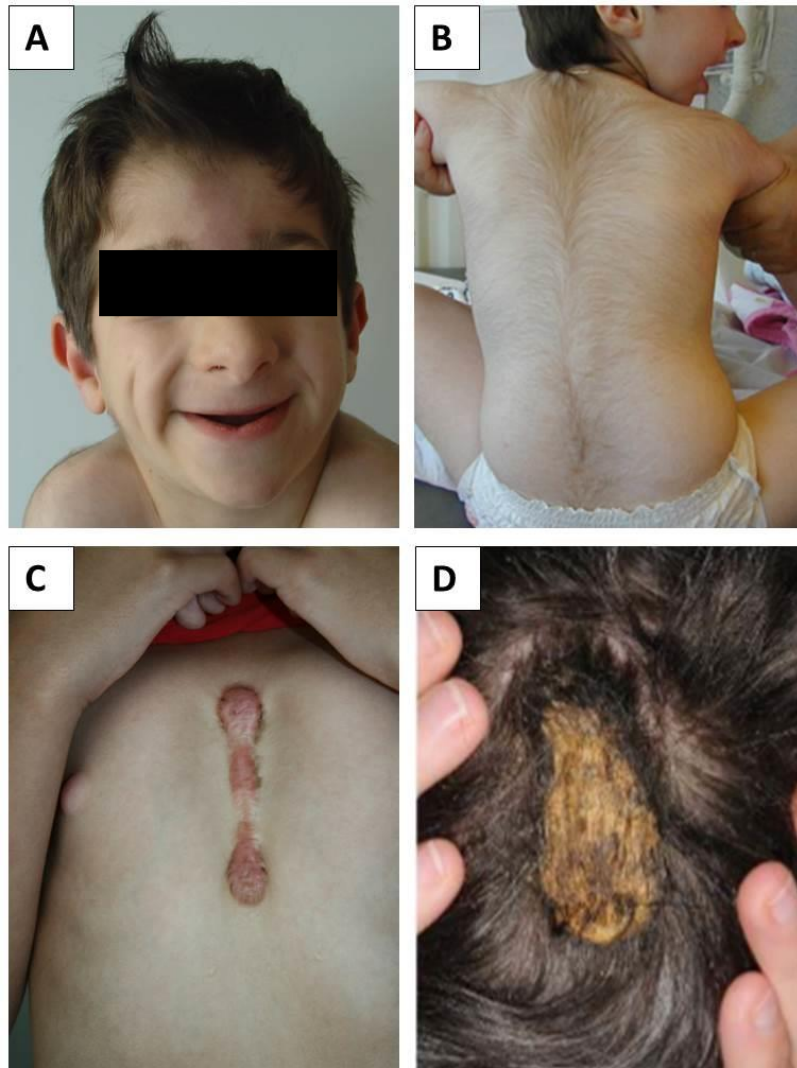
## ***N. Atteinte cutanée***

Des cicatrices chéloïdes ou hypertrophiques ont été décrites dans environ 24% des cas. Les chéloïdes sont principalement situées sur la partie haute du thorax et des bras et se manifestent à l'adolescence ou à l'âge adulte. Elles résultent d'une réponse cicatricielle excessive à un traumatisme pouvant être aussi superficiel que le frottement des vêtements. Il n'existe pas à l'heure actuelle de traitement permettant de traiter efficacement ces chéloïdes<sup>135</sup>.

Dans les signes cutanés classiquement décrits qui peuvent orienter le diagnostic, on peut retrouver des mamelons surnuméraires dans 15% des cas, des ongles incarnés ou paronychies et également une hypertrichose (75%) ou un hémangiome glabellaire (60%) évocateur dans les premières semaines de vie<sup>128,136</sup> (Figure 15).

Le clinicien doit rester vigilant sur la présence de pilomatricome qui est une tumeur cutanée annexielle bénigne rare, développée à partir des cellules de la matrice pilaire. Le pilomatricome survient entre 2 et 15 ans ou entre 45 et 65 ans et est généralement situé au niveau de la tête et de la nuque, moins fréquemment au niveau du tronc ou des membres. La particularité dans le SRT est la survenue de multiples pilomatricomes. La guérison sans récurrence est la règle après exérèse chirurgicale<sup>137</sup> (Figure 15).





**Figure 15: Anomalies cutanées dans le SRT.**

A : l'hémangiome glabellaire, classiquement présent dans les premières semaines de vie, peut persister durant l'enfance ; B : hypertrichose ; C : formation d'une cicatrice chéloïde post-sternotomie pour chirurgie cardiaque ; D : tumeur du scalp montrant un pilomatricome typique (extrait de <sup>137</sup>).

### ***O. Prédilection tumorale***

Les individus présentant un syndrome de Rubinstein-Taybi ont un risque accru de tumeurs bénignes et malignes. Il s'agit principalement de tumeurs dérivées de la crête neurale (neuroblastome, medulloblastome, oligodendrogliome, méningiome, phéochromocytome, rhabdomyosarcome, leiomyosarcome, seminome, odontome, choristome et pilomatricome). Des cas de leucémies et de lymphomes non-hodgkiniens ont déjà été rapportés<sup>98,113</sup>. L'incidence de survenue de tumeurs malignes chez les patients SRT est estimée entre 3 et 10%<sup>129</sup>.



### III. Génotypage

Le syndrome de Rubinstein-Taybi se transmet selon un mode autosomique dominant. Cependant la survenue est sporadique dans l'extrême majorité des cas (~99%) et par mutation *de novo* dans la famille.

Dans la plupart des familles, le cas index est le seul membre présentant la maladie. Cependant, des cas de parents présentant une atteinte modérée par mosaïcisme somatique ont été rapportés<sup>2,138</sup> jusqu'à d'authentiques formes familiales transmises par l'un des parents atteints<sup>2,139-142</sup>, confirmant l'expressivité variable du syndrome.

#### A. *Rappel historique*

Historiquement la localisation du premier gène impliqué dans le SRT en 16p13.3 a été mise en évidence par Imaizumi *et al.* en 1991<sup>143,144</sup> puis confirmée en 1992 par les travaux de Lacombe *et al.*<sup>145</sup> et Tommerup *et al.*<sup>146</sup>. Ensuite, en 1995, Petrij *et al.*<sup>8</sup> identifient ce gène, il s'agit de *CREBBP* qui code la *cAMP response element-binding protein (CREB) binding protein*. Initialement, cette protéine reçut ce nom car elle était décrite comme un partenaire du facteur de transcription CREB<sup>44</sup>. Dix ans plus tard, des mutations ont été identifiées dans un gène paralogue de *CREBBP*, *EP300* comme étant une cause alternative du SRT<sup>9</sup>. *EP300* code pour la protéine p300 qui a été initialement décrite comme un facteur interagissant avec la protéine EA1 de l'adénovirus type 5<sup>147,148</sup>.

Comme nous l'avons vu ces deux gènes sont des co-activateurs transcriptionnels impliqués dans les mécanismes épigénétiques et plus particulièrement dans l'acétylation des histones.

#### B. *Premières hypothèses de transmission*

Depuis la définition clinique du syndrome en 1963<sup>4</sup> et jusqu'à l'identification du premier gène causal en 1995<sup>8</sup>, de nombreuses hypothèses ont été formulées pour tenter de connaître le risque de récurrence et le mode de transmission de la maladie. Ce type d'étude était rendu difficile par la faible prévalence du syndrome estimée aujourd'hui à 1/125000<sup>6</sup>.

En 1990, Hennekam *et al.* ont recensé les données épidémiologiques de 45 patients des Pays-Bas et 50 patients des Etats-Unis en comparant les données avec les 407 patients précédemment décrits<sup>149</sup>.

Ces 502 patients avaient un total de 708 apparentés au premier degré avec un seul cas de récurrence. Par ailleurs, au sein de familles avec un enfant atteint de SRT, on ne mettait pas en évidence de taux plus élevé de fausse-couche spontanée, dans l'hypothèse d'une récessivité avec mortalité fœtale importante. Ces données éliminaient donc l'éventualité d'une transmission autosomique récessive.

La transmission liée à l'X apparaissait également improbable devant un sexe ratio équilibré et l'absence de différence clinique entre les deux sexes.

L'hypothèse d'une transmission autosomique dominante, de survenue sporadique dans la majorité des cas, apparaissait donc la plus probable soit par microdélétion (ou duplication chromosomique) soit par mutation ponctuelle. Cette notion a été renforcée par la description d'un cas de Rubinstein-Taybi chez une mère et son fils<sup>139</sup>.

### **C. Première assignation à un locus**

En 1991, l'étude chromosomique par caryotype systématique des patients atteints de SRT a permis de mettre en évidence une translocation réciproque *de novo*, t(2;16)(p13.3;13.3) suggérant que le gène du SRT était localisé en 2p13.3 ou en 16p13.3<sup>143</sup>. Ce point de cassure sur le chromosome 16 se trouve sur la même bande 13.3 que celle observée l'année suivante sur une translocation t(7; 16)(q34; p13.3)<sup>146</sup>. La localisation en 16p13.3 du gène impliqué dans le syndrome, a été confirmée en 1992 par Lacombe *et al.* par la mise en évidence sur un caryotype d'une inversion péricentrique du chromosome 16, inv(16)(p13.3;q13)<sup>23</sup>.

En 1993, par la technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), une délétion du cosmide RT1, présent sur la bande 16p13.3, a été observée sur l'un des deux chromosomes 16 chez six patients atteints de SRT, indiquant que le syndrome était probablement dû à des microdélétions en 16p13.3<sup>139</sup>.

### **D. Identification des gènes CREBBP et EP300**

En 1995, grâce à de nouvelles études, les points de cassure ont été localisés dans la région du gène *CREBBP* (*CREB binding protein*) montrant que le SRT résulte non seulement de

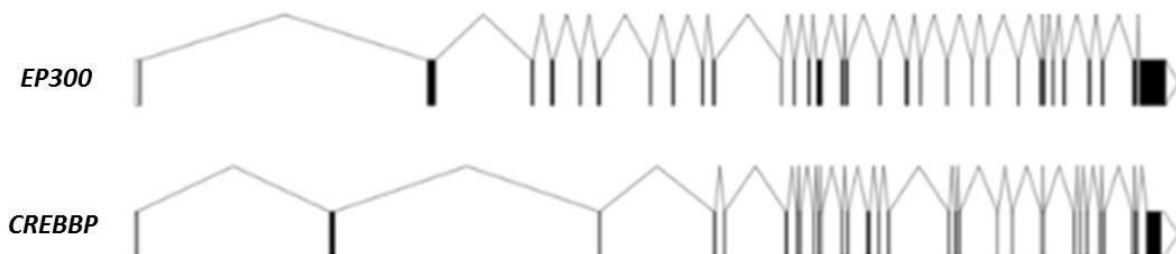
réarrangements chromosomiques de la région 16p13.3 mais également de mutations ponctuelles dans ce gène<sup>8,150</sup>.

En 2005, l'implication d'un second gène dans le syndrome a été mise en évidence<sup>9</sup>. Il s'agit du gène *EP300* (*E1A binding Protein p300*).

## 1. Structure des gènes *CREBBP* et *EP300*

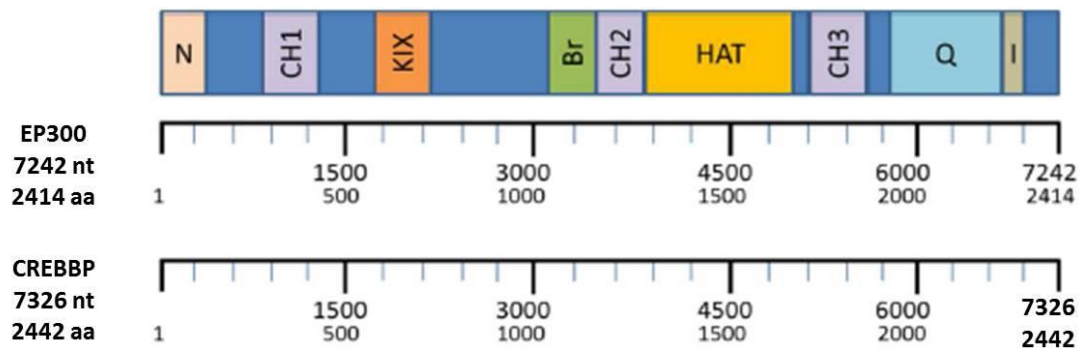
Le gène *CREBBP* est situé sur le bras court du chromosome 16 au locus 16p13.3 et s'étend sur environ 155 kilobases (kb). Il est composé de 31 exons et code pour un transcrit de 7,3 kb. Le gène *CREBBP* code pour la protéine CBP composée de 2442 acides aminés (AA) et présente une masse moléculaire d'environ 265 kDa<sup>49</sup> (Figures 16 et 17).

Le gène *EP300* est localisé sur le bras long du chromosome 22 au locus 22q13.2 et s'étend sur environ 87 kb. Il est composé, comme *CREBBP*, de 31 exons. Le gène *EP300* code pour une protéine composée de 2414 AA et présente une masse moléculaire d'environ 265 kDa<sup>16,17</sup> (Figures 16 et 17).



**Figure 16: Structure des gènes *EP300* et *CREBBP*.**

Représentation schématique des 31 exons et des jonctions introns-exons des deux gènes. Extrait de <sup>50</sup>.



**Figure 17 : Représentation schématique des protéines CPB/p300 et de leurs domaines fonctionnels.**

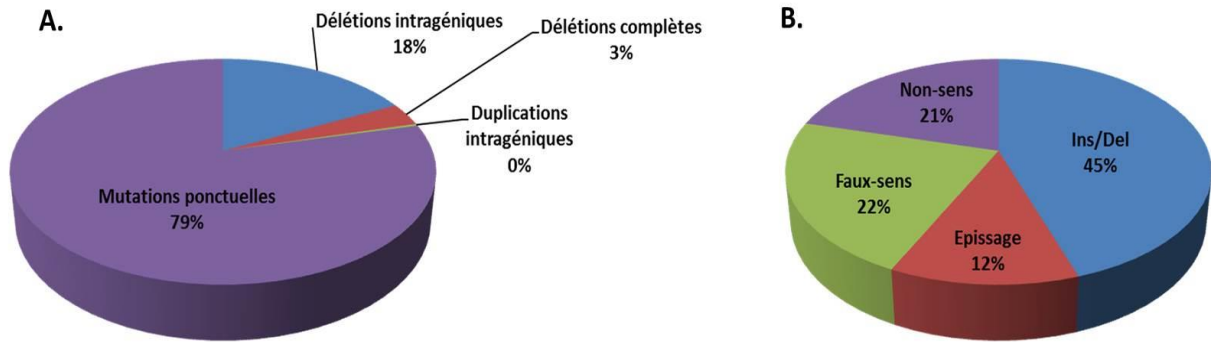
N : domaine d'interaction aux récepteurs nucléaires (*NRID* ou *RID*) ; CH1 : domaine de transactivation en partie N-terminale (*TAZI*) ; KIX : domaine d'interaction avec CREB ; Br : bromodomaine ; CH2 : homéodomaine (*PHD*) ; HAT : domaine lysine acetyltransférase ; CH3 : domaine d'interaction avec l'oncoprotéine EA1 (*ZZ* et *TAZ*) ; Q : domaine de transactivation riche en glutamine ; I : domaine de liaison à IRF-3. D'après <sup>151</sup>.

## 2. Spectre mutationnel de *CREBBP*

Les analyses mutationnelles réalisées dans plusieurs centres à travers le monde évaluent la fréquence des anomalies dans le gène *CREBBP* responsables du SRT à environ 55% des cas<sup>2,8-15</sup>. En l'état actuel des connaissances, 335 anomalies dans ce gène ont été référencées comme étant responsables du syndrome de Rubinstein-Taybi (dont 45 non publiées)<sup>152,153</sup> (Tableaux S1 et S2).

Le spectre mutationnel comprend 79% de mutations ponctuelles dont 52% de mutations tronquantes (55 mutations ponctuelles non-sens et 119 mutations avec décalage du cadre de lecture), 9.5% de mutations d'épissage (n= 32) et 17.5% de mutations ponctuelles faux-sens (n= 59) pour 21% de réarrangements de grande taille (59 délétions intragéniques et 11 délétions emportant tout le gène *CREBBP*)<sup>152,153</sup>.

Une duplication intragénique de l'exon 1 du gène *CREBBP* a également été mise en évidence ainsi que trois réarrangements complexes<sup>9</sup> (Figure 18).



**Figure 18 : Représentation schématique du spectre mutationnel de *CREBBP* chez les patients avec SRT.**

A. Diagramme des catégories de l'ensemble des mutations rapportées incluant 265 mutations ponctuelles, 59 délétions intragéniques, 11 délétions complètes et 1 duplication intragénique.

B. Diagramme des mutations ponctuelles détectées incluant 119 mutations avec décalage du cadre de lecture (Ins/Del), 59 mutations faux-sens, 55 mutations non-sens et 32 mutations d'épissage.

Il n'existe pas de réels « points chauds » de mutations dans le gène *CREBBP* avec un spectre mutationnel réparti tout le long des 31 exons. Cependant quelques mutations récurrentes ont été décrites et l'on constate qu'environ 70% des mutations faux-sens rapportées sont situées dans le domaine KAT.

Une exception à cela est la présence d'une région instable du gène *CREBBP* située entre les introns 1 et 2, caractérisée par une fréquence élevée de séquences répétées ou palindromiques aboutissant à des réarrangements récurrents dans cette région<sup>10,15,131,142,154-156</sup>.

La présence de ces mutations ou micro-réarrangements à l'état hétérozygote chez les patients atteints de SRT suggère donc un mécanisme d'haplo-insuffisance. Dès lors, la perte de l'une des copies fonctionnelles du gène *CREBBP* va aboutir aux anomalies développementales observées dans le syndrome.

### 3. Spectre mutationnel d'*EP300*

Pendant une dizaine d'années, peu de patients atteints de SRT avec mutation dans le gène *EP300* ont été rapportés dans la littérature<sup>2,9,16-20,157-160</sup>. En 2016, Negri *et al.* ont recensé l'ensemble des mutations décrites dans la littérature ainsi que dans la base de données LOVD et ont décrit 6 nouvelles mutations<sup>159</sup>. La description la même année, par Wincent *et al.*, d'une nouvelle mutation avec décalage du cadre de lecture dans le gène *EP300* porte à 35 le nombre d'altérations connues actuellement dans ce gène, soit une prévalence estimée à environ 8%<sup>120</sup>.

Le spectre mutationnel comprend 80% de mutations ponctuelles dont 71.5% de mutations tronquantes (9 mutations ponctuelles non-sens et 16 mutations avec décalage du cadre de lecture) et 8.5% de mutations d'épissage (n= 3) pour 20% de délétions (6 délétions intragéniques et 1 délétion emportant tout le gène *EP300*)<sup>152,153</sup> (Tableau S3).

Ces résultats sont donc superposables aux données mutationnelles observées chez les patients mutés dans *CREBBP*. En revanche, aucune mutation ponctuelle faux-sens *de novo* du gène *EP300* n'a actuellement été rapportée chez un patient présentant un phénotype Rubinstein-Taybi. Trois patients atteints de SRT ont été rapportés dans la littérature avec une mutation ponctuelle faux-sens du gène *EP300*. Cependant, chacune de ces mutations était héritée d'un parent sain ne permettant pas de considérer ces variants comme pathogènes<sup>20,120,161</sup>.

Toutes les mutations pathogènes rapportées étaient *de novo*, à l'état hétérozygote et privées. La seule exception est la mutation ponctuelle c.4933C> T dans l'exon 30

produisant un codon stop prématuré (p.Arg1645\*) qui est partagée par deux patients différents d'origine espagnole et allemande<sup>153,162</sup>.

En revanche il est établi dans les bases de données qu'il existe de nombreux polymorphismes dans le gène *EP300* avec des variants retrouvés fréquemment en population générale, contrairement à ceux qui est observé dans *CREBBP*, rendant l'interprétation des variants plus délicate dans l'implication de la pathologie.

La nature de ces altérations confirme également pour le gène *EP300*, l'haplo-insuffisance comme mécanisme pathogénique aboutissant à une perte de fonction.

## **IV. Tentatives de corrélation phénotype/génotype**

### ***A. Comparaison des patients atteints de SRT avec et sans mutation identifiée***

En 2002, Coupry *et al.* ont rapporté la première étude tentant d'établir une corrélation phénotype/génotype dans le syndrome de Rubinstein-Taybi. Soixante patients (36 femmes et 27 hommes) présentant un diagnostic clinique de Rubinstein-Taybi sont décrits. Des mutations dans le gène *CREBBP* ont été retrouvées chez 27 patients soit 47,6% des cas dont 22 mutations ponctuelles (13 mutations non-sens, 4 mutations faux-sens et 5 mutations d'épissage) et 5 délétions (4 délétions intragéniques et 1 délétion complète du gène).

Les phénotypes des patients ne présentant pas de mutation et ceux présentant des mutations avec un effet pathogène probable (exclusion des mutations faux-sens) ont été comparés en fonction de la dysmorphie faciale, des anomalies des extrémités, des paramètres de croissance et également du degré de retard psychomoteur ou de déficience intellectuelle. Aucune différence significative n'a pu être observée entre les deux groupes<sup>12</sup>.

Ces résultats sont cependant à pondérer car la découverte ultérieure de l'implication du gène *EP300* dans le SRT ainsi que l'émergence de nouvelles techniques comme la CGH (*Comparative Genomic Hybridization*)-Array ou le séquençage de nouvelle génération

permettraient une meilleure détection des patients non mutés et pourraient en partie expliquer l'absence de différence significative.

En 2006, Bentivegna *et al.* ont décrit la cohorte italienne de patients atteints de SRT. Trente et un patients sont alors rapportés dont 19 (61.3%) présentaient une mutation dans le gène *CREBBP*, comprenant 5 délétions (3 délétions intragéniques et 2 délétions complètes du gène), 10 mutations tronquantes (5 non-sens et 5 décalages du cadre de lecture), une mutation d'épissage et 3 mutations faux-sens. Une nouvelle fois, la comparaison des phénotypes entre les patients mutés dans *CREBBP* et les patients non mutés n'a pas montré de différence significative. Les patients non mutés ne présentaient pas un phénotype de SRT plus modéré mais volontiers superposable aux patients identifiés sur le plan moléculaire<sup>163</sup>.

Schorry *et al.* ont rapporté en 2008 ce qui est encore aujourd'hui la plus importante étude de corrélation phénotype/génotype dans le SRT. Sur les 93 patients étudiés, présentant un diagnostic clinique, 52 présentaient des mutations dans le gène *CREBBP* affectant la production de la protéine (56%) regroupant 10 mutations faux-sens, 36 mutations tronquantes ou affectant l'épissage et 6 microdélétions.

De la même façon la comparaison des groupes avec et sans mutation identifiée n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative sur les aspects phénotypiques, le niveau de développement psychomoteur ou intellectuel, la prévalence de malformations d'organes ou encore sur la prédisposition tumorale.

Cependant, bien que non significatif, le degré de retard de croissance post-natal était plus sévère chez les patients sans mutation *CREBBP* identifiée. Une des hypothèses pourrait être la présence de patients mutés dans *EP300* dans le groupe sans mutation *CREBBP*. En effet, il a été observé un taux plus important de retard de croissance intra-utérin (RCIU), impactant sur les paramètres postnataux, chez les patients atteints de SRT avec mutation identifiée dans le gène *EP300*. Nous l'aborderons plus en détail dans la section suivante.

Enfin, la seule différence retrouvée de manière significative était la plus grande survenue de convulsions chez les patients mutés dans *CREBBP* (15/52 soit 29% contre 6/41 soit 15% chez les patients non mutés).



## ***B. Comparaison des phénotypes entre les patients avec mutation CREBBP et avec mutation EP300***

La première description phénotypique de patients atteints de SRT mutés dans le gène *EP300* a été rapportée en 2005 par Roelfselma *et al.* où les trois premiers patients sont décrits. La dysmorphie faciale était compatible avec un SRT avec des sourcils arqués, des cils longs, une racine du nez large avec une columelle saillante mais dans une présentation plus modérée que les patients mutés dans *CREBBP* avec notamment des fentes palpébrales plus horizontalisées et l'absence du facies caractéristique au sourire<sup>9</sup>.

Par la suite, l'ensemble des évaluations cliniques détaillées des patients atteints de SRT mutés dans le gène *EP300* a confirmé la présentation phénotypique plus modérée en comparaison des patients mutés dans *CREBBP*. Les aspects faciaux typiques du SRT étaient généralement retrouvés, en revanche le phénotype squelettique était plus modéré avec des pouces et hallux moins larges voire parfois normaux. Il était d'ailleurs notable qu'aucun des patients mutés dans *EP300* ne présentait de déviation radiale du pouce, qui est classiquement un signe très évocateur de SRT, ou bien de duplication du pouce ou de l'hallux.

Par ailleurs, le degré de déficience intellectuelle est également plus modéré allant de l'absence de déficience intellectuelle chez les patients jusqu'à une déficience modérée sans cas rapporté de retard sévère.

Des particularités phénotypiques ont également été décrites, en comparaison des patients mutés dans *CREBBP*. Ainsi des problèmes gestationnels à type de pré-éclampsie ou HTA gravidique, ont été décrits dans 45% des cas. Des RCIU sont également plus fréquemment rapportés avec des paramètres de croissance postnataux inférieurs à la moyenne en comparaison des enfants sains ou mutés dans *CREBBP*.

Les malformations d'organes apparaissent rares et isolées, avec une part importante de malformations oculaires et dentaires, alors que le système nerveux central, l'appareil cardiovasculaire et l'appareil génito-urinaire sont moins altérés.

A la lumière de cette hétérogénéité génétique et phénotypique, la base de données OMIM a d'ailleurs créé deux entrées distinctes pour les deux formes du syndrome. Les cas de SRT associés à des mutations *CREBBP* sont référencés comme RSTS1 (MIM #180849), et les cas liés à des mutations *EP300* sont référencés comme RSTS2 (MIM #613684).

La prévalence de patients SRT avec mutation *EP300* identifiée est donc probablement sous-estimée en raison de la présentation clinique plus atypique. Les patients sont alors probablement sous diagnostiqués en raison de l'absence possible de critères diagnostiques typiques, comme les pouces et hallux larges<sup>17</sup>, mais également parfois en raison d'une présentation clinique plus sévère évoquant d'autres syndromes polymalformatifs<sup>157,162</sup>. La mise en évidence récente d'une mutation tronquante dans *EP300*, découverte par séquençage complet de l'exome, chez un patient initialement référencé pour un syndrome de Cornelia de Lange en est l'illustration<sup>157</sup>.

Par ailleurs, chez les patients atteints de SRT, les mutations de *CREBBP* sont plus fréquentes que celles dans *EP300*, mais dans la population générale, les polymorphismes d'*EP300* sont plus communs que dans *CREBBP*<sup>16</sup>.

### ***C. Corrélations phénotype-génotype selon le domaine protéique atteint***

#### **1. Domaine KAT**

Le spectre mutationnel de *CREBBP* et *EP300* est reparti tout le long des 31 exons. Cependant Shorry *et al.* ont rapporté que presque la totalité des mutations tronquantes dans *CREBBP* résultaient en une terminaison de la protéine avant ou dans le domaine KAT (localisé entre les exons 19 à 30), suggérant un rôle important de ce domaine chez les patients atteints de SRT<sup>164</sup>.

Par ailleurs, dans les données de la littérature, la grande majorité des mutations faux-sens rapportées dans *CREBBP* sont localisées dans le domaine KAT de la protéine. En effet, sur les 54 mutations faux-sens rapportées dans la base HGMD, 38 d'entre elles (70%) sont situées dans le domaine KAT<sup>152</sup> (Tableau S1). En 2003, des études fonctionnelles sur des variants faux-sens de *CREBBP*, localisés dans le domaine KAT, avaient montré leur impact au niveau de l'activité KAT de la protéine CBP et leur retentissement sur le phénotype<sup>11</sup>.

En raison de la présentation clinique, morphologique et cognitive, plus modérée des patients porteurs de variants faux-sens en dehors de ce domaine, Spina *et al.* ont suggéré un impact spécifique du domaine KAT sur le phénotype dysmorphique et malformatif des patients<sup>165</sup>.

## 2. Autres domaines

En 2015, Spina *et al* ont rapporté un patient porteur d'une mutation faux-sens dans le domaine KIX de CBP (c.1949A>T / p.Tyr650Phe). Le patient présentait un phénotype facial très modéré ; à l'inverse, le profil neuropsychiatrique était très marqué avec des caractéristiques comportementales sévères, à savoir une hyperactivité, un déficit de l'attention, une auto et une hétéro agressivité et des troubles du spectre de l'autisme, peu fréquents dans le SRT<sup>165</sup>.

Il suggérait alors un rôle spécifique du domaine KIX dans le phénotype comportemental des patients avec SRT. Cependant, le nombre limité de descriptions cliniques de patients porteurs de mutations faux-sens en dehors du domaine KAT ne permet pas d'établir de corrélation phénotype/génotype évidente.

### ***D. Impact des grands réarrangements sur le phénotype***

Environ 10% des cas de patients avec SRT sont dus à des délétions au locus 16p13.3 du gène *CREBBP*. Ces réarrangements présentent une grande variation de taille et de position génomique et consistent en une délétion complète du gène *CREBBP* et de ses régions flanquantes ou seulement d'une portion intragénique. Moins fréquemment des grands réarrangements comme des translocations ou des inversions ont déjà été rapportés.

En 2006, Bartsch *et al.* ont rapporté que de larges délétions de *CREBBP* contribuaient à des phénotypes plus sévères que ceux causés par des mutations ponctuelles avec un taux plus important d'infections sévères et de décès précoce. Ils suggéraient alors un rôle pathogénique concurrent des gènes de voisinage et proposaient de référencer ce nouveau syndrome des gènes contigus comme le syndrome « microdélétionnel 16p13.3 » ou « SRT sévère »<sup>166</sup>.

Cependant l'année suivante, les six nouveaux patients avec une délétion au locus 16p13.3 rapportés par Stef *et al.* ne venaient pas corroborer l'hypothèse de Bartsch *et al.* En effet ils ne mettaient pas en évidence de différence phénotypique entre les patients présentant de petites ou de larges délétions et montraient que les anomalies de dosage de *CREBBP* étaient responsables d'un phénotype classique de SRT<sup>167</sup>.

En 2015, Rusconi *et al.* ont repris les données de l'ensemble de la cohorte italienne précédemment décrite<sup>155,163,165</sup> et ont rapporté 14 nouvelles délétions (emportant le gène complet ou intragéniques). De la même façon, leur cohorte ne présentait pas de différence phénotypique majeure entre les patients avec petite ou large délétion, avec ou sans délétion d'autres gènes que *CREBBP* et que ce soit en terme de degré de déficience intellectuelle, de retard de croissance ou de malformations d'organe<sup>156</sup>.

La sévérité du phénotype n'est donc pas corrélée à la taille ou aux gènes emportés dans la délétion. Les phénotypes des patients présentant une large délétion sont souvent indiscernables des patients porteurs d'une mutation ponctuelle.

Concernant les délétions du gène *EP300*, les corrélations sont plus difficiles à établir en raison du faible nombre de cas décrits. En l'état actuelle des connaissances une seule délétion complète du gène *EP300* a été rapportée<sup>159</sup>. Negri *et al.* suggéraient alors que cette délétion d'*EP300* et des gènes de voisinage n'était pas associé à un syndrome des gènes contigus avec un phénotype plus sévère mais notaient que les malformations d'organes et les complications médicales étaient plus importantes que dans les autres cas décrits.

## **V. Prise en charge et pistes thérapeutiques**

### **A. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS)**

Dans le but d'assurer une prise en charge diagnostique et thérapeutique optimales et de proposer le parcours de soins le plus adapté aux patients atteints du syndrome de Rubinstein-Taybi, notre centre de référence "Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs" du CHU de Bordeaux a donc rédigé un PNDS auprès de la Haute Autorité de Santé (HAS) en collaboration avec l'ensemble des centres de référence nationaux<sup>168</sup>.

La prise en charge globale du patient repose sur une coopération pluridisciplinaire, entre le généticien (coordonnateur), le médecin traitant, des médecins de plusieurs disciplines selon les malformations associées, le centre de prise en charge et les paramédicaux intervenants dans cette prise en charge (psychologue, orthophoniste...). Les patients atteints de SRT sont généralement pris en charge par des centres de soins adaptés à leurs difficultés globales (Centre d'Action Médico-Sociale Précoce (CAMPS), Service d'Education Spéciale et de Soins à Domicile (SESSAD)...).

## **1. Prise en charge diagnostique**

Le diagnostic de SRT est avant tout clinique et repose sur la mise en évidence des critères cliniques détaillés dans la section II. Le diagnostic est confirmé par la biologie moléculaire par analyse moléculaire des gènes *CREBBP* et *EP300*. La méthodologie d'analyse de notre laboratoire sera détaillée dans la deuxième partie de ce travail.

## **2. Evaluation des comorbidités et de la sévérité**

Un bilan initial est effectué pour rechercher les malformations associées au syndrome afin de guider la prise en charge. Ce bilan peut être variable en fonction de l'âge de diagnostic.

Ce bilan comprend :

- Une échocardiographie avec électrocardiogramme
- Une échographie rénale
- Un examen ophtalmologique complet incluant examen à la lampe à fente et fond d'œil
- Un audiogramme
- Une consultation spécialisée en orthopédie afin de prendre en charge précocement une anomalie des pouces et/ou orteils qui pourraient entraîner une gêne fonctionnelle
- Un bilan glucidique (glycémie, HbA1c)

L'examen clinique recherchera également des signes évocateurs de :

- Reflux gastro-œsophagien : programmation d'un transit œso-gastro-duodéal (TOGD) ou d'une PH-métrie si besoin
- Cryptorchidie : programmation d'une consultation en chirurgie si besoin
- Canal médullaire étroit : programmation d'une Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) médullaire si doute
- Constipation sévère.

Selon l'âge et les données de l'examen clinique :

- Consultation avec un dentiste
- Consultation avec une diététicienne
- Evaluation en endocrinologie pour un éventuel traitement par hormone de croissance
- Bilan sanguin (recherche d'une éventuelle hémopathie)
- Bilans neuropsychologique et orthophonique
- Consultation en gynécologie pour les patientes après la puberté

### **3. Prise en charge thérapeutique**

La prise en charge des patients atteints de SRT vise à dépister et prendre en charge l'ensemble des complications médicales (cardiaque, rénale, orthopédique, endocrinienne...) et à assurer une prise en charge précoce spécialisée (psychomotricité, orthophonie, psychologue), afin de garantir la meilleure évolution de l'enfant dans son développement psychomoteur. L'intégration de la famille dans la prise en charge globale du patient est primordiale.

#### **a) Traitements pharmacologiques**

Il n'existe pas de traitement spécifique pour les complications de la maladie, la prise en charge repose sur celle utilisée en population générale :

- pour le retard de croissance : traitement hormonal à envisager avec un endocrino-pédiatre pour les mêmes indications que celles de la population générale;
- le traitement des complications ophtalmologiques : identique à celui des personnes atteintes de glaucome ou autre problème oculaire ;
- le traitement d'éventuelles convulsions : identique à celui de la population générale.
- le traitement du RGO : identique à celui de la population générale.

#### **b) Autres traitements et prestations**

- Traitements préventifs : notamment par antibioprophylaxie pour les rares cas de reflux vésico-urétéral ou par procédure chirurgicale, pour les traitements orthodontiques.
- Prise en charge chirurgicale : à la fois pour le traitement des anomalies orthopédiques (scoliose, duplication des premiers rayons), mais également pour le traitement de l'ensemble des malformations cardiaque, rénale, génitale ou encore dentaire.
- Diététique : principalement en raison de la tendance des enfants avec SRT à évoluer vers la surcharge pondérale, notamment à partir de la deuxième décennie.
- Appareillage auditif : en cas d'évolution avec hypoacousie.
- Appareillage en cas d'apnées du sommeil.
- Psychomotricité : afin de renforcer le tonus musculaire, faciliter les acquisitions motrices du jeune enfant et prendre en charge les troubles de la coordination.
- Orthophonie : débutée précocément et orientée sur le retard d'acquisition du langage, les troubles de phonation, les troubles de construction des phrases.

- Aides éducationnelles : prise en charge en milieu spécialisé en raison de troubles de l'apprentissage avec un projet pédagogique (CAMPS, SESSAD...).
- Psychologique : afin de dépister d'éventuels troubles du comportement et pour réaliser une prise en charge en fonction de la symptomatologie présentée (trouble anxieux, trouble de l'humeur, dépression, comportement obsessionnel-compulsif et manifestations psychosomatiques). Un suivi psychiatrique peut parfois s'avérer nécessaire.

#### **4. Suivi des patients**

Le suivi sera le plus souvent coordonné par le généticien. L'enfant sera également suivi de façon régulière par un pédiatre ou le médecin traitant, informés des possibles complications intercurrentes.

Le but sera de coordonner la prise en charge et de surveiller l'apparition des complications. L'aide au passage de l'enfance à l'âge adulte est également essentielle.

Le suivi est à effectuer de façon annuelle et des examens complémentaires sont à réaliser :

- Un examen ophtalmologique avec examen à la lampe à fente et fond d'œil
- Contrôle de la pression artérielle
- Un bilan dentaire

D'autres examens seront réalisés en fonction des données de l'examen clinique et de l'interrogatoire :

- EEG s'il existe des éléments évocateurs d'épilepsie
- Bilan ORL et audiogramme devant des épisodes avérés ou suspectés d'otites
- IRM médullaire en cas de signes évocateurs de canal médullaire étroit
- Polysomnographie devant des éléments évocateurs d'apnées du sommeil
- Bilan avec un diététicien si prise de poids excessive
- Bilan endocrinien dépistant les complications de l'obésité
- Bilan adapté si signes évocateurs de tumeurs (bilan sanguin, imagerie ...)

Les bilans en psychologie et orthophonie seront réalisés à une fréquence dépendant de l'âge de l'enfant et des demandes d'orientation.

La pratique d'activités physiques est recommandée dans le but de prévenir la prise de poids et de favoriser les échanges sociaux. Le choix de l'activité sera fonction des capacités physiques (cardiopathie, problèmes orthopédiques...). Par ailleurs, toute autre forme d'intégration en collectivité est importante à favoriser (crèche, milieu scolaire, centre aéré...).

## **5. Diagnostic prénatal**

Le risque de récurrence pour un couple après la naissance d'un premier enfant atteint peut être estimé à moins de 1%, il est dépendant du risque de mosaïque germinale chez un des deux parents.

Dans ce cadre et si la mutation génétique a été caractérisée au préalable, un diagnostic prénatal moléculaire à la recherche de la mutation familiale peut être réalisé à la demande du couple par amniocentèse ou choriocentèse.

Des équipes italiennes et américaines ont également mis en place des guides de bonnes pratiques clinique pour la surveillance et le suivi clinique des patients atteints de SRT de l'enfance jusqu'à l'âge adulte<sup>128,129</sup>.

## ***B. Pistes thérapeutiques***

Plusieurs essais thérapeutiques ont été tentés sur des modèles murins de SRT, basés sur un traitement pharmacologique, une manipulation génique ou encore l'amélioration de l'environnement. Ces essais ont montré une efficacité potentielle dans le traitement du déficit cognitif mais aucun essai clinique n'a actuellement été entrepris chez l'humain.

### **1. Les inhibiteurs de HDAC**

Comme détaillé précédemment, l'action des protéines KAT est antagonisée par les protéines HDAC. Par ailleurs un déficit en activité acétyltransférase peut être compensé par une inhibition des protéines HDAC. Quatre classes de protéines HDAC (I, II, III et IV) ont été définies selon leur similarité de séquence et l'organisation de leurs domaines.

Ainsi, une inhibition de l'activité des protéines HDAC a démontré un potentiel préclinique significatif dans l'amélioration de la mémoire et des déficits cognitifs dans différents modèles de maladies, y compris le SRT<sup>36,169,170</sup>.



Les inhibiteurs de HDAC appartiennent à différentes classes pharmacologiques : acides hydroxamiques (par exemple, l'acide suberoylanilide hydroxamique (SAHA) et la trichostatine A (TSA)), les benzamides (par exemple, le tiapride ou Tiapridal<sup>®</sup>) et les acides carboxyliques (par exemple, le valproate de sodium)<sup>171</sup>.

Différents inhibiteurs de HDAC, et en particulier les classes I et II, ont été impliqués pour favoriser la formation de la mémoire et stabiliser certaines tâches hippocampiques comme notamment le réflexe de peur conditionnée ou la reconnaissance de nouveaux objets<sup>69,73,172</sup>, cependant toutes les études n'ont pas reproduit ces résultats<sup>173</sup>.

Concernant plus précisément les essais thérapeutiques chez des modèles murins de SRT, des expériences chez des souris, déficientes pour la protéine CBP, ont montré que l'inhibiteur de HDAC SAHA restaurait les déficits hippocampiques de mémoire à long terme et de réflexe de peur conditionnée dans le modèle KO de souris SRT<sup>101</sup>. Des expériences similaires chez la souris transgénique CBP {HAT-} ont également révélé une amélioration des déficits de la mémoire grâce à la TSA<sup>84</sup>.

Des études plus récentes ont montré que la perte de la reconnaissance d'objets rapportée chez des souris CBP<sup>KIX/KIX</sup> peut également être restaurée par des inhibiteurs de HDAC bien que le domaine KAT ne soit pas, en principe, affecté chez ces mutants<sup>174</sup>. En revanche, l'administration de TSA n'a pas réussi à modifier l'apprentissage et la mémoire chez des souris présentant une perte complète de la fonction CBP au niveau du prosencéphale<sup>100</sup>.

L'ensemble de ces résultats indique que les inhibiteurs de HDAC représentent une option thérapeutique prometteuse pour traiter les patients atteints de SRT ou d'autres situations dans lesquelles la fonction de la protéine CBP est altérée. Cependant, des variables, telles que le temps, la dose, ou encore la voie d'administration, doivent encore être standardisées afin d'uniformiser les résultats des études menées dans différents laboratoires.

## 2. Amélioration de l'environnement et ergothérapie

L'apport de l'ergothérapie chez des patients présentant des maladies neurodéveloppementales, neuropsychiatriques ou neurodégénératives a permis de prévenir le déclin cognitif et de promouvoir l'autonomie dans tous les aspects de la vie quotidienne.

Le modèle murin représente un moyen utile pour évaluer l'efficacité de ces thérapies dans des états pathologiques spécifiques. À ce jour, de nombreuses données ont confirmé les effets bénéfiques de la stimulation sensorielle, cognitive et motrice chez différents modèles présentant des troubles neurologiques, y compris la maladie d'Alzheimer, la maladie de Huntington, le syndrome de l'X fragile ou la trisomie 21<sup>175</sup>.

Il a récemment été montré qu'un enrichissement de l'environnement améliore également les déficits cognitifs dans les modèles de souris SRT. Cet enrichissement a notamment permis une amélioration significative au niveau de l'apprentissage des habiletés motrices et de la mémoire de peur contextuelle chez la souris CBP<sup>+/-</sup>. Ces effets bénéfiques ont été associés à une augmentation de la densité synaptique dans l'hippocampe<sup>176</sup>.

Ces résultats indiquent que l'ergothérapie peut également améliorer les déficits cognitifs dans le SRT.

## DEUXIEME PARTIE: ETUDE CLINIQUE

### I. Objectifs de l'étude

Le syndrome de Rubinstein-Taybi est un syndrome rare d'anomalie du développement embryonnaire avec déficience intellectuelle. Le diagnostic est avant tout basé sur des critères cliniques bien définis. Deux gènes sont actuellement connus dans le déterminisme de ce syndrome : *CREBBP* qui représente 55% des cas et *EP300* retrouvé dans environ 8% cas. Près d'un tiers des patients ayant reçu un diagnostic clinique de SRT restent donc, à ce jour non identifiés génétiquement.

Cependant, comme nous l'avons vu, les corrélations phénotype/génotype dans ce syndrome restent difficiles à établir : d'une part devant l'expressivité variable des phénotypes, avec des signes cliniques caractéristiques pouvant être absents d'autre part devant l'hétérogénéité génétique du syndrome, puisque deux gènes sont impliqués, et un spectre mutationnel large qui se répartit sur l'ensemble des 31 exons des deux gènes.

La plus grande sévérité des phénotypes présentant de larges délétions dans *CREBBP* est actuellement discutée et seulement quatre grandes délétions d'*EP300*, dont une seule délétion complète du gène, ont été rapportées dans la littérature. Par ailleurs, la causalité des variants faux-sens dans le déterminisme du syndrome est parfois difficile à établir en fonction du domaine altéré.

Enfin, seulement 60 à 70% des diagnostics cliniques de SRT sont aujourd'hui prouvés sur le plan moléculaire. Le SRT présente donc une hétérogénéité génétique dont la cause reste indéterminée dans environ un tiers des cas. Cela s'explique également par la grande hétérogénéité clinique du syndrome avec des formes typiques et d'autres très atypiques. L'émergence des techniques de séquençage de nouvelle génération pourrait être un outil puissant pour explorer davantage l'hétérogénéité génétique de ce syndrome.

Le premier objectif de ce travail est donc de tenter d'établir une corrélation phénotype/génotype dans ce syndrome basée sur l'expérience de notre centre de référence d'anomalie du développement à travers une cohorte de plus de 250 patients diagnostiqués sur le plan moléculaire. Nous nous sommes particulièrement focalisés sur deux aspects actuellement discutés, à savoir, l'impact des grandes délétions sur le phénotype et la description des phénotypes associés à l'ensemble des variants faux-sens pathogènes identifiés dans notre cohorte.

Le second objectif de ce travail est de tenter d'améliorer la compréhension de l'étiologie du SRT par l'identification de gènes candidats grâce à l'apport des techniques de séquençage de nouvelle génération.

Pour cela nous avons sélectionné 5 patients issus de notre cohorte présentant chacun des phénotypes allant de formes typiques à des présentations plus atypiques et tous sans mutation identifiée dans *CREBBP* ou *EP300*. L'ensemble de leurs gènes a été séquençé et analysé par la technique du séquençage d'exome en trio afin de tenter de mettre en évidence d'éventuels gènes candidats.

## **II. Patients et méthodes**

### ***A. Sélection des patients et recueil des données cliniques et paracliniques***

Les patients ont été adressés par des généticiens cliniciens ou des pédiatres à notre centre de référence d'anomalies du développement d'origine embryonnaire. Chaque patient ou titulaire de l'autorité parentale a signé un consentement écrit libre et éclairé, conformément aux lois françaises relatives à la prescription et réalisation d'exams des caractéristiques génétiques d'une personne (Art. R1131-4 – Code de la Santé Publique). Les renseignements cliniques ont été collectés grâce à une fiche de renseignement spécifique du syndrome de Rubinstein-Taybi (Tableau S4). Cette fiche ainsi que les photographies et examens radiologiques ont été envoyés à notre centre par les médecins prescripteurs dans la mesure du possible. Chaque dossier a ensuite été examiné lors de réunions clinico-biologiques mensuelles regroupant l'ensemble des généticiens cliniciens et biologistes de notre centre.

L'étude moléculaire du gène *CREBBP* et *EP300* a été validée lorsque le phénotype des patients était compatible avec un syndrome de Rubinstein-Taybi.

Par ailleurs, dans le cadre du bilan étiologique génétique, d'autres CHU ont pu mettre en évidence des variants dans *CREBBP* ou *EP300*, par le biais de leurs propres panels de gènes par technique de séquençage à haut débit. Dans ce contexte, en tant que centre de référence pour le SRT, ces dossiers nous ont été adressés pour expertise phénotypique et analyse de confirmation moléculaire.

## ***B. Analyses génétiques***

Les études moléculaires ont été réalisées sur l'ADN génomique des patients, extrait à partir des lymphocytes du sang périphérique après prise de sang sur tube EDTA selon les différentes techniques utilisées par l'ensemble des centres nous adressant des prélèvements.

### **1. Evolution des techniques**

Depuis la mise en évidence du premier locus du SRT, en 16p13.3, les progrès technologiques en cytogénétique et en biologie moléculaire ont entraîné de nombreuses évolutions techniques dans la détection des mutations chez les patients adressés pour une suspicion clinique de SRT.

Entre 1993 et 2003, les analyses génétiques étaient réalisées dans le cadre de la recherche au laboratoire du Pr Benoit Arveiler de l'université de Bordeaux. Depuis 2003, les analyses sont désormais réalisées dans le cadre diagnostique au CHU de Bordeaux.

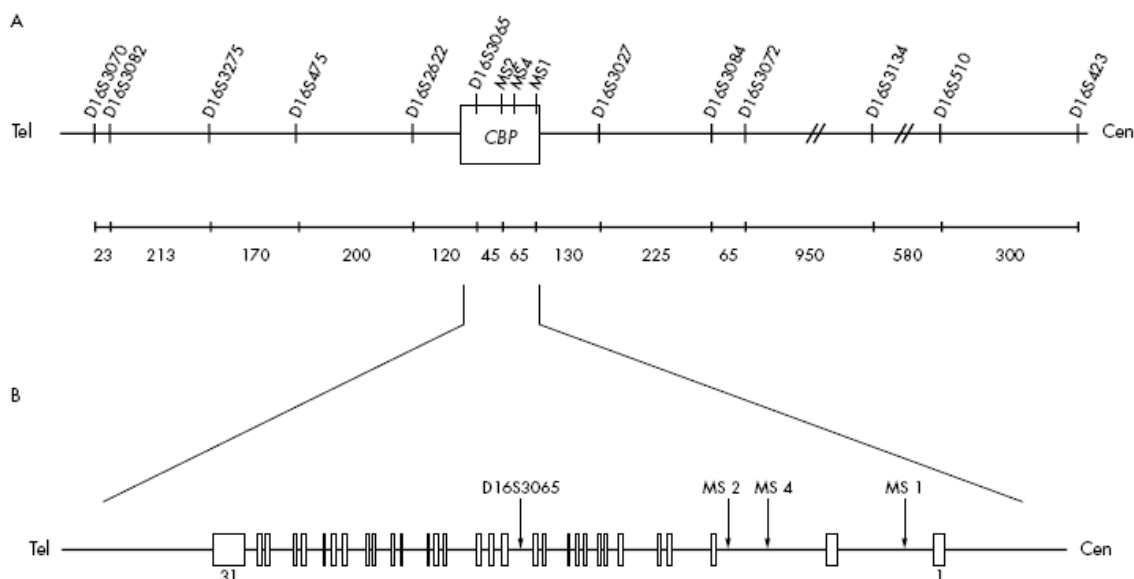
Initialement pensé comme un syndrome microdélétionnel, la recherche diagnostique se faisait par l'étude des grands réarrangements au locus 16p13.3. La découverte en 1995 de l'implication du gène *CREBBP* dans le déterminisme du syndrome a permis de mettre au point des techniques de criblage moléculaire à la recherche de mutations ponctuelles.

Entre 2006 et 2014, les techniques ont été modifiées en intégrant l'analyse du gène *EP300*.

### a) Recherche des réarrangements de grande taille

Les grands réarrangements étaient détectés initialement par Hybridation In Situ en Fluorescence (FISH). Cette technique est utilisée pour rechercher des délétions de grande taille au locus 16p13.3. Le laboratoire utilisait 6 cosmides contenant un insert d'environ 40 kb, au locus 16p13.3.

L'analyse des séquences microsatellites a également été utilisée permettant la recherche de délétions dans une région spécifique. L'étude se faisait par comparaison des haplotypes d'un enfant par rapport à ceux de ses deux parents. La difficulté principale de cette technique était donc de disposer de l'ADN des parents du patient, pour valider les résultats. La résolution et la précision avec laquelle l'étendue de la délétion pouvait être déterminée dépendait de la densité des microsatellites. Pour la recherche de délétions de *CREBBP*, 4 microsatellites intragéniques étaient disponibles (MS1, MS4, MS2 et D16S3065), ainsi que 11 microsatellites flanquant le gène (Figure 19).



**Figure 19 : Carte des microsatellites de la région du gène *CREBBP*.**

A : position des marqueurs microsatellites. La distance entre les microsatellites est donnée en kb ;

B : localisation des microsatellites intragéniques. Extrait de <sup>12</sup>.

A partir de 2003, la mise en évidence de réarrangements géniques multiples du gène *CREBBP* se faisait par l'utilisation de la PCR Quantitative Multiplexe Fluorescente (QMF-PCR), technique plus rapide et moins onéreuse que l'analyse des microsatellites pour la recherche de réarrangements de grande taille.

En 2006, l'émergence des techniques de CGH sur microréseau de gènes a permis la recherche de réarrangements de grande taille par puce à ADN pan-génomique (CGH-Array ; Hybridation Génomique Comparative sur puces à ADN). Puis, des anomalies de plus petite taille ont pu être identifiées sur des réseaux à haute résolution ciblés sur *CREBBP* et *EP300* dont la technique sera détaillée dans la section suivante. Une analyse de confirmation par QMF-PCR ou FISH était effectuée lorsque des anomalies de dosage génique étaient détectées en CGH-Array.

### **b) Détection des mutations ponctuelles**

Dans un premier temps, il est réalisé une amplification des fragments d'ADN par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) à partir des régions codantes et des jonctions introns-exons des 31 exons des gènes *CREBBP* et *EP300*. Les produits de PCR dénaturés par chauffage, vont se renaturer progressivement entraînant la formation d'homoduplexes (recombinaison des 2 brins d'ADN complémentaires, sauvages ou mutés) et d'hétéroduplexes (recombinaison d'un brin d'ADN sauvage avec un brin d'ADN complémentaire muté).

Une technique de screening indirect était alors utilisée en première intention :

- Initialement par chromatographie liquide haute performance en condition dénaturante (dHPLC : *Denaturing High Performance Liquid Chromatography*) : elle permet de séparer les homoduplexes des hétéroduplexes grâce à leur affinité différentielle pour la colonne d'élution. La détection des échantillons se fait en sortie de colonne par mesure de l'absorbance à 260 nm. Les profils d'élution obtenus permettaient de mettre en évidence l'exon portant la mutation puisque le profil était différent.

- Puis par HRM (*High Resolution Melting*): le principe reste la mise en évidence de modifications de profils de dénaturation suite à la formation d'hétéroduplexes. Cette technique permet de visualiser des profils de courbe de fusion en mesurant une intensité de fluorescence en fonction de la température.

Le séquençage selon la méthode Sanger a été réalisé soit lorsque le profil du screening indirect était différent du profil contrôle soit d'emblée en l'absence de screening indirect. Le séquençage de type Sanger était réalisé sur séquenceur capillaire automatique ABI (Applied Biosystems), à l'aide du kit Big Dye Terminator Sequencing (Applied Biosystems) et les séquences ont été lues en utilisant le logiciel SeqScape (Applied BioSystems).

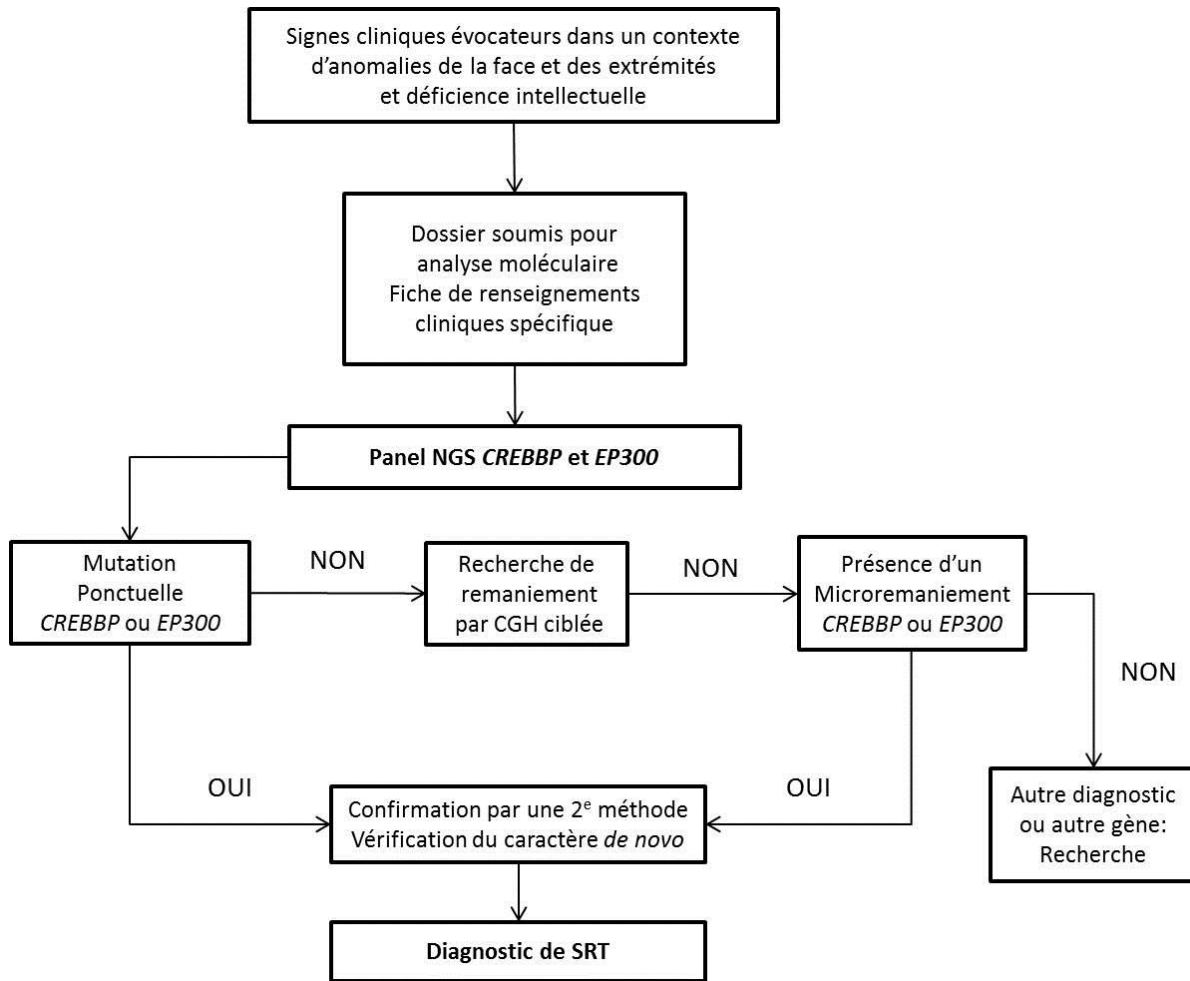
En raison des coûts d'analyse et des délais de rendu de résultat, un arbre décisionnel d'analyse avait été établi. Les patients présentant des critères cliniques de SRT justifiant l'analyse moléculaire étaient initialement analysés sur puce à ADN.

La recherche de mutations ponctuelles était réalisée chez les patients négatifs. Basées sur les corrélations phénotype/génotype établies pour *CREBBP* et *EP300*, les patients présentant un phénotype typique bénéficiaient d'une analyse première de *CREBBP* et les phénotypes plus modérés étaient analysés pour *EP300* en première intention (Figure S1).

## **2. Analyses actuelles**

Depuis 2014 et grâce à l'émergence des techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS : *New Generation Sequencing*), un nouvel arbre décisionnel d'analyse a été mis au point. Les délais de rendu de résultat ont ainsi pu être grandement améliorés (Figure 20).





**Figure 20:** Arbre décisionnel actuellement utilisé au laboratoire pour l'analyse moléculaire du SRT.

### a) Détection des mutations ponctuelles

#### (1) Panel NGS (Next Generation Sequencing)

La détection des mutations ponctuelles est désormais réalisée par NGS en première intention permettant de séquencer simultanément plusieurs gènes et plusieurs patients. Le laboratoire utilise la stratégie de multiplexage d'amplicons pour couvrir l'ensemble des 31 exons des deux gènes *CREBBP* et *EP300* par la technologie Ion Torrent™ (Thermo Fischer Scientific).

Le séquençage s'effectue ensuite sur *Ion PGM™ system* ou *Ion S5™ XL system*, par réactions cycliques de séquençage avec obtention d'un signal électrique pour chaque variation de pH permettant d'obtenir la séquence des fragments d'intérêt.

Le traitement bio-informatique des données est effectué grâce au logiciel Torrent Suite™ (Thermo Fischer Scientific) qui permet d'obtenir un fichier VCF (Variant Calling Format). Chaque variant est annoté selon sa localisation génomique, sa nomenclature protéique, le type de variant, sa fréquence dans les bases de données à partir d'un fichier BAM (*Compressed Sequence Alignment/Map*) aligné sur le génome de référence (version hg19).

## **(2) Pathogénicité des variants**

En fonction du type de mutation, la pathogénicité peut être simple à déterminer (mutation non-sens, avec décalage du cadre de lecture, abolition d'un site consensus d'épissage) ou nécessiter différents logiciels de prédiction *in silico* quand la pathogénicité est plus difficile à établir. Les variants faux-sens sont ainsi classés en 5 catégories grâce aux bases de données et aux outils de prédiction *in silico* SIFT, Polyphen, *Mutation Taster* (regroupés dans l'interface Alamut)<sup>177</sup> et les bases de données HGMD et dbSNP: bénin / probablement bénin / variant de Les variants d'épissage ont été analysés sur *MaxEnt Scan* et *Human Splicing Finder* (HSF) également grâce à l'interface Alamut.

La pathogénicité des variants identifiés est également analysée grâce à l'étude de la ségrégation familiale des variants, lorsque l'ADN des parents était disponible, afin de conclure sur le caractère *de novo* de la mutation identifiée.

## **(3) Validation par séquençage Sanger**

Les variants identifiés par NGS et considérés pathogènes sont validés par une seconde méthode de confirmation. La méthode de référence est le séquençage de type Sanger dont la stratégie a été résumée précédemment.

### **b) Détection des réarrangements de grande taille**

Lorsque le phénotype des patients était typique d'un syndrome de Rubinstein-Taybi sans que le séquençage par panel NGS n'ait pu mettre en évidence de mutation ponctuelle, une analyse sur puce à ADN type CGH-Array, ciblée sur les gènes *CREBBP* et *EP300*, a été réalisée. La puce à ADN ciblée par technique de CGH-Array permet de détecter des remaniements de très petite taille, de l'ordre du kilobase et de caractériser précisément les bornes de ces remaniements.

Cette technique a été réalisée à partir de l'ADN génomique du patient, marqué par un fluorochrome émettant dans le rouge (Cyanine 5, absorbance 550 nm) et d'un ADN génomique de référence, fourni par Agilent Technologies, marqué par un fluorochrome émettant dans le vert (Cyanine 3, absorbance 650 nm). Les variations du nombre de copies (ou *Copy Number Variants* ; CNV) de cet ADN de référence étaient connues.

Ces deux ADN ont alors été co-hybridés sur des fragments d'ADN génomique (ou sondes) greffés sur la puce ciblée. Les rapports de fluorescence, cyanine 5/cyanine 3 entre les deux ADN ont été visualisés à l'aide du logiciel *Agilent Cytogenomics*. Une différence dans le nombre de copies entre les 2 ADN co-hybridés, pour un locus donné, modifiait le rapport d'intensité des deux fluorochromes pour la sonde concernée. Une anomalie du nombre de copies était considérée comme significative quand elle incluait au minimum 3 sondes variantes consécutives. Ce rapport exprimé en  $\log_2$  du ratio de fluorescence est de + 0.5 dans le cas d'une duplication hétérozygote, de -1 dans le cas d'une délétion hétérozygote et de 0 en l'absence de réarrangement.

### **3. Analyse des patients négatifs par séquençage d'exome en trio**

Afin d'étudier l'hétérogénéité génétique du SRT, nous avons initié un projet de recherche en collaboration avec le Pr Alain Verloes du CHU Robert Debré à Paris et le Dr Laurent Pasquier du CHU de Rennes grâce à l'apport des techniques de séquençage de nouvelle génération par une stratégie de séquençage d'exome en trio.

Pour cela nous avons sélectionné 5 patients qui présentaient des caractéristiques en faveur du SRT allant de phénotypes typiques à des présentations plus modérées.

Les autres critères d'inclusion étaient l'absence de mutation identifiée dans *CREBBP* et *EP300*, à la fois par séquençage Sanger et puce à ADN ciblée, et la disponibilité d'ADN pour chacun des deux parents des patients pour l'analyse en trio.

Ce projet de recherche a été financé par la Fondation Maladies Rares et le séquençage a été réalisé sur la plateforme IntegraGen.

Les séquences ont été capturées grâce au kit *Agilent SureSelect V5* (Agilent Technologies) puis, après contrôle qualité, elles ont été alignées sur le génome humain de référence (version hg19). Les *reads* dupliqués, multi-alignés et présentant des anomalies d'orientation ont été éliminés. La profondeur minimale de couverture exigée était de 5X.

L'identification des variants a été réalisée à l'aide du logiciel CASAVA 1.8 puis ils ont été annotés sur RefSeq afin d'établir la position du variant (sur le génome, le gène, le transcrit et la protéine) et le type de mutation, de changement d'acide aminé ou de phase de lecture.

Afin de pouvoir filtrer les variants fréquents en population générale ou polymorphismes, les variants ont également été filtrés selon les bases de données publiques (dbSNP, 1000Genome, Exome Variant Server et HapMap) ainsi que dans la base de données des exomes IntegraGen.

La liste des variants obtenue a pu être filtrée et analysée grâce à l'accès au logiciel ERIS (*Exome Resequencing Intelligent Server*), application en ligne développée par IntegraGen qui permet la comparaison des fichiers VCF en trio pour identifier les mutations *de novo*.

Nous avons considérés les variants *de novo* et rares, c'est-à-dire présents dans moins de 1% des cas en population générale. Par ailleurs, dans le cadre de cette étude préliminaire de nos patients SRT négatifs pour *EP300* et *CREBBP*, seuls les variants perte de fonction (faux-sens et décalage du cadre de lecture) et d'épissage ont été retenus pour l'analyse. Une annotation fonctionnelle (*STRING : functional protein association networks*<sup>178</sup>) a également été effectuée sur les variants sélectionnés afin d'identifier toutes les voies impliquant les gènes des variants d'intérêt et de préciser leur relation avec *CREBBP* et *EP300*.

### III. Résultats

#### A. Description de la cohorte Rubinstein-Taybi

Entre 1993 et 2015, 463 patients présentant un phénotype évocateur de SRT ont été analysés pour *CREBBP* et/ou *EP300* par notre centre de référence. Parmi eux, 255 patients ont été diagnostiqués (55,1%), dont 225 étaient porteurs d'une mutation dans *CREBBP* (48,6%) et 30 dans *EP300* (6,5%) avec un sex-ratio équilibré de 1,2 garçons pour 1 fille (140 garçons, 115 filles).

##### 1. Mutations dans *CREBBP*

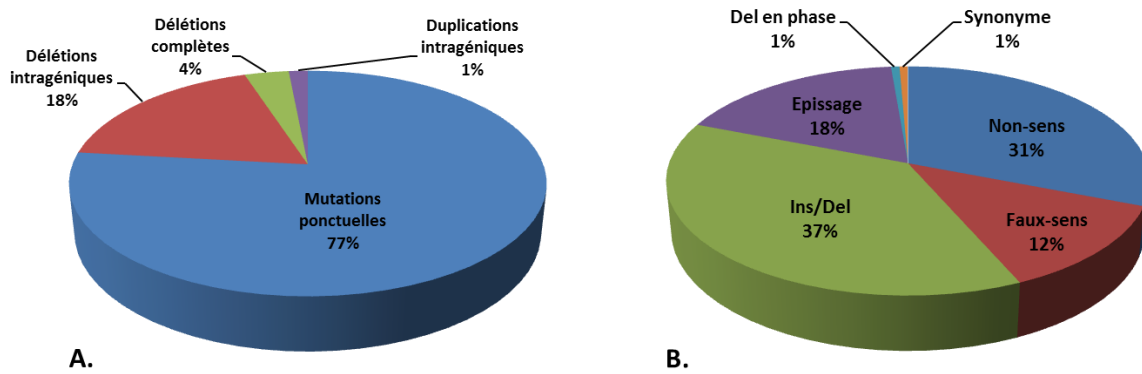
Concernant les 225 patients porteurs d'une mutation dans *CREBBP*, 198 altérations différentes ont été retrouvées à l'état hétérozygote et *de novo* à l'exception d'une mosaïque germinale identifiée chez l'un des parents des patients #63 et #64, déjà précédemment rapportée par notre équipe<sup>179</sup>, ainsi qu'une forme familiale chez deux garçons héritée du père des patients #72, #73 et #74.

Ces 198 mutations sont réparties tout le long du gène et le spectre mutationnel comprend 43 grandes délétions (21,7%) dont 7 délétions complètes du gène, 3 duplications interstitielles (1,5%), 104 mutations tronquantes (52,5%) parmi lesquelles 47 mutations ponctuelles non-sens et 57 mutations avec décalage du cadre de lecture, 27 mutations d'épissage (13,6%) et 19 mutations ponctuelles faux-sens (9,6%) (Figure 21).

Il faut ajouter au spectre :

- Une mutation synonyme dans l'exon 18 (c.3609G>A / p.Lys1203Lys) chez le patient #225. Cette mutation a été classée comme pathogène car, après analyse fonctionnelle, elle aboutit à un saut d'exon entraînant la perte du bromodomaine de *CREBBP* empêchant donc le recrutement de CREB, facteur de transcription indispensable à son initiation.
- Une délétion en phase dans l'exon 30 de *CREBBP* (c.5039\_5041delCCT / p.Ser1680del), entraînant la perte d'une Proline dans le domaine KAT de la protéine, a été retrouvée chez trois de nos patients (#128, #129 et #130) et a déjà été

précédemment rapportée par Schorry *et al.*<sup>164</sup> et dans la base LOVD<sup>153</sup> (Tableaux S1 et S2). Sa récurrence témoigne de son caractère pathogène.



**Figure 21: Représentation schématique du spectre mutationnel des variants *CREBBP* identifiés dans notre cohorte.**

A. Diagramme des catégories de l'ensemble des mutations identifiées incluant 152 mutations ponctuelles, 36 délétions intragéniques, 7 délétions complètes et 3 duplications intragéniques.

B. Diagramme des mutations ponctuelles détectées incluant 57 mutations avec décalage du cadre de lecture (Ins/Del), 47 mutations non-sens, 19 mutations faux-sens, 27 mutations d'épissage, 1 délétion en phase (Del en phase) et 1 mutation synonyme.

Sur ces 198 mutations, en dehors des 28 mutations précédemment rapportées par notre équipe issues de cette cohorte<sup>12,154,167,179</sup>, 145 d'entre elles n'ont jamais été rapportées dans la littérature ou dans la base LOVD<sup>153</sup>. La liste de l'ensemble des mutations identifiées dans notre cohorte est résumée dans le tableau S5. Les références des mutations précédemment rapportées dans la littérature y sont notées.

## a) Mutations tronquantes

Les 47 mutations ponctuelles non-sens et les 57 mutations avec décalage du cadre de lecture (31 délétions, 19 insertions ou duplications et 7 délétions-insertions) sont réparties tout le long du gène.

Cependant quelques « points chauds mutationnels » peuvent être mis en évidence. En effet, en combinant nos résultats avec ceux de la littérature, 15 variants sont rapportés chez deux patients différents (Tableau S5) et 6 variants sont rapportés chez au moins 3 patients :

- Exon 5, c.1270C>T / p.Arg424\* : patients #149 et #150 et Bartsch *et al.*<sup>10</sup>
- Exon 14, c.2755C>T / p.Gln919\* : patients #164, #165 et #166
- Exon 27, c.4404\_4405delAG / p.Gly1469Alafs\*9: patients #118, #119 et #120 et Murata *et al.*<sup>13</sup>
- Exon 28, c.4650\_4654del / p.Glu1551Hisfs\* : patient #122 et Spina *et al.* (2 patients)<sup>165</sup>
- Exon 31, c.5837dup / p.Pro1947Thrfs\*19: patients #130, #131 et #132, Spina *et al.*<sup>165</sup>
- Exon 31, c.6010C>T / p.Arg2004\* : patients #188 et #189 et Roelfsema *et al.*<sup>9</sup>

Ces deux types d'altérations sont prédits pour aboutir à la synthèse d'une protéine CBP tronquée dans sa partie C-Terminale à la hauteur de 10% (p.Gln2200\*) jusqu'à 99,1% (p.Ser23\*) pour les mutations non-sens et de 13,6% (p.Asn2111Ilefs\*32) jusqu'à 99,3% (p.Ser18Glyfs\*3) pour les mutations avec décalage du cadre de lecture.

Prises ensemble, ces mutations représentent un large éventail d'effets possibles au niveau de la protéine CBP en fonction de la perte de domaines spécifiques. Dans 26 cas, seule la région N-terminale de la protéine est synthétisée dont 10 cas devraient conserver uniquement le domaine d'interaction aux récepteurs membranaires (*NRID*) partiel ou complet sans le domaine CH/1. Dans les 79 autres cas, le domaine KIX devrait être partiellement (10 cas) ou entièrement conservé (69 cas), soit seul soit avec une partie ou l'ensemble du bromodomaine (42 cas). Dans 36 cas, le domaine KAT devrait être conservé mais de manière complète dans seulement 15 cas.

## b) Grands remaniements

Concernant les grands remaniements au locus 16p13.3, trois duplications interstitielles ont été retrouvées dont une de 12kb dans l'exon 2 chez le patient #46 en mosaïque à hauteur de 75%. Les grandes délétions retrouvées chez 44 patients ont révélés 37 délétions interstitielles et 7 délétions complètes du gène. Le phénotype des patients présentant les délétions complètes sera détaillé dans la section III. B. 1.

Sur les 37 délétions interstitielles, la localisation précise n'est pas connue dans 5 cas en raison des limites des techniques utilisées au moment du diagnostic. Sur les 32 autres délétions, 27 sont intragéniques et limitées au gène ; chez les 5 autres patients, la délétion emportait une partie du gène ainsi que d'autres gènes en position télomérique de *CREBBP*.

Il s'agit des patients suivants:

- Patient #21 : délétion de 223kb emportant les exons 2 à 31 de *CREBBP* et les gènes *TRAP* et *DNAse1*.
- Patient #22 : délétion de 463kb emportant les exons 3 à 31 de *CREBBP* et 10 autres gènes en position télomérique de *CREBBP* (*TRAP*, *DNAse1*, *SLX4*, *NLRC3*, *CLUAP1*, *C16orf90*, *NAA60*, *ZNF597*, *ZNF714* et *ZSCAN32*).
- Patient #27 : délétion de 156kb emportant les exons 6 à 31 de *CREBBP* et les gènes *TRAP* et *DNAse1*.
- Patient #31 : délétion de 97kb en mosaïque (50%) emportant les exons 20 à 31 de *CREBBP*, le gène *TRAP* et le début du gène *DNAse1*.
- Patient #32 : délétion de 49kb emportant les exons 22 à 31 de *CREBBP* et le gène *TRAP*.

Par ailleurs, sur ces 32 délétions, 14 d'entre elles (43,8%) présentent un point de cassure situé dans la région instable entre les introns 1 et 2 (Patients #8 à #21). Deux des trois duplications interstitielles mises en évidence présentent également des points de cassure dans cette région (Patients #46 et #47).

On peut également noter que 6 des 32 délétions (18,8%) présentent des points de cassure situés dans la partie 3' du gène entre l'exon 29 et l'extrémité 3' (patients #34 à #39).



### c) Mutations faux-sens

La description détaillée des mutations faux-sens *CREBBP* et *EP300* fera l'objet d'un chapitre dédié dans la section III. B. 2.

## 2. Mutations dans *EP300*

Trente variations considérées comme pathogènes dans *EP300* ont été identifiées chez 30 patients différents. Ces mutations ont été retrouvées *de novo* à l'état hétérozygote. Il s'agit pour la grande majorité de mutations privées à l'exception de 3 mutations déjà rapportées dans la littérature (Patients #235, #237 et #250; Tableau 1).

Sur ces 30 patients, 20 ont également été inclus dans une étude collaborative internationale (cf. Travaux scientifiques) que nous détaillerons ultérieurement.

Ces mutations sont réparties tout le long du gène sans pouvoir mettre en évidence un éventuel « point chaud » de mutation. Le spectre mutationnel comprend 6 grandes délétions (20%) dont 2 délétions complètes du gène, 19 mutations tronquantes (63,3%) dont 7 mutations ponctuelles non-sens et 12 mutations avec décalage du cadre de lecture, 2 mutations d'épissage (6,7%) et 3 mutations ponctuelles faux-sens (10%).

### a) Mutations tronquantes

Les 7 mutations ponctuelles non-sens et les 12 mutations avec décalage du cadre de lecture (7 délétions, 4 insertions ou duplications et 1 insertion-délétion), identifiées dans *EP300*, sont réparties tout le long du gène.

Aucun de nos patients ne partage la même mutation mais, comme précisé précédemment, 3 variants ont déjà été rapportés dans la littérature :

- Exon 2, c.104\_107del / p.Ser35Tyrfs\*12: patient #235 et Woods *et al.*<sup>157</sup>
- Exon 5, c.1187\_1189delinsATT / p.Ser396\_Arg397delinsTyr: patient #237 et Negri *et al.*<sup>159</sup>
- Exon 9, c.1876 C>T / p.Arg626\*: patient #250 et Negri *et al.*<sup>159</sup>

De la même façon que pour *CREBBP*, ces deux types d'altérations sont prédits pour aboutir à la synthèse d'une protéine p300 tronquée dans sa partie C-Terminale à la hauteur de 24% (p.Gln1836\*) jusqu'à 96,4% (p.Arg86\*) pour les mutations non-sens et de 12,3% (p.Pro2116Leufs\*18) jusqu'à 98.6% (p.Ser35Tyrfs\*12) pour les mutations avec décalage du cadre de lecture.

Lorsque l'on regarde l'impact potentiel de ces 19 mutations au niveau de la protéine p300 en fonction des domaines atteints, on constate dans 5 cas, que seule la région N-terminale de la protéine est synthétisée comprenant le domaine d'interaction aux récepteurs membranaires (*NRID*) et le domaine CH/1. Dans les 14 autres cas, le domaine KIX devrait être partiellement (2 cas) ou entièrement conservé (12 cas), soit seul soit avec une partie ou l'ensemble du bromodomaine (7 cas). Dans 6 cas, le domaine KAT devrait être conservé mais de manière complète dans seulement 2 cas.

### **b) Grands remaniements**

L'ensemble des patients présentant des grands remaniements au locus 22q13.2 soit 37 délétions interstitielles et 7 délétions complètes du gène, sera détaillé dans la section III. B. 1.

### **c) Mutations faux-sens**

La description détaillée des mutations faux-sens *CREBBP* et *EP300* fera l'objet d'un chapitre dédié dans la section III. B. 2.

**Tableau 1: Résumé des mutations *EP300* identifiées dans notre cohorte.**

DEL : grande délétion ; del : courte délétion ; ins : courte insertion ou duplication ; delins : courte insertion-duplication ; <sup>(a)</sup> : mutation précédemment rapportée par Woods *et al.*<sup>157</sup> ; <sup>(b)</sup> : mutations précédemment rapportées par Negri *et al.*<sup>159</sup> ; \* : patients inclus dans l'étude collaborative internationale.

Patient N°	Anomalie génétique	Localisation	Type
226	Délétion complète	chr22: 41461711_42810963, 1,34Mb	DEL
227	Délétion complète	chr22: 41431490_41911525, 480kb	DEL
228	Délétion interstitielle	Exons 12 à 31, chr22:41543758_41795596, 251,8kb	DEL
229	Délétion interstitielle	5'UTR et exon 1, 14,795kb	DEL
230	Délétion interstitielle	Exon 8 à 11	DEL
231*	Délétion interstitielle	Exons 20 à 23, 7,5kb	DEL
232*	c.3857A>G / p.Asn1286Ser	Exon 23	faux-sens
233*	c.4238T>A / p.Val1413Asp	Exon 26	faux-sens
234*	c.4301A>G / p.His1434Arg	Exon 27	faux-sens
235*	c.104_107del / p.Ser35Tyrfs*12 <sup>(a)</sup>	Exon 2	del
236*	c.1167dup / p.Val390Serfs*21	Exon 4	ins
237*	c.1187_1189delinsATT / p.Ser396_Arg397delinsTyr* <sup>(b)</sup>	Exon 5	delins
238*	c.1553_1554dup / p.Gly519Glufs*3	Exon 7	ins
239	c.2513_2516dup / p.Pro840Tyrfs*70	Exon 14	ins
240	c.3070_3074del / p.Lys1024Glyfs*63	Exon 16	del
241*	c.3071_3074del / p.Lys1024Argfs*34	Exon 16	del
242*	c.3234delT / p.Val1079Trpfs*6	Exon 17	del
243	c.3372_3373del / p.Met1124Ilefs*3	Exon 18	del
244*	c.4078_4086del / p.Leu1360_Ala1362del	Exon 25	del
245*	c.4578_4579insTT / p.Arg1527Leufs*15	Exon 28	ins
246*	c.6347del / p.Pro2116Leufs*18	Exon 31	del
247	c.94+1G>T / p.?	Intron 1	épissage
248*	c.4026-9A>G / p?	Intron 24	épissage
249*	c.256C>T / p.Arg86*	Exon 2	non-sens
250	c.1876 C>T / p.Arg626* <sup>(b)</sup>	Exon 9	non-sens
251*	c.2113C>T / p.Arg705*	Exon 11	non-sens
252*	c.2554C>T / p.Gln852*	Exon 14	non-sens
253*	c. 4774A>T / p.Lys1592*	Exon 29	non-sens
254*	c.4946G>A / p.Trp1649*	Exon 30	non-sens
255*	c. 5506C>T / p.Gln1836*	Exon 31	non-sens

## **B. Etude de corrélation phénotype/génotype**

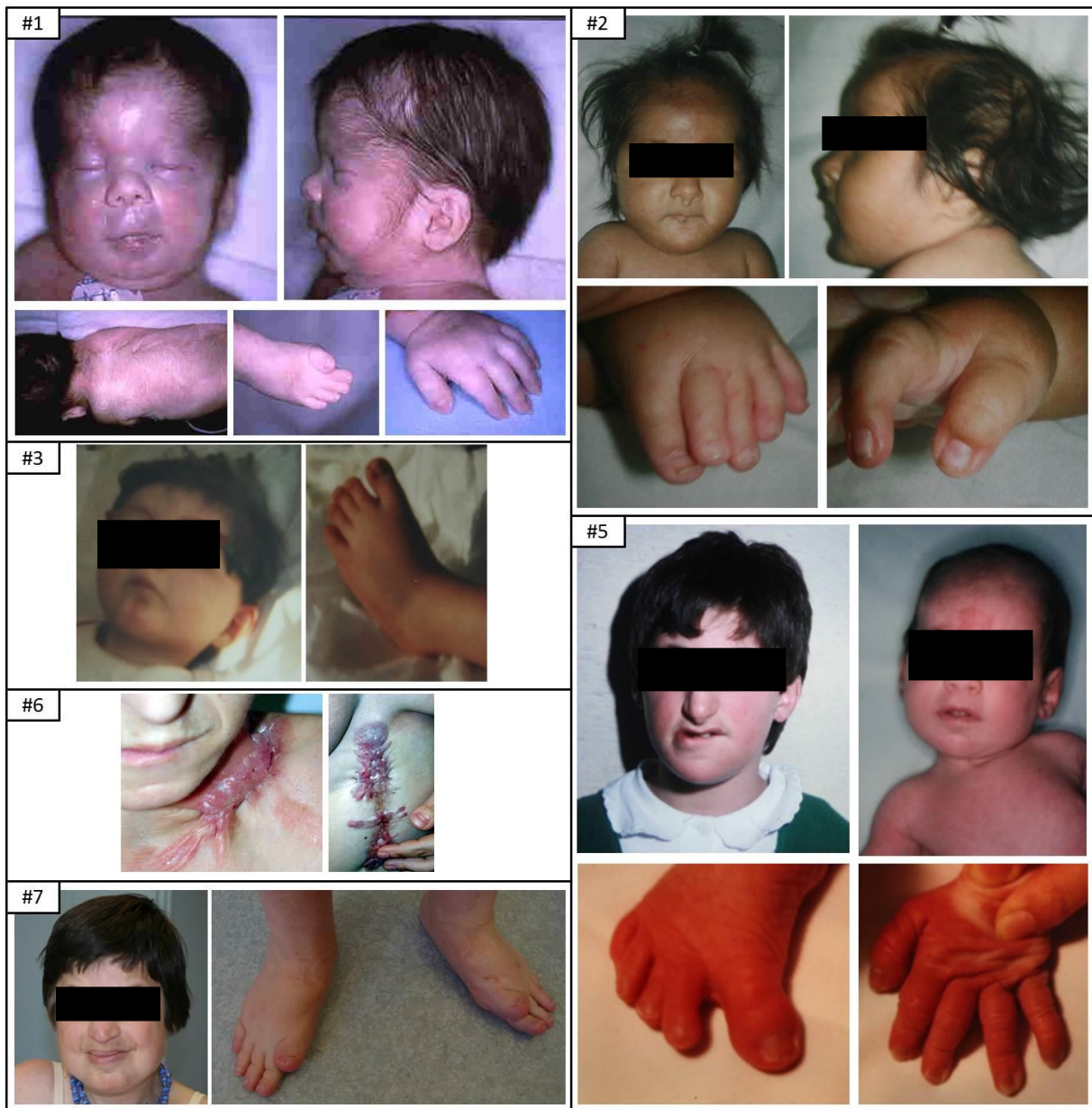
### **1. Impact des grandes délétions sur le phénotype**

Sur l'ensemble de notre cohorte, nous avons détecté 44 grandes délétions dans *CREBBP* dont 7 délétions complètes du gène (Tableau S5) et 6 grandes délétions dans *EP300* dont 2 complètes (Tableau 1). Nous avons détaillé dans cette section l'ensemble des délétions mises en évidence dans *EP300* ainsi que les 7 délétions complètes de *CREBBP*. Afin de tenter de mettre en évidence des corrélations phénotype-génotype, nous avons également repris les données phénotypiques des patients délétés dans *EP300* précédemment rapportés dans la littérature.

L'ensemble des phénotypes des patients porteurs de délétions complètes de *CREBBP* est présenté dans le tableau 2 et illustré dans la figure 22 ; celui des patients avec délétions dans le gène *EP300* est résumé dans le tableau 3 et illustré dans les figures 24, 25 et 26.

#### **a) Phénotype des patients avec délétion complète de *CREBBP***

Les 7 patients porteurs de délétions complètes de *CREBBP* étaient toutes des femmes. L'âge au diagnostic variait des premiers jours (#1) ou premiers mois de vie (#2, #3, #4 et #5) jusqu'à l'enfance (#6 et #7). Les âges au moment de la description clinique allaient de 34 jours de vie (#1), de l'enfance entre 2 mois et 4 ans (#2, #3 et #4) jusqu'à l'adolescence (#5) et l'âge adulte à 30 (#6) et 35ans (#7).



**Figure 22: Photographies des patients porteurs de délétions complètes de *CREBBP*.**

**Patient #1** avec hypertrichose, implantation basse des cheveux sur le front, racine du nez large, lèvre supérieure fine, micrognathie et oreilles basses implantées. Au niveau des extrémités, on note principalement l'hallux large avec la déviation en valgus et la brachymétatarsie du premier rayon ; **patient #2** avec racine du nez large, columelle saillante, fentes palpébrales en bas et en dehors et pouces et hallux élargis ; **patient #3** avec fentes palpébrales obliques en bas et en dehors et hallux large ; l'évolution phénotypique est caractéristique chez la **patient #5** avec initialement des fentes palpébrales horizontales avec un hémangiome de la glabella et des pouces larges et hallux larges et déviés puis les fentes progressivement s'orientent en bas et en dehors avec la saillie de la columelle ; cicatrices chéloïdes de la **patient #6** où l'on peut apercevoir le pouce élargi ; aspect facial caractéristique de la **patient #7** avec le ptosis bilatéral asymétrique retrouvé chez plusieurs patients et les hallux larges avec la brachymétatarsie du premier rayon.

Les photographies de la **patient #4** n'étaient pas disponibles.

## **(1) Période pédiatrique**

Le retard de croissance était constant pour l'ensemble des cas. Le retard psychomoteur était évaluable chez 5 patients sur 7. Le retard de langage était constant et sévère avec un âge des premiers mots à 2 ans (#2), 4 ans (#3), 5ans (#5) et 7-8 ans (#7), non déterminé pour le patient #6. Le retard moteur était constant et particulièrement sévère pour les patients #2, #3 et #7 avec une marche respectivement non acquise à 3 ans et demi, acquise avec aide à 4 ans et acquise à 6 ans. L'apprentissage de la marche s'est fait à 30 et 24 mois pour les patients #5 et #7 respectivement.

De la même façon, le déficit intellectuel était rapporté chez les 5 patients évaluables, de degré modéré (#7) à sévère (#3, #5 et #6). Le degré de déficience n'était pas précisé pour le patient #1. En revanche aucun trouble du comportement majeur ou trouble du spectre de l'autisme n'était rapporté chez ces patients.

Les patients #5, #6 et #7 présentaient également des infections ORL à répétition.

## **(2) Malformations d'organes**

Les malformations majeures affectaient le tractus rénal et urinaire (4/6), le cœur (3/6) et les yeux (3/6). Les anomalies squelettiques et des extrémités sont détaillées dans la section suivante.

Les malformations de l'arbre urinaire, présentes chez 4 des 6 patients documentés (#1, #3, #4 et #6) étaient des reflux vésico-urétéraux ou des dilatations pyélo-calicielles à l'exception du patient #6 qui présentait également une agénésie rénale.

Les malformations cardiaques étaient minimales et consistaient en une persistance du canal artériel, soit isolée (#2), soit associée à une hypertension artérielle pulmonaire (#4) ou une communication inter-auriculaire (#3).

Les anomalies oculaires étaient présentes chez 3 patients. Un strabisme était retrouvé associé à une hypermétropie et un astigmatisme (#3), une myopie (#6) ou un colobome irien de l'œil droit (#7).

Dans les autres anomalies, on pouvait noter une atrésie des choanes diagnostiquée chez le cas décédé en période néonatale, des cicatrices chéloïdes (#6) et une obésité chez deux cas (#2 et #7). Par ailleurs le patient #6 a présenté un lymphome de Hodgkin.

### **(3) Anomalies squelettiques et des extrémités**

Les anomalies typiques des extrémités avec les pouces et hallux larges étaient retrouvées chez l'ensemble des patients à l'exception du patient #7 qui présentait uniquement des gros orteils élargis. Par ailleurs la déviation radiale des pouces était notée chez 4 cas sur 7 (#1, #2, #3 et #4) et le patient #5 présentait une duplication de la première phalange du pouce.

Concernant les autres anomalies squelettiques, on retrouvait principalement des anomalies vertébrales à type de scoliose (#6 et #7) ou cyphose thoraco-lombaire (#3). Les patients #3 et #4 présentaient également un *pectus excavatum*.

### **(4) Dysmorphie cranio-faciale**

Les critères mineurs faciaux caractéristiques du syndrome de Rubinstein-Taybi étaient retrouvés globalement chez l'ensemble des patients.

En effet, l'implantation basse des cheveux (7/7), les fentes palpébrales orientées en bas et en dehors (7/7) et le palais ogival (5/5) étaient constants. Dans 6 cas sur 7 on retrouvait une microcéphalie, une rétraction bitemporale, un nez proéminent avec racine large et une columelle sous les ailes du nez, un épicanthus et des oreilles basses implantées. L'hypertrichose ainsi que les sourcils arqués avec des cils longs étaient présents chez 5 patients sur 7.

Seule la micrognathie était retrouvée dans moins de la moitié des cas (3/7).

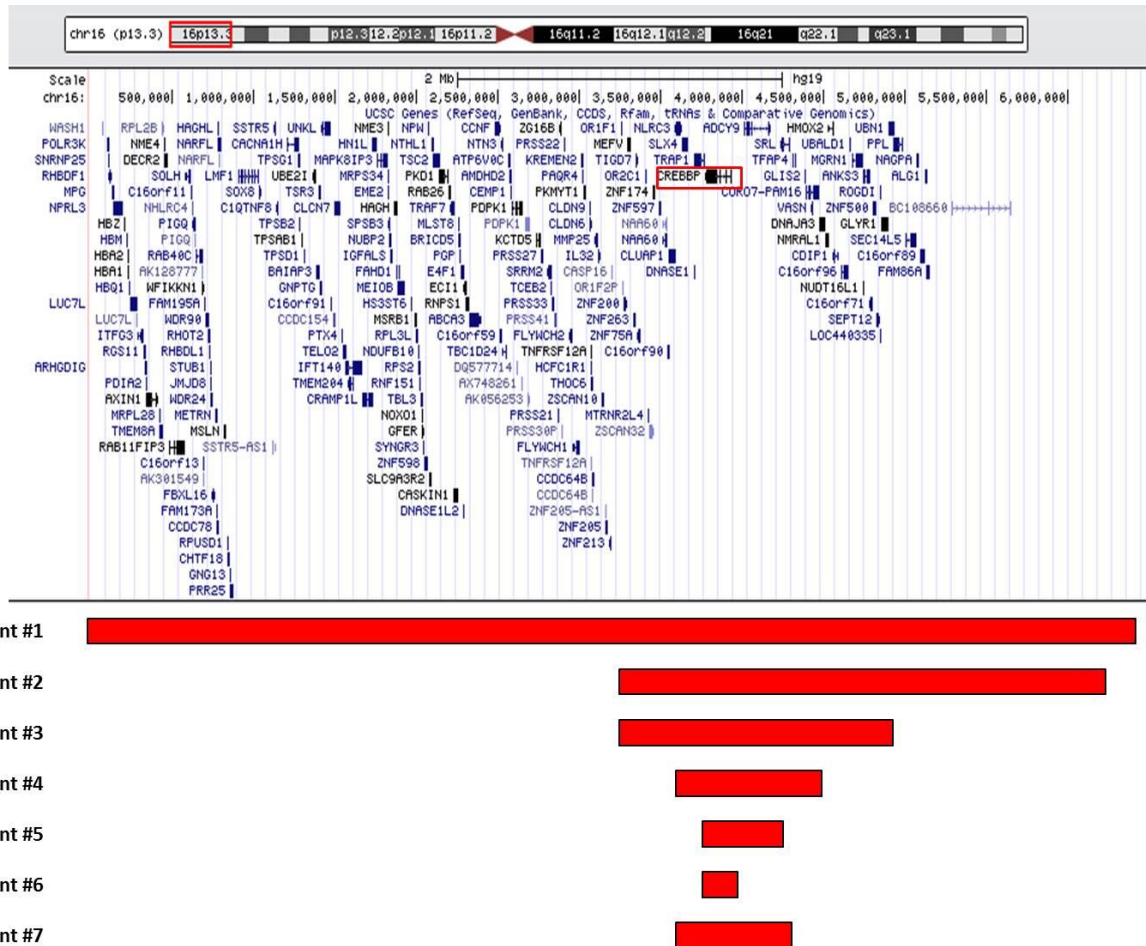
#### **b) Caractérisation des délétions complètes au locus 16p13.3**

La délétion du patient #6 a été analysée en qPCR et montrait une délétion complète du gène mais en raison des limites de la technique, la taille de la délétion au-delà des extrémités 3' et 5' du gène *CREBBP* n'a pas pu être déterminée. Cependant la réalisation au préalable d'un caryotype chez ce patient n'avait pas mis en évidence d'anomalie cytogénétique.

La délétion du patient #5, d'une taille de 433kb, intéressait tout le gène *CREBBP* et tout le gène *ADCY9* situé en région centromérique par apport à *CREBBP*.

Les cinq autres délétions (patients #1, #2, #3, #4 et #7) s'étendaient au-delà de *CREBBP*, de part et d'autre des régions centromérique et télomérique du gène. La délétion du patient #3 emportait 1 Mb en région centromérique et 500 kb en région télomérique.

Les délétions des patients #1, #2, #4 et #7 étaient respectivement d'une taille de 6,5 Mb, 2.68 Mb (comprenant 50 gènes), 900 kb (comprenant 13 gènes) et environ 700 kb (comprenant 7 gènes) (Figure 23).



**Figure 23: Représentation schématique de la localisation des délétions complètes de *CREBBP*.**

Le **patient #1** est porteur d'une délétion de 6.5 Mb emportant *CREBBP* et l'ensemble des gènes représentés ci-dessus ; le **patient #2** est porteur d'une délétion de 2.58 Mb emportant *CREBBP* et 49 autres gènes ; le **patient #3** est porteur d'une délétion d'environ 1.6 Mb ; le **patient #4** est porteur d'une délétion de 900 kb emportant *CREBBP* et 12 autres gènes ; le **patient #5** est porteur d'une délétion de 433 kb emportant *CREBBP* et *ADCY9* ; les bornes de la délétion du **patient #6** ne sont pas connues mais elle emporte au moins tout le gène *CREBBP* ; le **patient #7** est porteur d'une délétion d'environ 700 kb emportant *CREBBP* et 7 autres gènes. L'ensemble de ces délétions a été identifiée par CGH-Array pan-génomique ou ciblée à l'exception de celle du patient #6 détectée par qPCR. Le gène *CREBBP* est encadré en rouge. A partir de <sup>180</sup>.



**Tableau 2 : Phénotypes et génotypes des 7 patients porteurs d'une délétion complète de CREBBP.**

nd: non déterminé; ne: non évaluable

Patient N°	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	Synthèse
<b>Sexe</b>	F	F	F	F	F	F	F	SR (M/F) 0/7
<b>Age au diagnostic / à la description</b>	décès à J34	7m / 3ans 1/2	1m / 4 ans	2m / 2m	2m / 15 ans	3 ans / 30 ans	2 ans / 35 ans	
<b>GROSSESSE</b>								
Terme (SA)	33	41	41	35	39	31	37	Prématurité 3/7
Hydramnios	+	+	-	-	-	-	-	2/7 (28,6%)
RCIU	+	-	-	-	nd	-	-	1/6 (16,7%)
Autre	-	-	-	pré-éclampsie	-	-	-	1/7 (14,3%)
<b>NAISSANCE</b>								
Poids (g)	1660	3030	3250	1670	2600	3200	2460	
Taille (cm)	nd	45	47	41	nd	nd	46	
PC (cm)	32	35	33,5	28,5	nd	nd	nd	
<b>ENFANCE</b>								
Retard de croissance	+	+	+	+	+	+	+	7/7 (100%)
Langage (âge des premiers mots)	ne	retard (2 ans)	retard (4 ans)	np	retard (5 ans)	retard	retard (7-8 ans)	5/5 (100%)
Age de la marche	ne	non acquis à 3 ans 1/2	4 ans avec aide	np	30m	6 ans	24m	5/5 (100%)
<b>ASPECTS CRANIO-FACIAUX</b>								
Microcéphalie	-	+	+	+	+	+	+	6/7 (85,7%)
Hypertrichose	+	+	-	+	+	+	-	5/7 (71,4%)
Implantation basse des cheveux	+	+	+	+	+	+	+	7/7 (100%)
Sourcils arqués	-	+	+	-	+	+	+	5/7 (71,4%)
Cils longs	-	+	+	-	+	+	+	5/7 (71,4%)
Rétraction bitemporale	+	+	-	+	+	+	+	6/7 (85,7%)
Nez proéminent	+	+	-	+	+	+	+	6/7 (85,7%)
Racine du nez large	-	+	+	+	+	+	+	6/7 (85,7%)
Columelle saillante	-	+	+	+	+	+	+	6/7 (85,7%)
Déviations du septum nasal	-	-	-	-	-	-	-	0/7

Fentes palpébrales en bas et en dehors	+	+	+	+	+	+	+	7/7 (100%)
Fentes palpébrales en haut et en dehors	-	-	-	-	-	-	-	0/7
Fentes palpébrales horizontales	-	-	-	-	-	-	-	0/7
Replis épicanthiques	+	+	-	+	+	+	+	6/7 (85,7%)
Palais ogival	nd	+	+	+	nd	+	+	5/5 (100%)
Micrognathie	-	-	+	+	-	+	-	3/7 (42,9%)
Oreilles basses implantées	+	+	+	+	-	+	+	6/7 (85,7%)
Autre	bosses frontales et fontanelle antérieure large	-	retard d'éruption, malimplantation dentaire et hypertélorisme	-	-	retard d'éruption et malimplantation dentaire	-	
<b>ANOMALIES OCULAIRES</b>								
Strabisme	-	-	+	-	nd	+	+	3/6 (50%)
Myopie	-	-	-	nd	nd	+	-	1/5 (20%)
Autre	-	-	hypermétropie et astigmatisme	-	nd	-	colobome irien droit	2/6 (33,3%)
<b>EXTREMITES</b>								
<b>Clinique</b>								
Pouces larges	+	+	+	+	+	+	-	6/7 (85,7%)
Déviations radiales du pouce	+	+	+	+	-	-	-	4/7 (57,1%)
Clinodactylie des V <sup>e</sup> doigts	+	+	-	-	-	+	-	3/7 (42,9%)
Hallux larges	+	+	+	+	+	+	+	7/7 (100%)
Déviations en varus	-	+	+	+	+	-	-	4/7 (57,1%)
Déviations en valgus	-	-	-	-	-	+	+	2/7 (28,6%)
Autre	-	pli palmaire transverse unique droit ; hyperlaxité ligamentaire	-	-	-	camptodactylie 4e doigt	pieds bots	
<b>Radiographies</b>								
Duplication de la phalange distale du pouce	-	nd	nd	-	+	-	nd	1/4 (25%)
Elargissement de la phalange distale du pouce	+	nd	nd	+	+	+	nd	4/4 (100%)
Duplication de l'hallux	-	nd	nd	-	-	-	nd	0/4
Hallux élargi	+	nd	nd	+	+	-	nd	3/4 (75%)
Brachytéléphalangie	+	nd	nd	+	+	+	nd	4/4 (100%)

SYSTEME NERVEUX CENTRAL								
Hypotonie	+	+	+	+	+	-	+	6/7 (85,7%)
Déficit intellectuel	ne	+ (degré?)	+ (sévère)	np	+ (sévère)	+ (sévère)	+ (modéré)	5/5 (100%)
Epilepsie	-	-	-	-	-	-	-	0/7
Troubles du spectre de l'autisme	ne	-	-	np	-	-	-	0/5
Troubles du comportement	np	-	-	np	-	-	-	0
IRM cérébrale	ne	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
MALFORMATION D'ORGANE								
Cardiovasculaire	-	canal artériel persistant	CIA avec canal artériel persistant	canal artériel persistant avec HTAP	nd	-	-	3/6 (50%)
Génitale	-	-	-	-	nd	-	-	0/6
Arbre urinaire	dilatation pyelo calicielle bilatérale prédominant à gauche	-	reflux vésico-urétéral	dilatation pyelo calicielle gauche	nd	agénésie rénale reflux vésico-urétéral	-	4/6 (66,7%)
Autre	atrésie des choanes	-	-	-	infections ORL à répétition	infections ORL à répétition	infections ORL à répétition	4/7 (57,1%)
AUTRES ANOMALIES								
Scoliose	-	-	-	nd	-	+	+	2/6 (33,3%)
Mamelon surnuméraire	-	-	-	-	nd	-	-	0/6
Obésité	-	+	-	-	-	-	+	2/6 (33,3%)
Cicatrice chéloïde	-	-	-	-	nd	+	-	1/6 (16,7%)
Pilomatricome	-	-	nd	-	-	-	-	0/6
Autre	hémangiome glabellaire	-	cyphose thoraco lombaire pectus excavatum	pectus excavatum	hémangiome glabellaire	maladie de Hodgkin	-	
GENETIQUE								
Taille de la délétion	6, 5Mb	chr16:3214064_5901337 2,68 Mb	Délétion emportant 1 Mb centrométrique et 500 kb télomérique	chr16:3591245_4490301 900 kb	chr16:4199059_3766451 433 kb	qPCR : Ex 2, 12,30	700 kb	
Nombre de gènes	/	50	/	13	2	1	7	

### **c) Phénotype des patients porteurs de délétions dans *EP300***

Au sein de notre cohorte, 6 délétions dans le gène *EP300* ont été identifiées dont deux emportant le gène entier. Le diagnostic a été réalisé dans l'enfance à des âges allant de 2 ans à 10 ans et demi.

Le tableau 3 résume le phénotype des patients (Patients #226 à 231) ainsi que celui des 5 précédents cas rapportés dans la littérature (cas 6 à 10).

Fait notable, les 3 patients présentant une délétion partielle du gène *EP300* ont tous été référés cliniquement comme présentant un syndrome de Rubinstein-Taybi et adressés à notre centre pour analyse moléculaire de confirmation.

En revanche, chez les trois patients présentant soit une délétion complète d'*EP300*, soit une délétion partielle mais emportant d'autres gènes à l'extrémité télomérique d'*EP300* (patients #226, #227 et #228), le diagnostic apparaissait moins évident. En effet, le phénotype n'était pas évocateur de SRT et le diagnostic a été porté à l'occasion d'une CGH-Array pan-génomique, réalisée dans le cadre de leur bilan étiologique génétique.

Nous détaillons ici l'histoire clinique des patients présentant une délétion complète (#226 et #227):

#### Patient #226 :

L'histoire familiale n'est pas informative. On retient un antécédent de fausse-couche spontanée, sans notion de consanguinité parentale. Il n'existe pas d'antécédent familial en termes de déficit intellectuel ou de malformation. La grossesse a été marquée par la mise en évidence d'un retard de croissance intra-utérin associé à une dilatation pyélo-calicielle. L'amniocentèse réalisée retrouvait un caryotype masculin normal.

L'accouchement a eu lieu à 36 semaines d'aménorrhée (SA) par césarienne pour RCIU majeur avec un poids de naissance à 1500 g pour une taille de 47,5 cm et un PC à 34,4 cm.

Par la suite, le patient a évolué avec un retard staturo-pondéral avec microcéphalie et un retard global et sévère du développement psychomoteur avec des troubles du comportement.

En effet, il est noté une cassure de la courbe du PC au-delà de 3 mois, la station assise a été acquise à 12 mois, la marche autonome à 5 ans ½ et il existait une absence de langage oral lors de la dernière évaluation à l'âge de 10 ans ½.

Une encéphalopathie épileptique pharmaco sensible est apparue à l'âge de trois ans associée à l'apparition d'un syndrome pyramidal avec spasticité des membres inférieurs. Il est actuellement bien équilibré sous monothérapie par MICROPAKINE. Il a également présenté des surinfections broncho-pulmonaires à répétition.

A l'examen clinique à 10 ans ½, le patient mesurait 114 cm (-4,4 DS) pour un poids de 17,8 kg (-3 DS) et un PC de 47 cm (-4,7 DS). On retrouvait la microcéphalie avec une dysmorphie faciale associant une rétraction bitemporale, des fentes palpébrales en bas et en dehors, des sourcils très arqués, une dépression de la racine du nez, une lèvre supérieure fine et des oreilles dysplasiques avec un hélix replié (Figure 24). Au niveau des extrémités, on notait un aspect de syndactylie partielle des mains, notamment entre les 2<sup>èmes</sup> et 3<sup>èmes</sup> doigts avec des coussinets pulpaire de type fœtal très marqués, mais sans retenir d'élargissement des premiers rayons.

A l'examen neurologique on retrouvait une hypertonie périphérique avec une diplégie spastique des membres inférieurs ainsi qu'une cypho-scoliose dorso lombaire avec des pieds plats sur le plan orthopédique.

Au niveau des autres anomalies, on retrouvait une dilatation pyélo-calicielle gauche, une bicuspidie aortique, ainsi que de discrètes anomalies de la substance blanche non dégénératives à l'IRM cérébrale associées à une dilatation ventriculaire modérée et un kyste arachnoïdien.



**Figure 24: Phénotype crânio-facial du patient #226.**

On peut noter la rétraction bitemporale, les fentes palpébrales en bas et en dehors et les sourcils très arqués, la racine du nez large et déprimée et les oreilles dysplasiques avec un hélix replié.

Patient #227 :

L'histoire familiale du patient n'est pas informative, sans notion de handicap ou de fausses couches à répétition. Il s'agit du premier enfant d'un couple non apparenté. La grossesse a été marquée par la mise en évidence d'un RCIU sur l'échographie du deuxième trimestre puis d'une menace d'accouchement prématuré (MAP) à 23 SA. Une amniocentèse a été réalisée pour ce RCIU et retrouvait un caryotype masculin normal. A 26 SA est apparue une HTA gravidique. Une césarienne a été réalisée pour anomalies du rythme cardiaque fœtal sur RCIU à 28 SA + 4 jours.

Les paramètres de naissance étaient de 700 g pour le poids pour une taille de 35,2 cm et un PC de 25,5 cm. La période néonatale a été marquée par une ventilation mécanique pendant 20 jours et la découverte d'une dilatation ventriculaire à J4 de vie. La sortie de néonatalogie s'est faite à l'âge de 3 mois.

L'évolution a été marquée par un retard de développement psycho moteur global plutôt modéré avec une marche acquise à 24 mois, avec sur le plan langage, des associations de mots et des petites phrases à 4 ans.

Des troubles du comportement sont apparus par la suite, principalement à type de déficit attentionnel et intolérance à la frustration avec parfois une auto et hétéro agressivité.

Lors de la dernière évaluation clinique à l'âge de 4 ans et 8 mois, on retrouvait un retard de croissance harmonieux avec une taille de 99,5 cm (-2 DS), un poids de 14,1 kg (-2 DS) et un PC à 47,5 cm (-2 DS). L'examen physique retrouvait des particularités morphologiques faciales comme une plagiocéphalie positionnelle, des bosses frontales, deux enchondromes prétragiques gauches avec des dents petites et pointues. On notait également un pli inter-fessier bifide avec deux fossettes. Les mains étaient normales, on relevait juste une clinodactylie au niveau des pieds (Figure 25). Au niveau des organes génitaux, les testicules étaient en place mais il existait un hypospadias avec verge coudée. Le patient présentait également un *pectus excavatus* avec un thorax un peu large.

L'examen neurologique mettait en évidence une diploégie spastique prédominant au niveau des adducteurs avec une marche spastique et des réflexes ostéo-tendineux vifs et diffusés. Ces anomalies ont été mises en lien avec la prématurité.

Il n'existait pas d'autre anomalie associée, en particulier pas de retentissement cardiaque ni d'épisodes de convulsions.



**Figure 25: Evolution du phénotype cranio-facial et aspect des extrémités du patient #227.**

L'aspect facial avait orienté initialement vers un syndrome de Noonan avec la microcéphalie, les fentes palpébrales orientées en bas et en dehors associées au retard de croissance staturo-pondéral ; l'aspect des extrémités était peu spécifique en dehors d'un discret élargissement des deux hallux.



Les quatre autres patients (#228, #229, #230 et #231) présentaient, quant à eux, une délétion intragénique dans le gène *EP300*. Le sex-ratio était équilibré avec 2 filles et 2 garçons. La description phénotypique du patient #228 est malheureusement très limitée en raison du peu de renseignement clinique à notre disposition et de l'absence de photographies jointes au dossier (Figure 26).

### **(1) Période néonatale**

La période néonatale n'a pas été marquée par des problèmes gestationnels majeurs en dehors de deux cas de RCIU chez les patients #228 et #229. Un seul accouchement était prématuré à 35 SA (patient #228).

Les paramètres de naissance étaient globalement situés dans la moyenne basse entre le 10<sup>e</sup> et le 50<sup>e</sup> percentile à l'exception du patient #228, présentant un RCIU, avec des paramètres au 3<sup>e</sup> percentile pour la taille et au 10<sup>e</sup> percentile pour le poids et le PC selon le terme, et du patient #230 inférieur au 3<sup>e</sup> percentile pour le PC. Le PC de naissance du patient #231 n'était pas disponible.

Une hypotonie néonatale était signalée chez deux des trois patients renseignés (#229 et #231).

### **(2) Période pédiatrique**

Sur les 4 patients, seule la moitié d'entre eux a présenté un retard de croissance dans leur évolution (patients #228 et #231). Le retard psychomoteur était relativement modéré puisque les âges d'autonomie à la marche étaient compris entre 14 et 21 mois pour les patients #229, #230 et #231 et plus tardivement chez le patient #228 à 30 mois. Par ailleurs 2 des 3 patients renseignés ne présentaient pas de retard de langage franc avec un âge des premiers mots vers 18 mois (patients #230 et #231).

De la même façon, le déficit intellectuel était rapporté léger chez 2 des 3 patients renseignés avec un QI évalué à 63 pour le patient #230 mais non disponible pour le patient #229. Le patient #231 ne présentait pas de déficit intellectuel avec un QI limite mesuré à 76. Aucun trouble du comportement majeur ou trouble du spectre de l'autisme n'était rapporté chez ces patients à l'exception d'un syndrome dépressif majeur chez la patiente #229 âgée de 20 ans au moment de la description.

Au niveau des complications médicales émaillant l'enfance, il a été rapporté une constipation chronique (#228), un reflux gastro-œsophagien (RGO) sévère (#229) et des infections ORL à répétition (#230).

### **(3) Malformations d'organes**

Très peu de malformations d'organes ont été signalées chez ces 4 patients. On retrouvait simplement un reflux vésico-urétéral chez le patient #231.

De plus des anomalies oculaires mineures ont été retrouvées à type d'hypermétropie (#228) et nystagmus horizontal (#229).

### **(4) Anomalies squelettiques et des extrémités**

Les anomalies typiques des extrémités avec les pouces et hallux larges étaient retrouvées chez l'ensemble des patients en dehors du patient #228 pour qui nous n'avions pas de renseignement. En revanche aucune déviation radiale des pouces ou duplication des premiers rayons n'était observée.

Concernant les autres anomalies squelettiques, on retrouvait uniquement une scoliose importante chez la patiente #229.

### **(5) Dysmorphie crânio-faciale**

De la même façon que pour les extrémités, le phénotype facial n'était pas disponible pour le patient #228 en dehors du fait qu'il présentait une microcéphalie avec une implantation basse des cheveux.

Concernant les trois autres patients, seuls les cils longs avec une racine du nez large et la columelle saillante ainsi qu'une micrognathie étaient des caractéristiques partagées par tous.

L'ensemble des autres aspects crânio-faciaux évocateurs du SRT (Tableau 3) était retrouvé chez 2/3 des patients à l'exception de l'implantation basse des oreilles retrouvée uniquement chez le patient #231. La patiente #229 présentait également une malimplantation dentaire.



**Figure 26: Photographies des patients porteurs de délétions intragéniques d'EP300.**

Evolution du phénotype de la **patiente #229**. La présentation clinique est modérée avec un nez proéminent, une columelle saillante et des sourcils arqués. Les pouces sont normaux avec des hallux un peu élargis ; la **patiente #230** présente des fentes palpébrales en bas et en dehors avec des extrémités évocatrices : des hallux larges avec les dernières phalanges des doigts spatulées ; de la même façon le **patient #231** présente un phénotype modéré.

#### **d) Démarche diagnostique et génotype des patients porteurs de délétions *EP300***

Concernant les patients porteurs de délétions complètes du gène *EP300* :

##### Patient #226 :

Sur le plan étiologique, de nombreuses investigations sont revenues négatives, notamment l'analyse du gène *ARX*, la recherche d'une duplication de *MECP2* et du syndrome d'Angelman. Il a également été évoqué un syndrome de Smith-Magenis, un syndrome de Cornélia de Lange atypique ou encore un syndrome de Kabuki.

La réalisation d'une analyse par puce à ADN pan-génomique a finalement permis la mise en évidence d'une délétion de 1.34 Mb emportant 34 gènes dont le gène *EP300* (figure 27).

##### Patient #227:

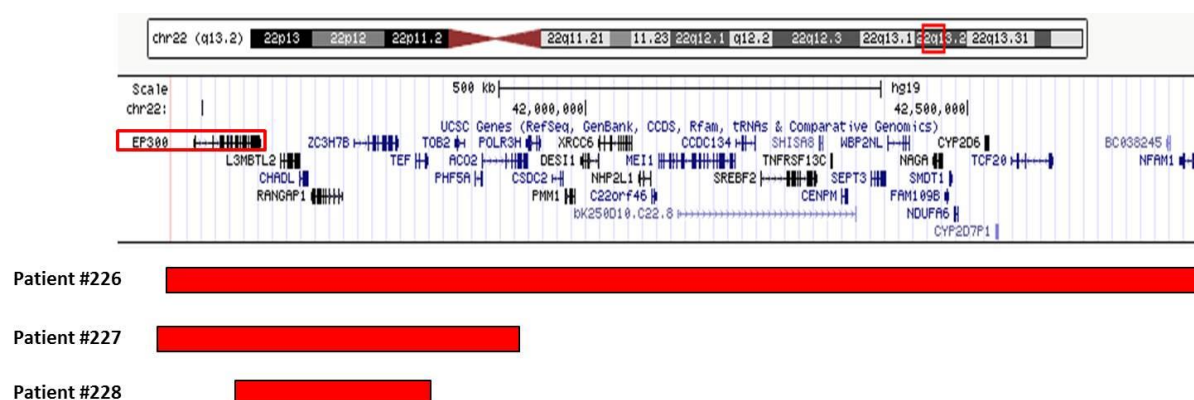
La première évaluation du patient à l'âge de 15 mois, réalisée en raison d'un tableau de retard des acquisitions avec microcéphalie et malformations mineures, n'avait pas permis de retenir d'hypothèse diagnostique évidente.

Au cours des réévaluations un tableau possiblement évocateur de syndrome de Noonan avait abouti à l'analyse des gènes *PTPN11*, *SOS1* et *RAF1* impliqués dans ce syndrome mais sans mutation identifiée.

La réalisation d'une CGH-Array sur le génome entier a alors pu identifier une délétion de la bande q13.2 du chromosome 22 d'environ 480 kb (Figure 27). Cette délétion, emportant l'intégralité du gène *EP300* ainsi que 9 autres gènes, a été présentée lors d'un séminaire pour avis diagnostique.

Devant l'évolution du phénotype, nous avons pu observer des caractéristiques évocatrices de SRT dans une forme modérée avec des fentes palpébrales en bas et en dehors, des sourcils arqués, une lèvre supérieure fine, une absence de déviation ou de pouce large, mais la présence de coussinets pulpaire de type fœtal et des hallux un peu larges. Ce phénotype modéré était alors compatible avec une forme liée à une altération dans *EP300*, nous permettant de conclure au diagnostic de SRT chez ce patient à l'âge de 3 ans et demie.

Le patient #228 a initialement été analysé pour un syndrome de Silver-Russell avant de bénéficier d'une puce à ADN pan-génomique dans le cadre du bilan étiologique. Il présentait une délétion de 251.8kb emportant les exons 12 à 31 du gène *EP300* mais également 5 autres gènes situés du côté télomérique d'*EP300* : *L3MBTL2*, *CHADL*, *RANGAP1*, *ZC3H7B* et *TEF* (Figure 27).



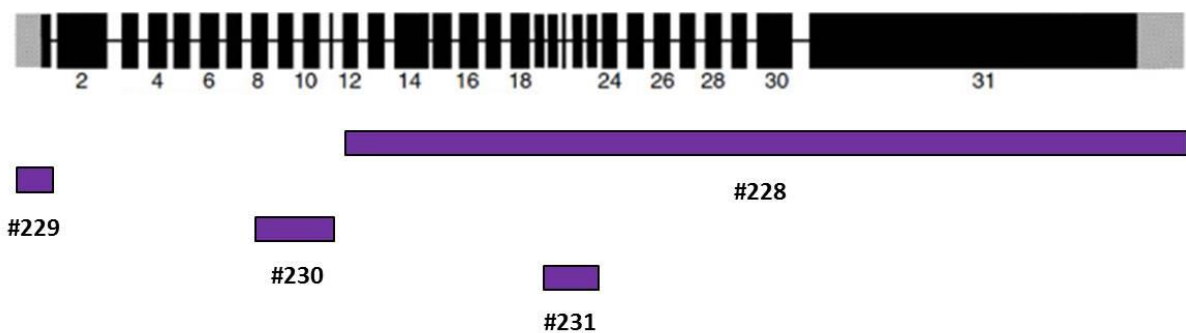
**Figure 27: Représentation schématique de la localisation des délétions *EP300*.**

Le patient #226 est porteur d'une délétion de 1,34 Mb emportant *EP300* et 33 autres gènes représentés ci-dessus ; le patient #227 est porteur d'une délétion de 480 kb emportant *EP300* et 8 autres gènes : *L3MBTL2*, *CHADL*, *RANGAP1*, *ZC3H7B*, *TEF*, *TOB2*, *PHF5A* et une partie d'*ACO2* ; le patient #228 est porteur d'une délétion de 251,8 kb emportant les exons 12 à 31 du gène *EP300* et 5 autres gènes : *L3MBTL2*, *CHADL*, *RANGAP1*, *ZC3H7B* et *TEF*. Le gène *EP300* est encadré en rouge. A partir de <sup>180</sup>.

Concernant les délétions intragéniques retrouvées chez les 4 autres patients :

Ces patients ont tous été détectés grâce à la puce à ADN ciblée sur les gènes *CREBBP* et *EP300* mis au point dans notre centre.

Les 3 autres délétions n'affectaient pas d'autre gène qu'*EP300* et étaient d'une taille de 14,8 kb (promoteur et exon 1), 10 kb (exon 8 à 11) et 7,5 kb (exons 20 à 23) respectivement chez les patients #229, #230 et #231 (Figure 28).



**Figure 28: Représentation schématique des 31 exons du gène *EP300* avec la localisation des délétions intragéniques.**

**Patient #228** : porteur d'une délétion de 251,8 kb emportant les exons 12 à 31 du gène *EP300* et 5 autres gènes en position télomérique d'*EP300* ; **patient #229** : porteur d'une délétion de 14,795 kb emportant le promoteur et l'exon 1 du gène ; **patient #230** : porteur d'une délétion de 10 kb emportant les exons 8 à 11 ; le **patient #231** porteur d'une délétion de 7,5 kb emportant les exons 20 à 23.

**Tableau 3: Comparaison des patients porteurs d'une délétion complète d'EP300 issus de notre cohorte et de la littérature.**

nd: non déterminé; ne: non évaluable

Patient N°	#226	#227	#228	#229	#230	#231	cas 6	cas 7	cas 8	cas 9	cas 10
<b>Rapport</b>	notre cohorte	notre cohorte	notre cohorte	notre cohorte	notre cohorte	notre cohorte	Foley <i>et al.</i>	Tsai <i>et al.</i>	Negri <i>et al.</i> 2015	Negri <i>et al.</i> 2016	Negri <i>et al.</i> 2016
<b>Sexe</b>	M	M	M	F	F	M	M	F	F	F	M
<b>Age au diagnostic / à la description</b>	10 ans 1/2	4 ans	8 ans	nd / 20 ans	4 ans / 4 ans	3 ans	3 ans et 5m	34m	22m	6 ans	11 ans 5m
<b>GROSSESSE</b>											
Terme (SA)	36	28 + 4j	35 + 2j	38 + 5j	38	41 + 5j	32	33	nd	38	35 + 4j
Hydramnios	nd	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RCIU	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-
Autre	-	HTA gravidique	-	-	-	-	pré-éclampsie et HELLP syndrome	pré-éclampsie	-	-	HTA gravidique
<b>NAISSANCE</b>											
Poids (g)	1500	700	2010	3120	2430	3270	1700	nd	nd	2300	2250
Taille (cm)	47,5	35,2	42	50	45	50	45	nd	nd	48	46
PC (cm)	34,4	25,5	32	33	31	nd	29,5	nd	nd	31	30
<b>ENFANCE</b>											
Retard de croissance	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
Langage (âge des premiers mots)	pas de langage verbal	retard (30)	nd	retard	retard (18m)	normal	retard	retard (34m)	nd	retard (18m)	retard (10 mots à 11 ans)
Age de la marche > 17m	+ (5 ans 1/2)	+ (24m)	+ (30m)	+ (19m)	+ (21m)	- (14 m)	+ (24m)	+ (18)	nd	+ (18)	+ (18)
<b>ASPECTS CRANIO-FACIAUX</b>											
Microcéphalie	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Hypertrichose	+	-	nd	nd	+	+	+	+	+	+	-
Implantation basse des cheveux	+	-	+	+	+	-	-	-	-	nd	nd
Sourcils arqués	+	-	nd	+	+	-	+	+	-	+	+
Cils longs	+	-	nd	+	+	+	+	+	+	+	+
Rétraction bitemporale	+	-	nd	-	-	+	-	-	-	+	+
Nez proéminent	-	-	nd	+	-	+	-	+	-	-	+
Racine du nez large	+	-	nd	+	+	+	+	+	-	+	-
Columelle saillante	-	+	nd	+	+	+	+	+	+	+	+
Déviation du septum nasal	-	-	nd	+	+	-	-	-	nd	+	+

Fentes palpébrales en bas et en dehors	+	+	nd	-	+	+	+	+	-	-	-
Fentes palpébrales en haut et en dehors	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	+	+
Fentes palpébrales horizontales	-	-	nd	+	-	-	-	-	+	-	-
Replis épicanthiques	+	+	nd	-	-	-	-	-	nd	-	-
Palais ogival	-	+	nd	+	-	+	nd	+	-	+	+
Micrognathie	+	-	nd	+	+	+	-	-	-	-	+
Oreilles basses implantées	-	-	nd	-	-	+	-	-	nd	-	-
Autre	-	face triangulaire, grand front, bosses frontales, dents petites et pointues, lèvres fines deux enchondromes pretragiers droits	nd	malimplantation dentaire	-	-	-	synophris modéré	-	-	petite bouche, maxillaire proéminent
<b>ANOMALIES OCULAIRES</b>											
Strabisme	+	+	nd	-	-	-	-	-	+	+	-
Myopie	+	nd	nd	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	-	nd	nd	nystagmus	-	-	-	-	-	astigmatisme, hypermetropie	anomalies au fond d'œil
<b>EXTREMITES</b>											
<b>Clinique</b>											
Pouces larges	-	+	nd	+	+	+	-	-	+	+	+
Déviaton radiale du pouce	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinodactylie des V <sup>e</sup> doigts	-	+	nd	+	-	-	-	-	-	-	-
Hallux larges	-	+	nd	+	+	+	+	-	+	+	+
Déviaton en varus	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-
Déviaton en valgus	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-
Autre	pieds plats	-	nd	-	-	-	-	pieds plats	-	doigts palmés, ongles hyperconvexes	-
<b>Radiographies</b>											
Duplication de la phalange distale du pouce	-	nd	nd	-	-	+	nd	-	-	-	-
Elargissement de la phalange distale du pouce	-	nd	nd	-	-	+	nd	-	-	-	-
Duplication de l'hallux	-	nd	nd	+	-	-	nd	-	-	-	-
Hallux élargi	-	nd	nd	-	+	-	nd	-	-	-	-
Brachytéléphalangie	+	+	nd	-	+	-	-	-	-	-	-



SYSTEME NERVEUX CENTRAL											
Hypotonie	-	-	nd	+	-	+	nd	+	nd	nd	nd
Déficit intellectuel	+ (sévère)	+ (modéré)	+ (léger)	+ (léger)	+ (léger; QI=63)	+ (modéré)	+ (modéré)	+ (modéré)	+ (léger)	+ (léger)	+ (modéré)
Epilepsie	+	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	+
Troubles du spectre de l'autisme	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Troubles du comportement	+	-	-	-	-	-	-	hyperactivité	-	interactions sociales pauvres	hyperphagie, comportement agressif et troubles du sommeil
IRM cérébrale	corps calleux mince et dysplasique	dilatation des ventricules latéraux	malformation de dandy-walker	-	nd	-	nd	-	hypoplasie du corps calleux	dilatation des ventricules latéraux	midline soft tissue angioma
MALFORMATIONS D'ORGANE											
Cardiovasculaire	-	CIV	nd	-	-	-	nd	-	-	-	QT long
Génitale	-	verge coudée hypospadias	nd	-	-	-	cryptorchidie	-	-	-	hydrocèle
Arbre urinaire	dilatation pyélocalicielle gauche	-	nd	-	-	vesoureteral reflux	-	-	-	-	-
Autre	-	-	constipation	RGO sévère	infections ORL à répétition	-	infections ORL à répétition	-	RGO, hypoacousie de transmission modérée	splénomégalie modérée	anémie microcytaire, stéatose hépatique, constipation sévère
AUTRES ANOMALIES											
Scoliose	+	-	nd	+	-	-	nd	-	-	+	kyphose cervicale
Mamelon surnuméraire	-	-	nd	-	-	-	nd	nd	nd	-	-
Obésité	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	+
Cicatrice chéloïde	-	-	nd	-	-	-	nd	nd	-	-	+
Pilomatricome	-	-	nd	-	-	-	nd	nd	+	-	-
Autre	-	pli interfessier bifide, deux fossettes thorax large, pectus excavatus	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GENETIQUE											
Taille de délétion	1,34 Mb	480 kb	251,8 kb	14,795 kb	10 kb	7,5 kb	/	/	/	/	376 kb
Localisation	chr22:41461711_42810963	chr22:41431490_41911525	chr22:41543758_41795596	chr22:41482263_41497058	chr22:41533381_41543435	chr22:41556074_41563532	c.(729+1_730-1)(1760+1_1761-1)del	c.(3774+1_3775-1)(4452+1_4453-1)del	c.(3141+1_3142-1)(3590+1_3591-1)del	c.(3141+1_3142-1)(3501+1_3502-1)del	chr22:41461711_41837399
Nombre de gènes	34	9	Exons 12 à 31: EP300 + 5 autres gènes	5'UTR et exon 1: EP300	Exons 8 à 11: EP300	Exons 20 à 23: EP300	Exons 3 à 8: EP300	Exons 24 à 27: EP300	Exons 17 et 18: EP300	Exons 17 à 19: EP300	6

## **2. Description des variants faux-sens pathogènes**

Sur notre cohorte de 255 patients atteints de SRT prouvé sur le plan moléculaire, 32 (12.5%) étaient porteurs d'une mutation faux-sens (29 dans *CREBBP* et 3 dans *EP300*). Les données phénotypiques de ces patients sont présentées dans le tableau 4 et illustrées dans les figures 29 et 30.

### **a) Phénotype des patients porteurs de mutations faux-sens dans *CREBBP* et *EP300***

Les 32 patients présentant des mutations faux-sens comprenaient 22 hommes et 10 femmes. Le diagnostic était porté dans l'enfance dans la majorité des cas (23 patients diagnostiqués cliniquement entre 1 et 12 ans). Cependant le diagnostic était parfois évocateur dès les premiers jours (#58, #65 et #69) ou mois de vie (#61) ou au contraire très tardif à l'adolescence (#52 et #59) voire à l'âge adulte (#64, #71 et #73).

#### **(1) Période pré et néonatale**

Les grossesses se sont généralement déroulées sans particularité. Un seul cas de RCIU était noté (#57) ainsi que deux diabètes gestationnels (#53 et #55). Quatre accouchements étaient prématurés mais avec un seul cas de grande prématurité à 27 SA et 6 jours (#65) dans un contexte de grossesse gémellaire.

Une hypotonie néonatale a été retrouvée dans moins de la moitié des cas (10/24; 41,7%).

#### **(2) Période pédiatrique**

Le retard de croissance était présent dans plus de 70% des cas (22/30). Le retard moteur était modéré puisque l'acquisition de la marche s'est faite normalement chez 6 patients sur les 21 renseignés ou dans des âges compris entre 18 et 31 mois. Cela à l'exception des patients #51, #64 et #234 qui ont acquis la marche respectivement à 3 ans ½, 4 ans et 7 ans.

En revanche le retard de langage était constant, retrouvé chez les 20 patients renseignés avec des premiers mots apparus vers l'âge de 12 mois (#72) et jusqu'à l'âge de 5 ans (#64 et #68).

Cela n'était pas toujours corrélé dans l'évolution avec le degré de déficit intellectuel puisque 5 patients ne présentaient pas de DI lors des évaluations sur les 27 cas renseignés (#49, #50, #65, #70 et #74) et 6 patients présentaient des formes légères (#52, #55, #56, #68, #72 et #73). Cinq patients de cette cohorte présentaient en revanche des retards sévères (#51, #63, #64, #71 et #234).

Des troubles du comportement n'ont été signalés que dans un quart des cas (6/24) principalement à type de déficit attentionnel et d'hyperactivité, et deux patients présentaient des troubles du spectre de l'autisme (TSA) (#76 et #234).

On notait une susceptibilité accrue aux infections qu'elles soient ORL, pulmonaires ou conjonctivales chez 12 des patients ainsi que des troubles sévères de l'alimentation chez 5 patients. Vingt pour cent des patients ont par la suite évolué avec une obésité.

### **(3) Malformations d'organes**

Les anomalies les plus fréquemment rencontrées étaient les anomalies oculaires dans 67,9% des cas, principalement à type de strabisme dans 53,6% des cas (19/28). Des anomalies plus rares ont été rencontrées comme une microsphérophakie (#67), une mégalocornée congénitale (#76) ou encore une hypoplasie du nerf optique (#232).

Les anomalies cardiaques et génitales touchaient environ un quart des patients. Sur les 7 anomalies génitales observées, 6 étaient des cryptorchidies et un cas d'hydrocèle.

Sur les 6 patients présentant des malformations rénales, 2 présentaient une dilatation pyélocalicelle bilatérale (#66 et #67) et le patient #234 évoluait avec une agénésie rénale gauche diagnostiquée en anténatale. Les trois patients avec une polykystose rénale (#72, #73 et #74) représentent une situation différente puisqu'il s'agit d'une forme familiale chez un père et ses deux fils par mutation du gène *PKDI*.

Un seul patient de cette cohorte (#234) a présenté une épilepsie.

#### **(4) Anomalies squelettiques et des extrémités**

Les hallux larges étaient constants chez les 32 patients avec une déviation des hallux présente dans près de la moitié des cas (13/31). Les pouces larges étaient très fréquemment retrouvés mais pas constants (28/32 ; 87.5%) associés à une déviation radiale dans 22,6% des cas (7/31).

Une syndactylie II-III des orteils était constatée chez les patients #61, #62 et #232 ainsi qu'une duplication de l'hallux chez le patient #63.

Une scoliose était également notée chez 2 patients (#60 et #234).

#### **(5) Dysmorphie crânio-faciale**

Concernant les critères mineurs faciaux, quand cela était documenté, les cils longs (27/29) et l'aspect nasal proméminent (29/31) avec la racine du nez large (27/31) et la columelle saillante (30/32) étaient presque universellement présents.

La microcéphalie, l'hypertrichose, l'implantation basse des cheveux, les sourcils arqués et la micrognathie étaient également des critères fréquemment rencontrés, partagés par plus de 2/3 des patients.

Des anomalies dentaires, à type de malimplantation dentaire ou retard d'éruption étaient retrouvées chez 6 patients (#52, #54, #55, #59, #64 et #68).

#### **b) Génotype des patients porteurs de mutations faux-sens**

Sur les 32 patients porteurs de mutations faux-sens dans notre cohorte, 29 étaient mutés dans le gène *CREBBP* (Patients #48 à #76) et 3 dans le gène *EP300* (Patients #2232 à #234) (Tableau 4).

Les 3 patients mutés *EP300* ainsi que 23 des 29 patients mutés dans *CREBBP* étaient porteurs de mutations faux-sens localisées dans le domaine KAT soit 81.3% des variants identifiés.

Six de ces patients (Patients #52 à #57) étaient porteurs de la mutation récurrente<sup>11,12,164</sup> du domaine PHD (c.3832G>A / p.Glu1278Lys), localisé à la partie N-terminale du domaine KAT de *CREBBP*.

Le patient #48 était muté dans l'exon 1 de *CREBBP* correspondant au domaine d'interaction avec les récepteurs nucléaires (c.38A>T / p.Lys13Ile).

Les patients #49 et #50 étaient porteurs de la même mutation dans l'exon 8 (c.1801C>T / p.Arg601Trp), correspondant au domaine KIX, impliqué dans l'interaction avec le facteur de transcription CREB.

La patiente #51 était mutée dans l'exon 18 au niveau du bromodomaine de la protéine CBP (c.3609G>C / p.Lys1203Asn).

Enfin les patients #75 et #76 étaient mutés respectivement à la fin de l'exon 30 (c.5129G>A / p.Cys1710Tyr) et dans l'exon 31 (c.5357G>C / p.Arg1786Pro), correspondant au domaine C/H3 de CBP.

L'ensemble de ces mutations était prédit pathogène selon les logiciels de prédiction *in silico*. Le caractère *de novo* de la mutation n'a pas pu être déterminé chez 4 patients (#49, #65, #69 et #71) en raison de l'absence de prélèvement parental disponible.

La mutation était d'apparition *de novo* chez 23 patients (Tableau 4). Une mosaïque germinale a été mise en évidence chez une fille et son petit frère (#63 et #64), qui présentaient une mutation faux-sens au niveau du domaine KAT (c.3832G>A / p.Glu1278Lys). Ces deux patients ont été précédemment rapportés dans la littérature par notre équipe<sup>179</sup>.

Nous avons également identifié une forme familiale de SRT où ségrégeait la mutation c.4894T>G / p.Phe1632Val à la fin du domaine KAT, chez un père et deux de ses trois fils.



**Figure 29: Photographies des patients #49 à #64, porteurs de mutation faux-sens.**

Photographies non disponibles pour les patients #48, #52, #54 et #55.





**Figure 30: Photographies des patients #65 à #76 et #232 à 234, porteurs de mutation faux-sens.**

Photographies non disponibles pour les patients #70, #72 et #75.

**Tableau 4: Phénotypes et génotypes des 32 patients porteurs d'une mutation faux-sens.**

nd: non déterminé; ne: non évaluable ; patients #48 à #76: mutation *CREBBP*; patients #232, #233 et #234: mutation *EP300*

Patient N°	#48	#49	#50	#51	#52	#53	#54	#55	#56	#57	#58
Sexe	M	M	F	F	M	F	M	F	M	F	M
Age au diagnostic / à la description	6 ans / 8 ans	5 ans	8 ans	9 ans	16 ans	6 m	8 ans	8 ans 1/2	2 ans 1/12	4 ans 3 mois	J1
<b>GROSSESSE</b>											
Terme (SA)	38	38	37	40	40	41	41	39	41	35 + 3j	40
Hydramnios	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd
RCIU	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	nd
Autre	-	MAP	-	-	-	diabète gestationnel	-	diabète gestationnel	-	-	nd
<b>NAISSANCE</b>											
Poids (g)	3500	2990	3480	2800	3790	2960	3520	2820	3000	1940	3015
Taille (cm)	50	48	48	-	51	48	50	49,5	48	45	51
PC (cm)	nd	35	nd	-	nd	33	34	32,5	33	30,5	32,4
<b>ENFANCE</b>											
Retard de croissance	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	ne
Langage (âge des premiers mots)	+ (vers 3 ans 1/2)	retard	retard (2 ans 1/2)	retard (4 ans 1/2)	retard (2 ans)	ne	retard	retard (2 ans 1/2)	retard	retard (3 ans et 3m)	ne
Age de la marche > 17m	+ (2 ans 1/2)	+ (18m)	+ (24m)	+ (3 ans 1/2)	+ (18m)	ne	+ (22m)	- (16m)	-	+ (31m)	ne
<b>ASPECTS CRANIO-FACIAUX</b>											
Microcéphalie	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Hypertrichose	nd	-	+	nd	-	+	+	-	-	+	+
Implantation basse des cheveux	nd	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Sourcils arqués	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	nd
Cils longs	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	nd
Rétraction bitemporale	nd	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+
Nez proéminent	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Racine du nez large	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
Columelle saillante	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-



Déviation du septum nasal	nd	-	-	-	-	-	nd	-	-	-	-
Fentes palpébrales en bas et en dehors	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-
Fentes palpébrales en haut et en dehors	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Fentes palpébrales horizontales	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+
Replis épicanthiques	nd	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+
Palais ogival	nd	nd	+	nd	+	+	+	+	nd	-	nd
Micrognathie	nd	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
Oreilles basses implantées	nd	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+
Lèvre supérieure fine	nd	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-
Autre	-	oreilles en rotation postérieure	oreilles en rotation postérieure	-	retard d'éruption avec malimplantation dentaire	-	retard d'éruption dentaire	malimplantation dentaire; oreilles en rotation postérieure	-	-	-
<b>ANOMALIES OCULAIRES</b>											
Strabisme	nd	-	-	+	-	+	-	nd	-	+	ne
Myopie	nd	-	-	+	-	-	-	nd	-	-	ne
Autre	nd	astigmatisme	nystagmus	nd	hypermétropie	-	-	nd	-	hypermetropie	ne
<b>EXTREMITES</b>											
<b>Clinique</b>											
Pouces larges	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Déviations radiales du pouce	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
Clinodactylie des V <sup>e</sup> doigts	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
Hallux larges	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Déviations en varus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Déviations en valgus	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Radiographies</b>											
Duplication de la phalange distale du pouce	nd	-	nd	nd	-	-	-	-	-	-	nd
Élargissement de la phalange distale du pouce	nd	-	nd	nd	nd	+	+	+	-	-	nd
Duplication de l'hallux	nd	-	nd	nd	-	-	-	-	-	-	nd
Hallux élargi	nd	-	nd	nd	nd	+	+	+	+	+	nd
Brachytéléphalangie	nd	-	+	nd	+	+	+	-	-	+	nd

SYSTEME NERVEUX CENTRAL											
Hypotonie	nd	+	nd	-	nd	+	-	-	+	+	nd
Déficit intellectuel	+ (modéré)	- (limite; QI=70)	- (limite; QI=79)	+ (sévère)	+ (léger; QI=67)	ne	+ (modéré; QI=55)	+ (léger)	+ (léger)	+ (moderate)	ne
Epilepsie	nd	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	nd
Troubles du spectre de l'autisme	-	-	-	nd	-	-	-	-	-	-	ne
Troubles du comportement	-	-	-	nd	-	-	déficit attentionnel et impulsivité	-	-	stéréotypies motrices labilité émotionnelle	na
IRM cérébrale	nd	-	-	nd	-	nd	nd	-	nd	nd	nd
MALFORMATIONS D'ORGANE											
Cardiovasculaire	nd	nd	-	nd	-	hypertrophie ventriculaire gauche	-	nd	-	-	nd
Génitale	cryptorchidie	cryptorchidie	-	-	-	-	-	nd	cryptorchidie	-	nd
Arbre urinaire	nd	nd	-	nd	-	-	-	nd	-	-	nd
Autre	-	infections ORL à répétition	infections ORL et conjonctivites à répétition	nd	infections ORL à répétition; constipation	Troubles sévères de l'alimentation avec RGO	infections ORL à répétition	infections ORL à répétition	-	infections ORL à répétition ; RGO	myéломéningocèle
AUTRES ANOMALIES											
Scoliose	nd	+	-	-	-	-	-	-	-	-	ne
Mamelon surnuméraire	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd
Obésité	nd	-	-	-	+	-	+	-	-	-	ne
Cicatrice chéloïde	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ne
Pilomatricome	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ne
Autre	-	-	-	-	-	-	-	pectus excavatum	-	-	hémangiome glabellaire
GENETIQUE											
Exon	1	8	8	18	21	21	21	21	21	21	24
Domaine	récepteur nucléaire	KIX	KIX	Bromo	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT
Mutation	c.38A>T / p.Lys13Ile	c.1801C>T / p.Arg601Trp	c.1801C>T / p.Arg601Trp	c.3609G>C / p.Lys1203Asn	c.3832G>A p.Glu1278Lys	c.3832G>A p.Glu1278Lys	c.3832G>A p.Glu1278Lys	c.3832G>A p.Glu1278Lys	c.3832G>A p.Glu1278Lys	c.3832G>A p.Glu1278Lys	c.4013T>C / p.Leu1338Ser
Commentaire	De novo	nd	De novo	De novo	De novo	De novo	De novo	De novo	De novo	De novo	De novo

Patient N°	#59	#60	#61	#62	#63	#64	#65	#66	#67	#68	#69
Sexe	M	M	M	M	M	F	M	M	M	M	M
Age au diagnostic / à la description	17 ans	14 m	20 jours/ 8m	4 ans 1/2	10 ans	19 ans	J1 / 4m	1 an	5 ans /3 ans	2 ans 11m	J1 / 3 ans 1/2
<b>GROSSESSE</b>											
Terme (SA)	nd	39	38	41	nd	41	27 + 6j	36	40	37	42
Hydramnios	nd	-	-	-	nd	-	-	+	-	-	-
RCIU	nd	-	-	-	nd	-	-	-	-	-	-
Autre	nd	-	atrésie pulmonaire à septum intact	-	nd	-	grossesse gémellaire	pieds bots bilatéraux	-	-	-
<b>NAISSANCE</b>											
Poids (g)	nd	2550	3400	3695	nd	4000	980	nd	3100	2360	3500
Taille (cm)	nd	46	51	51	nd	nd	34	nd	50	nd	49,5
PC (cm)	nd	nd	33,5	34	nd	nd	24,6	nd	33,5	nd	34
<b>ENFANCE</b>											
Retard de croissance	+	+	+	-	-	+	+	nd	+	+	+
Langage (âge des premiers mots)	nd	ne	ne	retard (12m)	nd	retard (5 ans)	ne	nd	retard	retard (7-8 mots à 5 ans)	retard (3 ans)
Age de la marche > 17m	nd	ne	ne	- (17m)	nd	+ (4 ans)	ne	nd	+	+ (24m)	+ (30m)
<b>ASPECTS CRANIO-FACIAUX</b>											
Microcéphalie	+	+	+	+	-	-	+	nd	-	+	+
Hypertrichose	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Implantation basse des cheveux	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
Sourcils arqués	+	-	-	+	+	+	+	nd	-	+	-
Cils longs	+	+	+	+	+	+	+	nd	+	+	+
Rétraction bitemporale	+	-	-	-	+	+	+	nd	-	+	+
Nez proéminent	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Racine du nez large	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Columelle saillante	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Déviaton du septum nasal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fentes palpébrales en bas et en dehors	+	-	-	-	+	+	+	nd	-	+	+
Fentes palpébrales en haut et en dehors	-	-	-	-	-	-	-	nd	-	-	-

Fentes palpébrales horizontales	-	+	+	+	-	-	-	nd	+	-	-
Replis épicanthiques	+	+	-	+	-	-	-	nd	+	-	+
Palais ogival	+	nd	-	+	+	+	-	nd	nd	+	+
Micrognathie	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
Oreilles basses implantées	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
Lèvre supérieure fine	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+
Autre	anomalies d'implantation dentaire	oreilles en rotation postérieure	-	-	-	malimplantation dentaire; oreilles en rotation postérieure	oreilles en rotation postérieure	-	-	oreilles en rotation postérieure; retard d'éruption dentaire	-
<b>ANOMALIES OCULAIRES</b>											
Strabisme	+	+	+	+	-	+	+	ne	+	-	+
Myopie	-	-	ne	-	nd	-	-	ne	+	-	+
Autre	-	hypermétropie	ne	-	nd	-	-	ne	microsphérophakie ptosis bilatéral	-	Anomalies papillaires malformatives type colobomateux à droite et fossette papillaire à gauche
<b>EXTREMITES</b>											
<b>Clinique</b>											
Pouces larges	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Déviaton radiale du pouce	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-
Clinodactylie des V <sup>e</sup> doigts	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
Hallux larges	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Déviaton en varus	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Déviaton en valgus	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
Autre	-	-	syndactylie II-III des orteils	syndactylie II-III des orteils	-	-	-	-	-	-	-
<b>Radiographies</b>											
Duplication de la phalange distale du pouce	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Elargissement de la phalange distale du pouce	nd	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+
Duplication de l'hallux	nd	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Hallux élargi	nd	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+
Brachytéléphalangie	nd	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-

SYSTEME NERVEUX CENTRAL											
Hypotonie	-	+	+	-	+	nd	-	+	+	-	+
Déficit intellectuel	+ (modéré)	ne	ne	+ (modéré; QI=46)	+ (sévère)	+ (sévère)	-	+ (degré ?)	+ (degré ?)	+ (léger; QI=63)	+ (sévère)
Epilepsie	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Troubles du spectre de l'autisme	-	ne	ne	nd	-	-	ne	-	nd	-	-
Troubles du comportement	nd	-	ne	nd	-	-	ne	-	nd	hyperactivité	-
IRM cérébrale	nd	nd	nd	nd	-	démyélinisation postérieure sus-tentoriale	-	-	-	nd	nd
MALFORMATIONS D'ORGANE											
Cardiovasculaire	-	nd	atrésie pulmonaire à septum intact	nd	-	-	canal artériel persistant	-	-	-	-
Génitale	-	nd	-	hydrocèle droite	-	-	-	cryptorchidie avec micropénis	-	cryptorchidie	-
Arbre urinaire	-	nd	-	-	-	-	-	dilatation pyélocalicielle bilatérale	dilatation pyélocalicielle bilatérale	-	-
Autre	troubles sévères de l'alimentation avec RGO	troubles sévères de l'alimentation; conjonctivites à répétition	-	conjonctivites à répétition	-	-	bronchodysplasie	-	-	infections ORL à répétition	infections pulmonaires à répétition; troubles sévères de l'alimentation
AUTRES ANOMALIES											
Scoliose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mamelon surnuméraire	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	-	-
Obésité	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Cicatrice chéloïde	-	-	-	-	-	+	-	-	nd	-	-
Pilomatricome	-	-	-	-	-	-	-	-	nd	-	-
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	cyphose thoraco lombaire	hémangiome glabellaire	hémangiome glabellaire
GENETIQUE											
Exon	24	25	26	26	26	26	26	27	27	27	27
Domaine	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT
Mutation	c.4112T>G / p.Val1371Gly	C.4280G>C / p.Arg1427Thr	c.4298A>G / p.Tyr1433Cys	c.4340C>T / p.Th1447Ile	c.4361T>A / p.Leu1454His	c.4361T>A / p.Leu1454His	c.4366G>A / p.Gly1456Arg	c.4445A>G / p.Tyr1482Cys	c.4481C>G / p.Pro1494Arg	c.4559A>G / p.Lys1520Arg	c.4559A>G / p.Lys1520Arg
Commentaire	<i>De novo</i>	<i>De novo</i>	<i>De novo</i>	<i>De novo</i>	mosaïque germinale	mosaïque germinale	nd	<i>De novo</i>	<i>De novo</i>	<i>De novo</i>	nd

Patient N°	#70	#71	#72	#73	#74	#75	#76	#232	#233	#234	Synthèse
Sexe	F	M	M	M	M	F	M	M	F	F	22M/10F
Age au diagnostic / à la description	3 ans /14 ans	48 ans	12 ans / 13 ans	42 ans	9 ans	8 ans	2 ans	6 ans	6 ans 1/2	8 ans / 8 ans	
<b>GROSSESSE</b>											
Terme (SA)	40	nd	40	nd	39	39	40	35	38	38	4 prématurités /30 (13,3%)
Hydramnios	-	nd	-	nd	-	nd	-	-	-	-	1/26 (3,8%)
RCIU	-	nd	-	nd	-	nd	-	-	-	-	1/26 (3,8%)
Autre	-	nd	-	nd	-	-	-	-	-	agénésie rénale gauche	
<b>NAISSANCE</b>											
Poids (g)	3200	nd	3120	nd	3350	3150	3650	2250	2900	2850	
Taille (cm)	50	nd	49,5	nd	50	49	50	44,5	48	48	
PC (cm)	nd	nd	36	nd	nd	nd	36	31	32	34	
<b>ENFANCE</b>											
Retard de croissance	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	22/30 (73,3%)
Langage (âge des premiers mots)	retard	nd	nd	nd	nd	retard sévère	retard (20m)	retard (36m)	retard (25m)	retard (courtes phrases à 8 ans)	20/20 (100%)
Age de la marche > 17m	+(24m)	nd	-(12m)	nd	nd	+(18m)	+(>20m)	-(15m)	-(16m)	+(7 ans)	15/21 (71,4%)
<b>ASPECTS CRANIO-FACIAUX</b>											
Microcéphalie	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	22/31 (71%)
Hypertrichose	-	nd	nd	nd	nd	nd	-	+	na	+	16/24 (66,7%)
Implantation basse des cheveux	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	24/31 (77,4%)
Sourcils arqués	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	20/30 (66,7%)
Cils longs	+	+	+	+	+	nd	+	+	-	+	27/29 (93,1%)
Rétraction bitemporale	+	+	+	-	+	+	-	+	+	na	19/29 (65,5%)
Nez proéminent	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	29/31 (93,5%)
Racine du nez large	+	+	-	+	+	nd	+	+	+	+	27/31 (87,1%)
Columelle saillante	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	30/32 (97,8%)
Déviations du septum nasal	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	2/30 (6,7%)
Fentes palpébrales en bas et en dehors	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	17/31 (54,8%)
Fentes palpébrales en haut et en dehors	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	2/31 (6,5%)

Fentes palpébrales horizontales	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	12/31 (38,7%)
Replis épicanthiques	-	+	+	-	-	nd	-	+	-	-	14/29 (4,8%)
Palais ogival	-	nd	-	-	+	+	-	-	+	+	15/23 (65,2%)
Micrognathie	+	+	-	-	+	nd	+	-	+	+	20/30 (66,7%)
Oreilles basses implantées	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	18/31 (58,1%)
Lèvre supérieure fine	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	16/31 (51,6%)
Autre	-	-	oreilles en rotation postérieure	-	oreilles en rotation postérieure	oreilles en rotation postérieure	-	-	-	-	
<b>ANOMALIES OCULAIRES</b>											19/28 (67,9%)
Strabisme	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	15/28 (53,6%)
Myopie	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3/25 (12%)
Autre	-	-	-	-	-	nd	mégaloconée congénitale	hypoplasie du nerf optique	-	-	9/25 (36%)
<b>EXTREMITES</b>											
<b>Clinique</b>											
Pouces larges	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	28/32 (87,5%)
Déviaton radiale du pouce	-	-	-	-	-	nd	-	-	-	-	7/31 (22,6%)
Clinodactylie des V <sup>e</sup> doigts	+	-	-	-	-	nd	-	+	-	nd	9/30 (30%)
Hallux larges	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	32/32 (100%)
Déviaton en varus	-	-	-	+	+	nd	+	-	-	-	5/31 (16,1%)
Déviaton en valgus	+	+	-	-	-	nd	-	-	+	+	8/31 (25,8%)
Autre	-	-	-	-	-	-	-	syndactylie II-III des orteils	-	-	
<b>Radiographies</b>											
Duplication de la phalange distale du pouce	nd	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	0/25
Elargissement de la phalange distale du pouce	nd	nd	+	+	+	+	-	+	-	+	14/24 (58,3%)
Duplication de l'hallux	nd	nd	-	-	-	nd	-	-	-	-	1/24 (4,2%)
Hallux élargi	nd	nd	+	+	+	nd	-	-	-	-	13/23(56,5%)
Brachytéléphalangie	nd	nd	+	-	+	nd	-	-	-	-	9/25 (36%)
<b>SYSTEME NERVEUX CENTRAL</b>											
Hypotonie	-	nd	-	-	+	nd	-	-	-	nd	10/24 (41,7%)
Déficit intellectuel	- (QI=99)	+ (sévère)	+ (léger)	+ léger	- limite (QI 7 <sup>-</sup> )	nd	+ (modéré)	+ (modéré)	+	+ (sévère)	22/27 (81,5%)

Epilepsie	-	-	-	-	-	nd	-	-	-	+	1/28 (3,6%)
Troubles du spectre de l'autisme	-	-	-	-	-	nd	+	-	-	+	2/24 (8,3%)
Troubles du comportement	-	troubles du comportement avec syndrome dépressif	-	-	-	nd	-	-	déficit attentionnel et hyperactivité	auto agressivité	6/24 (25%)
IRM cérébrale	nd	nd	-	nd	nd	nd	-	syringomyélie	corps calleux fin (segment fin)	séquelle de chirurgie cardiaque	4/14 (28,6%)
<b>MALFORMATIONS D'ORGANE</b>											
Cardiovasculaire	canal artériel persistant	-	-	-	-	nd	-	épaississement des valves aortiques et mitrales	-	tétralogie de Fallot	6/24 (25%)
Génitale	-	-	-	-	-	nd	cryptorchidie	-	-	-	7/28 (25%)
Arbre urinaire	-	-	polykystose rénale familiale mutation <i>PKD1</i>	polykystose rénale familiale mutation <i>PKD1</i>	polykystose rénale familiale mutation <i>PKD1</i>	nd	-	-	-	agénésie rénale gauche	6/25 (24%)
Autre	-	-	-	-	-	infections ORL et pulmonaire à répétition	infections ORL et conjonctivites à répétition; troubles sévères de l'alimentation	-	-	-	
<b>AUTRES ANOMALIES</b>											
Scoliose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2/30 (6,7%)
Mamelon surnuméraire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/29
Obésité	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	6/30 (20%)
Cicatrice chéloïde	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	1/28 (3,6%)
Pilomatricome	-	nd	-	-	-	-	-	nd	nd	nd	0/25
Autre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>GENETIQUE</b>											
<b>Exon</b>	28	29	30	30	30	30	31	23	26	27	
<b>Domaine</b>	KAT	KAT	KAT	KAT	KAT	CH/3	CH/3	KAT	KAT	KAT	
<b>Mutation</b>	c.4627G>T / p.Asp1543Tyr	c.4883A>C / p.His1628Pro	c.4894 T>G / p.Phe1632Val	c.4894 T>G / p.Phe1632Val	c.4894 T>G / p.Phe1632Val	c.5129G>A / p.Cys1710Tyr	c.5357G>C / p.Arg1786Pro	c.3857A>G / p.Asn1286Ser	c.4238T>A / p.Val1413Asp	c.4301A>G / p.His1434Arg	
<b>Commentaire</b>	<i>De novo</i>	nd	Forme familiale	Forme familiale	Forme familiale	<i>De novo</i>	<i>De novo</i>	<i>De novo</i>	<i>De novo</i>	<i>De novo</i>	



### **C. Etude de 5 patients par WES, avec un phénotype de SRT sans mutation identifiée dans CREBBP ou EP300**

Sur l'ensemble des patients analysés dans notre centre avec analyse négative pour *CREBBP* et *EP300*, cinq ont donc été retenus pour une analyse de l'exome complet par stratégie d'analyse en trio. Les patients sélectionnés présentaient un phénotype allant de formes typiques (patients B., C. et E.) à des formes plus modérées (patients A. et D.) pouvant s'apparenter à des phénotypes *EP300*.

L'objectif était donc de tenter d'identifier des gènes candidats en couvrant un spectre large de phénotype SRT.

#### **1. Description phénotypique**

##### Patient A.

Cette patiente est l'aînée d'une fratrie de deux enfants issus d'un couple apparenté cousins germains. Le couple a eu deux fausses couches spontanées précoces et un deuxième enfant, un garçon, en parfaite santé. Il n'y a par ailleurs pas d'antécédent familial remarquable, évocateur des signes présents chez la patiente.

La description clinique réalisée à l'âge de 5 ans et 3 mois montre l'association :

- De difficultés alimentaires importantes avec vomissements, pleurs, cris et reflux gastro-œsophagien sévère,
- D'un retard de développement portant essentiellement dans le domaine du graphisme et du langage alors que la motricité est relativement conservée (marche à 13 mois),
- De difficultés comportementales avec une grande émotivité et des accès de colère,
- D'une fragilité osseuse dans un contexte d'hyperthyroïdie par maladie de Basedow,
- L'IRM cérébrale et l'EEG réalisés étaient sans anomalie.

L'examen clinique réalisé retrouve une taille de 102 cm (-1,43 DS) et une microcéphalie relative à 47 cm (-2,2 DS). On note des éléments dysmorphiques crânio-faciaux : une microstomie avec des lèvres très fines, un philtrum peu marqué, une micrognathie, des sourcils fins et arqués, un nez busqué, avec un léger hypertélorisme et un comblement périorbitaire (Figure 31). On retrouve une tache achromique au niveau de la cuisse droite et des dents de petite taille.

Au niveau des extrémités, on note une clinodactylie des cinquièmes doigts sans anomalie des pouces. Aux membres inférieurs, on constate une brièveté de tous les orteils avec une ébauche de syndactylie et des hallux un peu larges (Figure 26).



**Figure 31: Phénotype crânio-facial et aspect des extrémités de la patiente A.**

On peut noter l'aspect caractéristique lors du sourire avec les sourcils arqués, les cils longs, les replis épicanthiques, la racine du nez large avec la columelle saillante et la lèvre supérieure fine. Au niveau des extrémités, les pouces apparaissent normaux et les hallux légèrement élargis.

## Patient B.

L'histoire familiale n'est pas informative. La patiente a une sœur aînée et une demi-sœur plus jeune du côté maternel, toutes deux bien portantes. On ne retient pas d'antécédent familial, pas de notion de fausse couche chez un couple non apparenté. La grossesse et l'accouchement se sont déroulés sans particularité. Les paramètres de naissance étaient globalement à la médiane avec un poids de 3580 g, une taille de 50 cm pour un PC de 34 cm.

Par la suite, la patiente a évolué avec un retard psychomoteur présentant une station assise à 11 mois, une marche non acquise à 20 mois et un retard de langage avec une répétition dissyllabique à 20 mois.

La description clinique initiale, réalisée à 20 mois, retrouvait une taille à 74 cm (-2,30 DS), un poids de 9,3 kg (-1,40 DS) et un PC à 45 cm (-1,83 DS). L'examen clinique retrouvait des critères mineurs faciaux associant : une fontanelle antérieure large avec retard de fermeture, une notion d'hypertrichose chez le nouveau-né, une implantation basse des cheveux au niveau de la nuque, des sourcils marqués dans leur partie proximale, des bosses frontales, une rétraction bitemporale, une racine du nez proéminente avec un nez marqué, des fentes palpébrales orientées en bas et en dehors, des replis épicanthiques, une lèvre supérieure fine, une rétrognathie et un palais ogival.

Au niveau des mains, on notait des gros pouces avec déviation radiale et des phalanges distales élargies des autres doigts. Au niveau des pieds, les hallux étaient larges avec une duplication radiologique. Le reste de l'examen était marqué par un hémangiome glabellaire, un certain degré d'hyperlaxité ligamentaire et un retard d'éruption dentaire.

L'évolution a été marquée par un retard des acquisitions prédominant sur le langage avec une prise en charge en Institut Médico-Educatif (IME) dès l'âge de 10 ans, une tendance à la constipation, des anomalies oculaires à type de strabisme, hypermétropie et astigmatisme, et surtout un retard de croissance avec un surpoids classiquement décrits dans ce syndrome. En effet, à 13 ans et 10 mois, la patiente mesure 132 cm (-4,5 DS) avec un PC à 51 cm (-2,5 DS) pour un poids de 46kg (médiane). Malheureusement, nous n'avons pas pu récupérer de photographies concernant cette patiente.

### Patient C.

L'histoire familiale n'est pas contributive. Le patient est un garçon, premier enfant d'un couple non apparenté et a quatre demi-frères et sœurs du côté maternel. La grossesse a été marquée par un RCIU harmonieux dès le deuxième trimestre de gestation. L'accouchement a été eutocique à 37 SA avec des paramètres confirmant le RCIU (poids à 2100 g et taille à 43 cm). L'hypothèse diagnostique a été posée dès la naissance.

L'examen clinique initial, réalisé à 9 mois, retrouvait des critères mineurs faciaux : un hémangiome glabellaire, des replis épicanthiques, des fentes palpébrales orientées en bas et en dehors, une lèvre supérieure fine, des oreilles basses implantées en rotation postérieure, un aspect au sourire caractéristique et un palais ogival (Figure 32).

Au niveau des mains, on notait des pouces larges avec déviation radiale. Au niveau des pieds, on remarquait des gros orteils larges avec un chevauchement des orteils et une polydactylie post-axiale bilatérale (Figure 27). On notait également une cryptorchidie et au niveau oculaire, un strabisme avec hypermétropie et astigmatisme.



**Figure 32: Phénotype crânio-facial et aspect des extrémités du patient C.**

Au niveau facial on note des fentes palpébrales orientées en bas et en dehors avec des replis épicanthiques, des sourcils arqués avec des cils longs, un hypertélorisme avec racine du nez large, une columelle saillante, une lèvre supérieure fine et un hémangiome de la glabelle ; l'aspect des extrémités est caractéristique avec des hallux larges et une déviation en valgus à gauche et des pouces larges avec déviation radiale bilatérale.

### Patient D.

Il n'y a pas d'histoire familiale particulière. La patiente est la troisième enfant d'un couple non apparenté. La grossesse a été marquée par un RCIU homogène, inférieur au 3<sup>e</sup> percentile qui a conduit à déclencher l'accouchement à 38 SA + 2 jours (2250 g, pour une taille de 40 cm et un PC de 31 cm). L'histoire naturelle a principalement été marquée par une septicémie sur infection urinaire à 3 mois ½ de vie nécessitant un séjour en réanimation pédiatrique. Elle garde comme séquelle une ischémie distale avec une nécrose distale des orteils.

Le retard psychomoteur a été noté précocement avec une absence de déplacement à 9 mois, une tenue assise sans appui acquise à l'âge de 12 mois et une marche acquise vers 30 mois avec des difficultés pour se relever.

La description clinique à l'âge de 11 ans notait un retard de croissance staturo-pondéral avec une microcéphalie (PC à 46 cm (-4 DS) pour une taille de 132 cm (-1,5 DS) et un poids à 25 kg (-1,5 DS)). Au niveau de la morphologie faciale, on retrouvait des sourcils longs et fins, une racine du nez large avec un nez proéminent, une lèvre supérieure fine avec une micro-rétrognathie, des oreilles basses implantées en rotation postérieure. Au niveau des extrémités, on notait simplement une syndactylie II-III des orteils (Figure 33).

Concernant les autres anomalies, la patiente présentait une malimplantation dentaire, sur le plan oculaire un strabisme avec myopie et énoptalmie, un mamelon surnuméraire droit et une scoliose avec un *pectus excavatum*. Une dysgénésie antérieure du corps calleux a également été retrouvée à l'IRM cérébrale.

Par la suite la patiente a évolué sans trouble du comportement majeur mais avec un retard global des acquisitions prédominant sur le plan mnésique et du graphisme.



**Figure 33: Phénotype crânio-facial de la patiente D.**

Le phénotype est plus modéré ; on retrouve la racine du nez large avec un nez légèrement busqué et une saillie modérée de la columelle. Les photographies des extrémités n'étaient pas disponibles.

## Patient E.

L'histoire familiale n'est pas informative. La grossesse et l'accouchement se sont déroulés sans problème particulier. Le diagnostic clinique a été évoqué sur un retard des acquisitions vers l'âge de 18 mois. La patiente a évolué avec un retard psychomoteur avec une acquisition de la marche à 27 mois et un retard de langage.

A l'examen initial dans notre centre de référence à l'âge de 4 ans ½, la patiente évoluait sans retard staturo-pondéral mais avec une microcéphalie relative avec une taille de 105.5cm (+1.5 DS) pour un poids de 19 kg (+1,5 DS) et un PC à 50 cm (-0,5 DS). L'aspect facial était typique du SRT avec une implantation basse des cheveux, des cils longs, une rétraction bitemporale, un nez proéminent avec une columelle saillante, des replis épicanthiques, une lèvre supérieure fine, une rétrognathie et un palais ogival.

Les extrémités étaient caractéristiques avec des pouces larges avec une légère déviation radiale, des grosses phalanges distales des autres doigts et des coussinets pulpaire de type fœtal. Les gros orteils sont larges (Figure 34). Sur le plan dentaire, on constatait une incisive bifide inférieure (31-32) et des cuspides surnuméraires (55-75-85). Par ailleurs, on notait la présence de deux pilomatrichomes au niveau de l'avant-bras droit, qui sont des tumeurs bénignes classiquement décrites dans le SRT ainsi qu'un mamelon surnuméraire. L'examen ophtalmologique était normal.

La patiente a par la suite évolué sans retard staturo-pondéral avec un retard modéré des acquisitions et un trouble attentionnel avec hyperactivité.





**Figure 34: Phénotype crânio-facial et aspect des extrémités de la patiente E.**

Au niveau facial, on retrouve l'aspect caractéristique au sourire, des sourcils arqués avec des cils longs, une racine du nez large avec un nez busqué et une columelle saillante ; l'aspect des extrémités est typique avec des hallux larges et des pouces larges avec aspect spatulé des phalanges distales des doigts.



## 2. Résultats du séquençage d'exome

### a) Identification des variants

Après analyse des exomes des 5 familles en trio, nous avons filtré les variants pour conserver ceux qui étaient *de novo*, rares (fréquence inférieure à 0.1% dans les bases de données HapMap, EVS, 1000Genome et inférieure à 1% dans IntegraGen) et perte de fonction (non-sens, décalage du cadre de lecture) ou d'épissage (+/- 2 nucléotides de part et d'autre des exons).

Sur les 5 patients étudiés, nous avons ainsi retenu 27 mutations dont 24 pertes de fonction (23 mutations non-sens et 1 mutation avec décalage du cadre de lecture) et 3 mutations d'épissage (Tableau 5).

Sur l'ensemble des mutations identifiées, un seul gène est retrouvé muté chez 2 patients. Il s'agit du *TNXB* où ségrégent les mutations non-sens c.9381C>A / p.Tyr3127\* et c.8059G>T / p.Glu2687\* respectivement chez les patients A. et E.

D'autre part, le patient A. est porteur d'une mutation non-sens dans l'exon 1 du gène *ALDH5A1* (c.289G>T / p.Glu97\*). Ce gène fait partie de la liste des 459 gènes inclus dans le panel de gènes réalisé au CHU de Strasbourg qui regroupe, à l'heure actuelle, l'ensemble des gènes connus pour être impliqués dans le déficit intellectuel.

**Tableau 5: Résumé des variants *de novo* rares identifiés chez les 5 patients par WES.**

Patient	Chromosome	Gène	Refseq	Localisation	Mutation	Variation protéique	Type de mutation
A.	chr6	<i>ALDH5A1</i>	NM_170740	Exon 1	c.289G>T	p.Glu97*	non-sens
A.	chr10	<i>BAMBI</i>	NM_012342	Exon 1	c.51C>A	p.Cys17*	non-sens
A.	chr12	<i>EEA1</i>	NM_003566	Exon 4	c.271G>T	p.Glu91*	non-sens
A.	chr13	<i>NBEA</i>	NM_015678	Exon 16	c.2192C>A	p.Ser731*	non-sens
A.	chr16	<i>MYH11</i>	NM_001040114	Intron 10	c.1055-1G>T	p. ?	épissage
B.	chr5	<i>WDR70</i>	NM_018034	Exon 7	c.637G>T	p.Gly213*	non-sens
B.	chr5	<i>COL23A1</i>	NM_173465	Exon 11	c.701_702ins19	p.Lys234Asnfs*9	delins
B.	chr19	<i>GNG8</i>	NM_033258	Exon 1	c.28G>T	p.Glu10*	non-sens
C.	chr6	<i>TNXB</i>	NM_019105	Exon 27	c.9381C>A	p.Tyr3127*	non-sens
C.	chr8	<i>PUF60</i>	NM_078480	Exon 4	c.219C>A	p.Tyr73*	non-sens
C.	chr11	<i>PNPLA2</i>	NM_020376	Exon 7	c.892G>T	p.Glu298*	non-sens
C.	chr17	<i>RAPGEFL1</i>	NM_016339	Exon 9	c.798C>A	p.Cys266*	non-sens
C.	chr19	<i>MLLT1</i>	NM_005934	Exon 7	c.1174G>T	p.Glu392*	non-sens
C.	chrX	<i>PCDH11X</i>	NM_032968	Exon 2	c.664G>T	p.Glu222*	non-sens
D.	chr2	<i>SEMA4F</i>	NM_004263	Exon 1	c.116C>A	p.Ser39*	non-sens
D.	chr2	<i>ARPC2</i>	NM_152862	Exon 2	c.37G>T	p.Glu13*	non-sens
D.	chr6	<i>HSP90AB1</i>	NM_001271969	Exon 9	c.1411G>T	p.Glu471*	non-sens
D.	chr8	<i>ADCK5</i>	NM_174922	Exon 10	c.1045G>T	p.Glu349*	non-sens
D.	chr8	<i>KIFC2</i>	NM_145754	Exon 1	c.17C>A	p.Ser6*	non-sens
D.	chr15	<i>SCAPER</i>	NM_020843	Intron 19	c.2509-1G>T	p. ?	épissage
D.	chr17	<i>ASB16</i>	NM_080863	Exon 1	c.10G>T	p.Glu4*	non-sens
D.	chr19	<i>BCL2L12</i>	NM_138639	Exon 3	c.376G>T	p.Glu126*	non-sens
D.	chr19	<i>PPFIA3</i>	NM_003660	Intron 9	c.1162-1G>T	p. ?	épissage
E.	chr3	<i>LIMD1</i>	NM_014240	Exon 7	c.1869C>A	p.Tyr623*	non-sens
E.	chr5	<i>FAM81B</i>	NM_152548	Exon 9	c.1039G>T	p.Glu347*	non-sens
E.	chr6	<i>TNXB</i>	NM_019105	Exon 23	c.8059G>T	p.Glu2687*	non-sens
E.	chr16	<i>CMTM3</i>	NM_181553	Exon 1	c.142G>T	p.Glu48*	non-sens

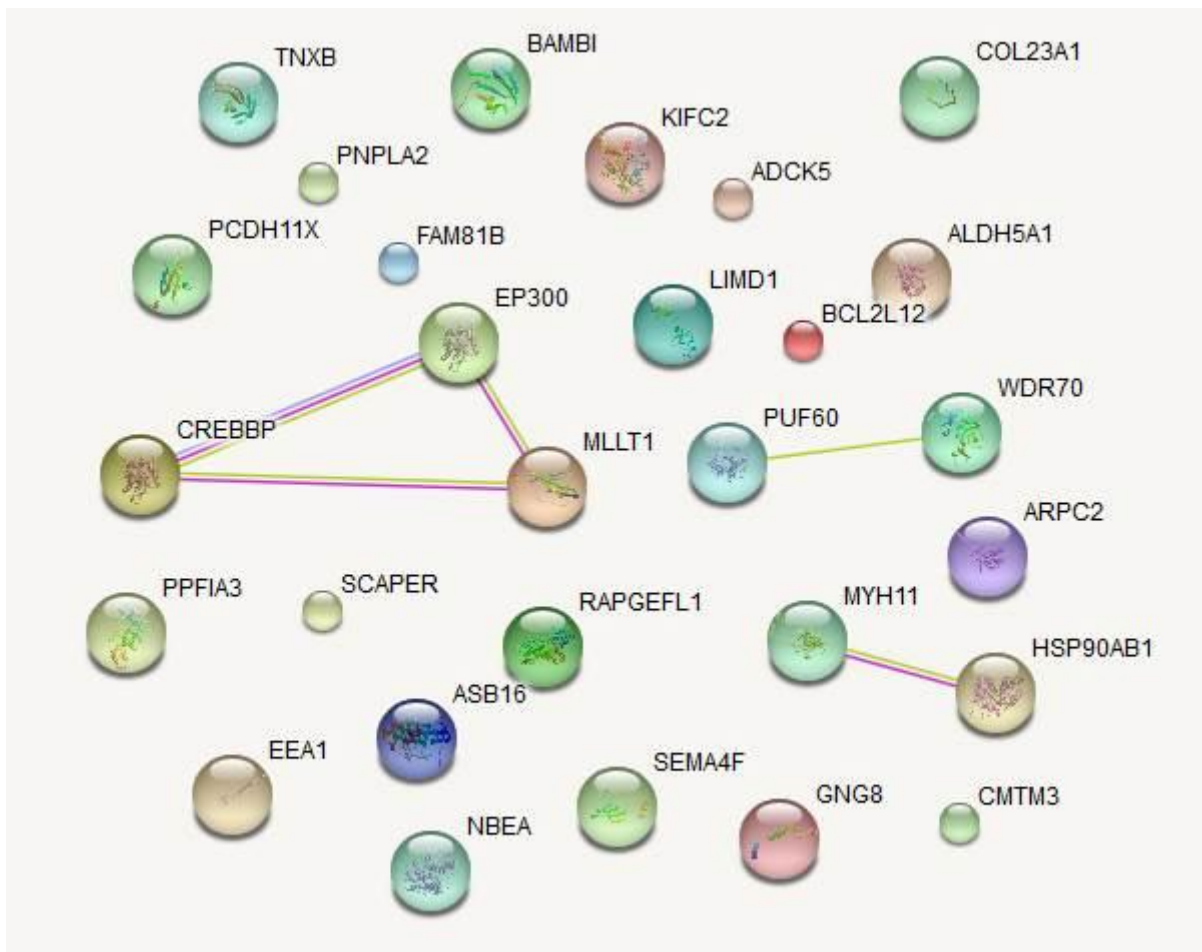
## b) Réseau d'interaction protéine-protéine

Nous avons également réalisé une analyse fonctionnelle *in silico* sur les variants sélectionnés afin de tenter de mettre en évidence des voies d'interaction commune et leur relation éventuelle avec *CREBBP* et *EP300*.

Pour cela nous avons utilisé le logiciel de réseau d'interaction protéine-protéine *STRING*<sup>178</sup>.

Sur les 26 différents gènes mutés identifiés chez nos 5 patients, seul le gène *MLLT1* codait une protéine interagissant avec CPB et p300 (Figure 35).

Le patient C. est porteur de la mutation non-sens c.1174G>T / p.Glu392\* dans l'exon 7 du gène *MLLT1*.



**Figure 35: Réseau d'interaction protéine-protéine permettant de visualiser le degré d'interaction entre les gènes des variants identifiés avec *CREBBP* et *EP300*.**

Les liaisons violettes indiquent une similarité de séquence protéique ; les liaisons roses indiquent des liaisons prouvées après études expérimentales ; les liaisons vertes indiquent une interaction évoquée dans la littérature sans preuve expérimentale.

## IV. Discussion

Le syndrome de Rubinstein-Taybi est une anomalie génétique rare du neurodéveloppement due à des mutations dans deux gènes paralogues *CREBBP* et *EP300*, qui sont responsables respectivement de 55%<sup>2,8-15</sup> et 8%<sup>9,16-20</sup> des patients diagnostiqués cliniquement. Le mécanisme prédominant aboutissant au phénotype est l'haplo-insuffisance d'un des deux gènes<sup>8</sup>, causée non seulement par des microremaniements comme cela a été identifié initialement<sup>144-146</sup> mais également par des mutations ponctuelles.

La découverte des fonctions épigénétiques des protéines CBP et p300, en tant que co-activateurs transcriptionnels, a permis de montrer leur implication dans la plasticité neuronale et la cognition<sup>9,21</sup> à travers leur rôle majeur dans le remodelage chromatinien et notamment par leur activité d'acétylation des histones.

En effet, différents modèles murins de SRT ont ainsi montré l'impact des mutations de *CREBBP* ou *EP300* dans le développement des apprentissages et de la mémoire<sup>36,84,99</sup> et ont également reproduit certains aspects crânio-faciaux ou malformations d'organes rencontrés chez les patients atteints de SRT<sup>79,95</sup>.

En revanche, rapportées à l'Homme, les corrélations phénotype/génotype dans ce syndrome restent difficiles à établir en raison de la prévalence rare de cette maladie et l'absence de réel « point chaud » de mutations avec des altérations génétiques distribuées tout le long des 31 exons pour *CREBBP* comme pour *EP300*<sup>10,154,163-165</sup>. Il a uniquement été montré un phénotype, en général, plus modéré chez les patients porteurs de mutations dans *EP300*, à la fois sur les caractéristiques squelettiques mais également sur le degré de déficience intellectuelle, en comparaison des patients avec mutations de *CREBBP*. Cette hétérogénéité génétique et phénotypique a ainsi abouti à la création de deux entrées distinctes dans la base de données OMIM : les cas de SRT associés à des mutations *CREBBP* sont référencés comme RSTS1 (MIM #180849) et les cas liés à des mutations *EP300* sont référencés comme RSTS2 (MIM #613684).

Par ailleurs, malgré les progrès récents et exponentiels du séquençage du génome humain depuis la découverte du locus 16p13.3 responsable du SRT en 1991<sup>143</sup>, environ 30 à 40% des patients présentant un diagnostic clinique de SRT restent aujourd'hui sans diagnostic moléculaire. L'émergence des techniques de séquençage de nouvelle génération et notamment de l'exome entier, vise à combler, sinon à réduire, ce vide diagnostique.

Dans cette étude, nous avons rapporté l'ensemble des mutations identifiées chez les patients adressés dans notre centre pour un diagnostic clinique de SRT, depuis l'instauration de l'analyse moléculaire du syndrome dans notre laboratoire en 1993 jusqu'à aujourd'hui. Une étude préliminaire visant à mieux comprendre l'hétérogénéité phénotypique et génétique du syndrome a également pu être réalisée chez 5 familles avec un enfant atteint de SRT sans preuve moléculaire identifiée.

### **A. Spectre mutationnel de notre cohorte Rubinstein-Taybi**

Les patients de l'ensemble des centres de référence de génétique de France nous ont été adressés. Mais cette cohorte comprend également des patients suivis en Espagne, Belgique, Canada, Maroc, Danemark ou encore Serbie. Cette expertise diagnostique de notre centre, à la fois sur le plan clinique et moléculaire, nous a permis de constituer une des principales cohortes mondiales actuellement rapportées dans ce syndrome.

D'un point de vue méthodologique, ce travail s'est focalisé uniquement sur l'analyse des génotypes et des phénotypes des patients diagnostiqués sur le plan moléculaire pour *CREBBP* ou *EP300*.

Ainsi, sur les 463 patients analysés dans notre centre de référence au CHU de Bordeaux entre 1993 et décembre 2015, aucune mutation n'a pu être identifiée chez 208 d'entre eux.

Nous n'avons pas repris l'ensemble des phénotypes des patients négatifs. Une des perspectives concernant l'étude de notre cohorte serait de reprendre en détail chaque cas négatif. Nous pourrions ainsi caractériser au mieux le phénotype de ces patients, afin de les catégoriser en SRT typique, probable, ou sans rapport avec un SRT. Cette analyse nous permettrait alors de comparer nos résultats avec les chiffres de la littérature, établissant le diagnostic moléculaire des patients atteints de SRT autour de 65%.

#### **1. Rendement diagnostique**

L'analyse génétique des 463 patients a ainsi permis de diagnostiquer 255 patients soit 55,1% des cas dont 48,6% avec mutation dans *CREBBP* et 6,5% dans *EP300*. Ces résultats sont donc légèrement inférieurs aux taux de rendement diagnostique rapporté dans la littérature mais comme nous l'avons vu, il convient de rester prudent sur l'interprétation de ces chiffres en raison de l'absence de nouvelle analyse des phénotypes des patients non mutés.

Cependant, d'autres facteurs interviennent pouvant expliquer ces chiffres. D'une part, l'évolution des techniques et la découverte d'*EP300* comme deuxième cause de SRT ont progressivement abouti à un meilleur taux de diagnostic chez les patients. Cependant, les patients dont l'analyse moléculaire est revenue négative n'ont pas actuellement tous pu bénéficier des techniques d'analyse les plus récentes par NGS et CGH-Array, permettant de réduire le taux des éventuels faux négatifs. De plus, au sein de ces patients, ceux analysés avant 2005 n'ont pas non plus tous bénéficié de l'analyse complémentaire du gène *EP300*. Pour d'autre, l'impossibilité d'obtenir un nouvel échantillon d'ADN n'a pas permis la poursuite des analyses.

D'autre part, l'expressivité très variable du phénotype, notamment à travers la constatation d'une présentation clinique plus modérée voire atypique chez des patients porteurs de mutations *EP300* a pu modifier ce taux de détection. En effet, les critères cliniques retenus chez les patients pour justifier l'analyse moléculaire sont désormais moins stricts afin de ne pas méconnaître un diagnostic avec présentation clinique plus modérée. Le corollaire de cela est donc le recrutement de probables faux positifs pour l'analyse, du moins pour les deux gènes actuellement connus comme étant responsables de SRT.

## **2. Mutations identifiées dans *CREBBP***

Sur les 225 patients porteurs d'une mutation dans *CREBBP*, 198 altérations différentes ont été retrouvées à l'état hétérozygote. Ainsi, aucune mutation homozygote de *CREBBP* ou de double hétérozygotie *CREBBP/EP300* n'a été identifiée chez nos patients, suggérant que ces profils alléliques sont probablement létaux comme cela a été démontré chez le modèle murin<sup>64,79,92</sup>.

Certaines d'entre elles ont déjà été rapportées précédemment par notre équipe<sup>12,154,167,179</sup> mais 145 de ces mutations n'ont jamais été décrites dans la littérature ou dans la base LOVD.

Comme cela a déjà été rapporté<sup>164,165</sup>, l'extrême majorité de ces mutations a été retrouvée *de novo*, à l'exception d'une mosaïque germinale chez l'un des parents de deux frère et sœur d'une famille marocaine, déjà précédemment rapportée par notre équipe<sup>179</sup>, et d'une forme familiale chez un père et ses deux fils (patients #72, #73 et #74) que nous détaillerons ultérieurement.

En regardant en détail le spectre de ces 198 mutations différentes dans *CREBBP* de notre cohorte, on constate que les mutations ponctuelles représentent 76.8% des variants identifiés, contre 23.2% de réarrangements chromosomiques (dont 21.7% de délétions). Ces chiffres sont donc cohérents avec ceux de l'ensemble des variants référencés dans la base HGMD<sup>152</sup> (cf. section III. D. 2. ; tableau S1) La contribution des délétions dans le spectre mutationnel de *CREBBP* était initialement estimée à environ 10%<sup>164</sup> mais les travaux plus récents de Rusconi *et al.*<sup>156</sup>, ainsi que nos résultats, indiquent que cette contribution peut aujourd'hui être évaluée à au moins 20%. L'évolution des techniques d'analyse et notamment la mise au point d'une puce à ADN ciblée a permis d'affiner et de préciser ce spectre mutationnel.

La similitude de nos résultats avec ceux de la littérature valide nos techniques d'analyse ainsi que notre expertise dans l'interprétation des variants pour le diagnostic du SRT au sein de notre laboratoire. D'autre part, cela permet également de confirmer cette répartition comme étant le véritable spectre mutationnel des patients porteurs de mutation dans *CREBBP*.

Nous rapportons ici la première mutation synonyme définie comme pathogène. Il s'agit de la mutation c.3609G>A / p.Lys1203Lys au niveau de l'exon 18 chez le patient #225, présentant un phénotype typique de SRT. Après analyse d'épissage sur l'ARN extrait à partir de sang total, ce variant aboutit à un saut d'exon entraînant la perte du bromodomaine de CBP empêchant donc le recrutement de CREB, facteur de transcription indispensable à son initiation.

Le gène *CREBBP* présente peu de polymorphismes et seulement quelques mutations récurrentes ont été rapportées dans la littérature<sup>11,163</sup>, cependant dans notre étude nous avons retrouvé 27 récurrences de mutations soit 12% des cas. Nous confirmons ainsi certaines mutations récurrentes dont la plus fréquente est la mutation faux-sens de l'exon 21 au niveau du domaine KAT (c.3832G>A / p.Glu1278Lys)<sup>11</sup> qui a été identifiée chez 6 de nos patients.

Nous avons également mis en évidence une délétion en phase d'une Sérine (c.5039\_5041delCCT / p.Ser1680del) localisée dans l'exon 30 correspondant à la terminaison du domaine KAT chez 3 patients de notre cohorte (patients #222, #223 et #224). Cette délétion en phase a déjà été rapportée par Schorry *et al.*<sup>164</sup> et dans LOVD<sup>153</sup> mais sans détail concernant le phénotype des patients.

Cependant, nos 3 patients présentaient un phénotype sévère. En effet 2 des patients ont évolué avec un retard sévère de développement psychomoteur et le patient #223 était un fœtus féminin chez qui a été effectuée une interruption médicale de grossesse à 35 SA en raison d'un retard de croissance sévère et harmonieux associé à un hydramnios et des critères dysmorphiques. A l'autopsie, il a été retrouvé le retard de croissance avec les caractéristiques typiques de la face et des extrémités du SRT mais également un utérus bicorne associé à une cardiopathie avec dilatation de l'aorte ascendante.

Nous pouvons alors suggérer que cette Sérine joue un rôle majeur dans le maintien de l'activité du domaine KAT. Des études fonctionnelles sur ce variant ainsi que la récurrence de cette mutation chez des patients avec une description phénotypique précise nous permettraient d'étayer cette hypothèse.

Nous avons également pu mettre en évidence des mutations récurrentes dans notre cohorte qui n'avaient jamais été rapportées dans la littérature. Ces mutations étaient toutes des variants non-sens et ont été retrouvées chacune chez au moins deux patients non apparentés :

- Exon 5 : c.1237C>T / p.Arg413\* (patients #146 et #147)
- Exon 6 : c.1447C>T / p.Arg483\* (patients #152 et #153)
- Exon 14 : c.2755C>T / p.Gln919\* (patients #164, #165 et #166)
- Exon 17 : c.3352C>T / p.Gln1118\* (patients #172 et #173)
- Exon 27 : c.4492C>T / p.Arg1498\* (patients #181 et 182)

Nous suggérons donc que ces 5 variants s'ajoutent aux mutations récurrentes déjà rapportées dans le spectre mutationnel de *CREBBP*.

En dehors de ces quelques récurrences, il n'existe pas de réel *hot spot* de mutations dans *CREBBP* puisque les mutations identifiées dans notre étude sont distribuées tout le long des 31 exons du gène comme cela a déjà été rapporté dans d'autres études<sup>2,12,163,165</sup>.

Cependant, à la lumière de nos résultats, deux exceptions semblent se dégager. Tout d'abord, la grande majorité de nos mutations faux-sens sont localisées au sein du domaine KAT (15/19 soit 78.9% des cas). Ces résultats en accord avec la littérature<sup>9,164,165</sup> et associés à des études fonctionnelles sur des variants faux-sens de *CREBBP*, localisés dans le domaine KAT<sup>11</sup> confirment l'implication majeure de l'activité KAT de la protéine CBP sur le phénotype du SRT.



Ensuite, nous confirmons que la région instable comprise entre les introns 1 et 2 de *CREBBP*, caractérisée par une fréquence importante de séquences répétées et palindromiques<sup>155</sup> contient de nombreux points de cassure, comme cela a déjà été décrit<sup>15,154,166,181</sup>. En effet, dans notre cohorte, 14 des 44 délétions et 2 des 3 duplications identifiées de *CREBBP*, soit 34% des cas, présentent un point de cassure situé dans cette région.

### 3. Mutations identifiées dans *EP300*

Notre analyse nous a permis d'identifier 30 variations considérées comme pathogènes dans *EP300*. Ces mutations ont été retrouvées *de novo* à l'état hétérozygote sans récurrence au sein des patients de notre cohorte. Vingt sept de ces 30 mutations sont rapportées pour la première fois. Trois mutations ont déjà été décrites dans la littérature (Patients #235, #237 et #250)<sup>20,157</sup>. Cela s'ajoute à l'unique variant récurrent jusqu'ici dans l'exon 30 (c.4933C> T / p.Arg1645\*) chez deux patients différents d'origine espagnole et allemande<sup>153,159,162</sup>.

La mutation c.104\_107del / p.Ser35Tyrfs\*12 de l'exon 2 a précédemment été identifiée par Woods *et al.* par technique de séquençage d'exome chez un garçon, référé initialement pour un syndrome de Cornelia de Lange<sup>157</sup>. Cependant, nous avons identifié la même mutation chez le patient #235 qui nous était adressé cliniquement pour un SRT de forme modérée (les photographies ne sont malheureusement pas disponibles). Woods *et al.* suggéraient alors de tester *EP300* chez les patients présentant une forme atypique ou modéré de Cornelia de Lange sans mutation identifiée. La mise en évidence du même variant chez un patient présentant une forme modérée mais évocatrice de SRT peut suggérer la présence d'autres variants interagissant avec *EP300* chez le patient de Woods *et al.* pour expliquer le phénotype plus sévère et atypique mais sans pour autant redéfinir le spectre phénotypique.

D'autres rapports seraient nécessaires pour étayer cette hypothèse. Des informations seront bientôt disponibles concernant ce recouvrement phénotypique du fait de l'inclusion des gènes *CREBBP* et *EP300* dans le panel diagnostique « Cornelia de Lange » développé au CHU de Rouen par le Dr Pascale Saugier-Weber.

Les mutations sont réparties tout le long du gène sans pouvoir mettre en évidence un éventuel « point chaud » de mutation. Dans notre cohorte, la contribution des délétions complètes et intragéniques au spectre mutationnel du gène est de 20% (6/30) contre 80% de mutations ponctuelles (20/30). Ces pourcentages sont à la fois très similaires à ceux rencontrés dans les altérations de *CREBBP* (cf. section précédente) mais également aux résultats rapportés par Negri *et al.* sur la cohorte italienne de patients porteurs de mutations *EP300*<sup>159</sup>.

Nous avons collaboré, en parallèle de ce travail, à une étude internationale regroupant à l'heure actuelle la plus grande cohorte décrite de patients porteurs de mutations *EP300*. Nous avons décrits 52 patients dont 42 étaient rapportés pour la première fois. Vingt de nos 30 patients mutés dans *EP300* ont été inclus dans cette étude collaborative (Tableau 3). Les résultats de ce travail sont discutés dans une section ultérieure (cf. Travaux scientifiques).

## ***B. Etude de corrélation phénotype/génotype***

De larges études sur les corrélations phénotype/génotype n'ont pas révélé de différence significative selon le type de mutation portée par les patients SRT ou entre les patients SRT avec et sans mutation dans *CREBBP*<sup>12,164,165</sup>. Les difficultés d'établissement de ces corrélations peuvent être liées au manque d'une part de données cliniques détaillées des patients SRT inclus dans l'analyse moléculaire et d'autre part à une définition consensuelle des critères cliniques diagnostiques.

La mise au point dans notre centre, et ce depuis l'instauration des premières analyses moléculaires, d'une fiche de renseignements cliniques détaillée du syndrome ainsi qu'une discussion entre généticiens cliniciens et biologistes de chaque dossier avant analyse, tend à réduire ces difficultés pour aboutir à un meilleur rendement diagnostique.

### **1. Impact des larges délétions sur le phénotype des patients SRT**

Dans cette étude nous rapportons 44 délétions dont 7 délétions complètes de *CREBBP* et 6 délétions complètes d'*EP300* dont 2 délétions complètes qui s'ajoutent à la seule jusqu'ici rapportée dans la littérature<sup>159</sup>.

### a) Phénotypes des patients délétés pour *CREBBP*

En accord avec la littérature<sup>156</sup>, nous retrouvons donc 21,7% de délétions chez les patients mutés dans *CREBBP* soit environ 10% des patients référés pour un diagnostic clinique de SRT. Par ailleurs, comme détaillés précédemment, nos résultats confirment la présence d'une région instable entre les introns 1 et 2 de *CREBBP* favorisant les points de cassure et les remaniements chromosomiques à ce niveau.

Sur les 37 délétions interstitielles mises en évidence, 5 emportaient d'autres gènes tous situés en position télomérique de *CREBBP* (Figure 20). L'ensemble de ces 5 délétions emportaient le gène *TRAP* et 4 d'entre elles également le *DNase1* (à l'exception du patient #32).

Le gène *TRAP* (*Triiodothyronine Receptor Auxiliary Protein* ; NM\_190445) code pour une protéine impliquée dans l'amélioration de la liaison au récepteur de l'hormone thyroïdienne par des interactions indirectes. Cependant, la délétion hétérozygote de ce gène ne semble pas impacter sur le phénotype puisque des mutations ponctuelles de ce gène n'ont pas été rapportées en pathologie humaine et l'ensemble de nos 5 patients présentaient une fonction thyroïdienne normale.

Le gène *DNase1* (*Deoxyribonuclease I*; NM\_125505) est un gène connu de susceptibilité au lupus systémique érythémateux de transmission autosomique dominante (MIM #152700), cependant aucun des 4 patients ne présentait un phénotype compatible.

Nous nous sommes davantage focalisés sur le phénotype des patients porteurs de larges délétions emportant tout *CREBBP* et d'autres gènes de voisinage en raison des discordances de la littérature concernant les corrélations entre la taille de la délétion et le phénotype des patients (Tableau 2).

En effet, Bartsch *et al.* suggéraient que les microdélétions emportant *CREBBP* et d'autres gènes de voisinage représentaient un syndrome des gènes contigus avec un phénotype plus sévère et un risque accru de décès prématuré. Ils proposaient la définition d'une entité syndromique à part entière nommée syndrome « microdélétionnel 16p13.3 » ou « SRT sévère »<sup>166</sup>.

Cependant des études plus récentes ne soutenaient pas cette hypothèse et n'observaient pas de différences phénotypiques quelle que soit la taille de la délétion et avec ou sans délétion d'autres gènes que *CREBBP*<sup>155,156,167</sup>.

Ils suggéraient uniquement une présentation clinique plus complexe chez les patients porteurs de larges délétions mais dont le phénotype était souvent indiscernable des patients porteurs de mutations ponctuelles.

Les 7 délétions emportant l'intégralité de *CREBBP* identifiées dans notre cohorte s'étendaient d'une taille de 433 kb emportant également *ADCY9* (patient #5) à une taille de 6,5 Mb (patient #1) (Figure 20).

L'ensemble de ces patients avaient été référés pour un diagnostic clinique de SRT dans les premiers jours ou mois de vie (patients #1 à #5) ou dans la petite enfance (patients #6 et #7).

Sur le plan phénotypique, l'ensemble des patients présentait des caractéristiques crânio-faciales et des extrémités typiques de SRT quelque que soit la taille de la délétion ou les autres gènes délétés. En effet, l'ensemble des caractéristiques crânio-faciales étaient toutes retrouvées dans 6 ou 7 cas sur les 7 à l'exception de la micrognathie présente uniquement dans la moitié des cas. De la même façon, les anomalies des extrémités étaient typiques avec des pouces et hallux larges chez tous les patients (excepté le patient #7 sans pouce large) et également une déviation radiale des pouces, extrêmement évocatrice de SRT, dans plus de la moitié des cas (patients #1 à #4).

Dans notre cohorte, les patients porteurs de larges délétions semblaient présenter une prévalence de malformations cardiaques légèrement plus importante (3/6 soit 50%) que chez la plupart des patients atteints de SRT (24 à 38%<sup>5,6,128,133</sup>) comme cela a déjà été précédemment rapporté par Rusconi *et al.*<sup>156</sup>. En revanche la sévérité de l'atteinte cardiaque ne semble pas corrélée à la taille de la délétion ou au nombre de gènes impliqués puisque les 3 patients concernés (#2, #3 et #4) présentaient une atteinte minimale.

Le degré de déficience intellectuelle (DI) dans le SRT est très variable allant d'une forme limite voire sans DI jusqu'à des retards sévères. Cependant le retard est en général modéré. On peut constater dans notre cohorte une plus grande sévérité du degré de DI puisque, sur les 5 patients évaluables, 3 présentaient un DI sévère (#3, #5 et #6) et 1 un DI modéré (#7) Le degré de déficience du patient #2 n'était pas renseigné cependant il a évolué avec un retard sévère du développement psychomoteur avec des premiers mots à 2 ans et une marche non acquise à 3 ans et demi.

Pour étayer l'hypothèse de Bartsch *et al.*, le patient #1 de notre cohorte est décédé à J34 de vie des suites de malaises à répétition avec épisodes de bradycardies sévères. Cette patiente présentait la plus large délétion de notre cohorte (6,5 Mb), cependant il s'agit d'une situation isolée rendant difficile toute corrélation.

Ainsi, nos résultats tendent à confirmer le fait que le phénotype des patients porteurs de larges délétions dans *CREBBP*, et ce quelle que soit la taille de la délétion ou le nombre de gènes impliqués, n'est pas plus sévère mais bien caractéristique d'une présentation typique du syndrome sans pouvoir les discerner cliniquement des patients porteurs de mutations ponctuelles de *CREBBP*.

En revanche, la prévalence de malformations cardiaques apparaît plus importante mais sans sévérité accrue. Nous suggérons également que le degré de retard de développement psychomoteur et de déficit intellectuel est plus sévère chez les patients présentant une délétion complète de *CREBBP*.

## **b) Patients porteurs de délétions dans *EP300***

Peu d'études ont décrit des patients atteints de SRT dus à des microdélétions dans *EP300*. A l'heure actuelle, 5 délétions intragéniques limitées à *EP300* (4 publiées et 1 citée dans LOVD) et une délétion emportant tout le gène ont été rapportées<sup>18-20,159</sup> (Tableau 3).

Nous rapportons dans notre cohorte, 6 nouvelles délétions d'*EP300* dont 3 partielles, une délétion emportant les exons 12 à 31 d'*EP300* et 5 autres gènes (patient #228) et 2 nouvelles délétions complètes d'*EP300*. La première était d'une taille de 1,34 Mb et emportait 34 autres gènes (patient #226) et la seconde de 480 kb avec 9 autres gènes compris dans la délétion (patient #227).

Concernant la situation des patients porteurs de délétions dans *EP300*, il convient de distinguer deux situations ayant des impacts différents sur le phénotype.

D'une part, les patients présentant une délétion intragénique d'*EP300* sans autre gène impliqué et d'autre part les délétions complètes du gène ou emportant des gènes de voisinage.

En effet, lorsque l'on observe les patients porteurs de délétions limitées au gène *EP300* (patients #229, #230 et #231 de notre cohorte et cas 6, 7, 8 et 9 de la littérature), on constate, comme précédemment observé pour les délétions dans *CREBBP*, que le phénotype des patients est indiscernable des patients présentant des mutations ponctuelles d'*EP300*.

L'ensemble de ces patients a été référé pour analyse moléculaire avec un diagnostic clinique de Rubinstein-Taybi dans une forme modérée :

Les pouces et hallux larges n'étaient pas constants respectivement dans 71,4% (5/7) et 85,7% (6/7) des cas, sans aucune déviation radiale des pouces ou déviation des hallux. Les aspects crânio-faciaux étaient également modérés avec des fentes obliques en bas et en dehors uniquement dans 57% des cas (4/7) et un nez proéminent dans 43% (3/7) des cas. En revanche la saillie de la columelle était constante et, comme déjà observée, la microcéphalie apparaît plus fréquente chez les patients avec mutation *EP300* puisqu'absente uniquement chez le patient #230.

De la même façon, le retard de croissance, quasi constant chez les patients avec mutation *CREBBP* n'était retrouvé que dans 57% des cas (4/7). Aucun patient n'a évolué avec un DI sévère, et il était évalué léger dans la majorité des cas (patients #229, #230 et cas 8 et 9). Enfin les malformations d'organe apparaissent peu fréquentes et isolées avec notamment aucune malformation cardiaque retrouvée chez ces patients.

Ainsi les patients porteurs d'une délétion intragénique d'*EP300* semblent présenter un phénotype superposable à ceux porteurs de mutations ponctuelles. La présentation clinique reste évocatrice de SRT mais dans une forme plus modérée à la fois sur les caractéristiques squelettiques et cranio-faciales mais également en terme de retard staturo-pondéral ou cognitif ainsi qu'en fréquence de malformations associées.

En revanche, la présentation clinique est beaucoup moins évidente lorsque la délétion est complète et/ou emporte d'autres gènes de voisinage.

Sur les 4 patients, présentant soit une délétion complète d'*EP300* soit une délétion interstitielle impliquant d'autres gènes, aucun n'avait reçu initialement un diagnostic de SRT.

Le patient #226 a été diagnostiqué par CGH-Array devant un retard global des acquisitions, critères mineurs faciaux et retard de croissance harmonieux à -3 DS mais sans hypothèse étiologique. Les patients #227 et #228 ont été analysés initialement, respectivement pour un syndrome de Noonan et un syndrome de Silver-Russell.

Les analyses revenant négatives, une CGH-Array a été effectuée. Enfin le cas 10 de la littérature a également été diagnostiqué par une puce à ADN pan-génomique.

Il n'est malheureusement pas possible de discuter du patient #228 en raison du peu de données cliniques à notre disposition et l'absence de photographie.

Concernant les 3 délétions complètes, le phénotype apparaît donc plus complexe avec un taux de malformations d'organe plus important. En effet les 3 patients ont présenté des anomalies oculaires et du système nerveux central.

Le patient #226 a par ailleurs présenté une épilepsie, une dilatation pyélo-calicielle gauche et une scoliose sévère. Les patient #227 et le cas 10 ont présenté eux, des anomalies cardiaques et génitales.

Par ailleurs, le degré de déficit intellectuel apparaissait plus sévère puisque le patient #227 et le cas 10 ont évolué avec un retard modéré et le patient #226 avec un retard sévère.

En regardant l'aspect phénotypique en fonction de la délétion, on peut constater que le patient #227, porteur d'une délétion de 480 kb emportant *EP300* et 9 autres gènes (figures 28), ne présentait pas initialement un aspect évocateur de SRT. Mais son évolution phénotypique durant l'enfance est devenu plus évocatrice de SRT de forme modérée type *EP300* avec des fentes palpébrales orientées en bas et en dehors, des sourcils arqués, une columelle saillante, une lèvre supérieure fine avec des hallux larges mais des pouces normaux (Figure 25).

En revanche, le patient #226, porteur une délétion de 1,34 Mb emportant 34 gènes dont *EP300*, présentait un retard sévère associé à de multiples malformations mais sans critère caractéristique de SRT avec notamment une absence de pouce et hallux larges et une pointe du nez bulbeuse sans saillie de la columelle (Figure 24).

Les photographies pour le cas 10 n'étaient pas disponibles.

A la suite de la première description de délétion complète d'*EP300*, Negri *et al.* suggéraient que les délétions emportant *EP300* et les gènes de voisinage n'aboutissaient pas à un syndrome des gènes contigus avec phénotype plus sévère mais admettaient une prévalence de malformations d'organe plus importante<sup>159</sup>.

Avec la description dans notre cohorte des 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> délétions complètes d'*EP300* actuellement rapportées dans la littérature, nous confirmons la prévalence plus importante de

malformations dans ce contexte. Par ailleurs, nous suggérons une plus grande sévérité et une « dilution » du phénotype SRT en fonction de la taille de la délétion impliquant *EP300*.

En effet, comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, la taille de la délétion emportant *CREBBP* influe peu sur le phénotype des patients qui restent cliniquement évocateur de SRT. En revanche pour *EP300*, le phénotype est plus complexe et moins évocateur et cela apparaît proportionnel à la taille de la délétion.

On peut alors s'interroger sur les limites du cadre nosologique du SRT. On peut en effet se demander si le patient #226 doit être considéré comme un patient SRT avec les interrogations sur le suivi, la prise en charge et le diagnostic prénatal qui en découlent.

De la même façon, certains patients, analysés par CGH-Array pan-génomique dans le cadre d'un bilan étiologique de retard des acquisitions, doivent probablement présenter de larges délétions emportant de nombreux gènes dont *EP300* mais non référencés comme SRT en raison d'un phénotype non en faveur.

D'autres observations de ces altérations pourraient alors être utiles pour mieux définir le degré de corrélation phénotype/génotype dans cette situation.

## **2. Caractéristiques des patients porteurs de mutations faux-sens**

Le spectre mutationnel de *CREBBP* et *EP300* est globalement réparti de long des 31 exons de chacun de ces gènes sans réel « point chaud » de mutation.

Les mutations faux-sens représentent une exception à cela puisque plus de 80% des 32 mutations faux-sens considérées comme pathogènes dans notre cohorte sont situées dans le domaine KAT (Tableaux 1, 4 et S5).

Cela concorde avec les données de la littérature puisque qu'environ 70% des mutations faux-sens rapportées dans la base HGMD sont situées dans le domaine KAT<sup>152</sup> (Tableau S1).

Sur les 23 patients porteurs de mutations faux-sens de *CREBBP*, 14 altérations différentes étaient identifiées.



Six patients étaient porteurs de la mutation récurrente c.3832G>A / p.Glu1278Lys (#52 à #57). Ils présentaient tous un phénotype de SRT typique avec des pouces et hallux larges (à l'exception du patient #56 qui avaient des pouces normaux) et une racine du nez large avec une saillie de la columelle. Cependant la présentation était modérée avec notamment des fentes palpébrales horizontalisées et un degré de DI allant de léger (#52, #55 et #56) à modéré (#54 et #57) sans retard sévère.

Ce variant est localisé dans le domaine PHD à l'extrémité N-terminale du domaine KAT. Des études fonctionnelles sur ce variant ont été réalisées par Kalkhoven *et al.* et ont montré que l'activité enzymatique de l'acétylation des histones était dépendante de l'intégrité du domaine PHD. Ils suggéraient donc que la réduction de l'activité KAT de la protéine CBP, induite par l'altération du domaine PHD, était suffisante pour causer le phénotype.

Un cas de mosaïque germinale a également été identifié chez une fille et son frère (#63 et #64). Ces deux patients marocains, déjà décrits par notre équipe<sup>179</sup>, étaient porteurs de la mutation c.4361T>A / p.Leu1454His localisée au niveau du domaine KAT, dans l'exon 26 de *CREBBP*. A notre connaissance, de rares cas de récurrence familiale ont été rapportés dans la littérature<sup>2,139</sup> et il s'agit actuellement du seul cas de mosaïque germinale décrit dans le SRT.

De la même façon, nous avons identifié une forme familiale de SRT chez un père et deux de ses trois fils (#72, #73 et #74). Ces trois patients étaient porteurs d'une mutation dans l'exon 30 de *CREBBP* à l'extrémité C-terminale du domaine KAT (c.4894T>G / p.Phe1632Val). Les deux fils présentent une forme typique de SRT mais de sévérité modérée avec un DI léger. En revanche le phénotype du père est atypique avec un aspect crânio-facial et des extrémités peu évocateurs et un QI limite à 70.

On peut alors suggérer la présence d'une probable mosaïque somatique chez le père, expliquant une présentation clinique plus modérée comme cela a été montré récemment dans le syndrome de Cornelia de Lange dû à des mosaïques somatiques du gène *NIPBL*<sup>182</sup>.

Par ailleurs, nous rapportons les trois premières mutations faux-sens d'*EP300 de novo* impliquées dans le SRT chez les patients #232 à #234. Ces trois patients sont également décrits dans l'étude collaborative internationale des patients *EP300* (cf. Travaux scientifiques).

Ces trois variants étaient prédits délétères selon SIFT (score : 0), probablement pathogène avec PolyPhen2 (score HumVar > 0,98) et *Mutation Taster*.

De plus, le variant c.3857A>G / p.Asn1286Ser, retrouvé chez le patient #232, était prédit pour entraîner l'activation d'un site cryptique d'épissage dans l'exon 23. Ce nouveau site donneur aboutissait à une délétion en phase de six résidus à la partie N-terminale du domaine KAT. Cependant l'ARN du patient n'était pas disponible pour confirmer un effet d'épissage de ce variant.

Les patients avec les mutations faux-sens dans le domaine KAT d'*EP300* présentait un profil crânio-facial et cognitif typique de SRT.

Le domaine KAT est hautement conservé entre les deux paralogues. Il est alors tentant de postuler que les mutations faux-sens de *CREBBP* et *EP300* aboutissent à un SRT typique sur le plan morphologique comme sur le plan de la déficience intellectuelle. Cependant, ces résultats nécessiteraient d'être confirmés sur un plus grand nombre de patients. Cela se révèle ardu du fait du faible nombre de patients porteurs d'une mutation faux-sens dans le domaine KAT de p300, seulement retrouvés par notre équipe.

Nous avons également mis en évidence une mutation dans le bromodomaine de *CREBBP* (c.3609G>C / p.Lys1203Asn) chez la patiente #51. Cette patiente présentait un aspect crânio-facial typique de SRT, notamment l'aspect au sourire, une microcéphalie, un retard de croissance et évoluait avec un retard sévère du développement (Figure 29 et Tableau 4). Cette observation est en contradiction avec les phénotypes des 2 patients (un russe et un italien) déjà rapportés dans la littérature et qui présentaient la même mutation faux-sens dans le bromodomaine de *CREBBP* (p.Tyr1175Cys). En effet des signes typiques du SRT étaient manquants chez ces deux patients et ils ne présentaient pas de DI ou dans une forme limite<sup>156,183</sup>. Rusconi *et al.* suggéraient alors que les mutations faux-sens du bromodomaine de *CREBBP* aboutissaient à un phénotype morphologique et cognitif beaucoup plus modéré.

Le bromodomaine joue un rôle clé dans l'activité catalytique de l'acétylation des histones en reliant entre elles les lysines acétylées<sup>51</sup>. Ce rôle couplé à notre observation suggère, au contraire, que des mutations faux-sens de ce domaine participent au phénotype classique de SRT au même titre que celles dans le domaine KAT.

Aucune souche de souris affectant spécifiquement le bromodomaine de CBP ou p300, n'a actuellement été générée. Cela pourrait être une piste de recherche pour mieux investiguer les conséquences des mutations de ce domaine sur le phénotype morphologique et cognitif.

Le même variant (c.1801C>T / p.His1628Pro) a été identifié chez les patients #49 et #50, localisé dans l'exon 8 de *CREBBP* au niveau du domaine KIX. Ces patients présentent une forme très atténuée voire peu évocatrice avec des signes typiques de SRT manquants comme l'absence de retard de croissance ou de DI (Figure 29 et Tableau 4). Par ailleurs aucun trouble du comportement ou de TSA n'est rapporté chez ces patients. Récemment, Rusconi *et al.* ont émis l'hypothèse d'un rôle spécifique du domaine KIX de *CREBBP* sur le phénotype comportemental<sup>156</sup>. Nos résultats ne viennent pas supporter cette hypothèse.

De la même façon, les patients présentant des mutations faux-sens dans des domaines non impliqués dans l'activité catalytique de l'acétylation des histones, semblent présenter un phénotype très atténué voire peu évocateur de SRT (Figures 29 et 30).

Cela s'observe à la fois dans les domaines situés à l'extrémité N-terminale, au niveau du domaine d'interaction des récepteurs nucléaires (Patient #48 ; photographie non disponible) comme à l'extrémité C-terminale au niveau des exons 30-31 de *CREBBP* (Patients #75 et #76). Le patient #76 a d'ailleurs été inclus dans une étude collaborative décrivant des patients porteurs de mutations faux-sens dans les exons 30-31 de *CREBBP* et présentant un phénotype distinct du SRT<sup>151</sup> (détaillée dans la section IV. B. 4.).

Nos résultats confirment donc que les mutations faux-sens du domaine KAT de *CREBBP* aboutissent à un phénotype typique de sévérité variable de SRT. Nous suggérons qu'il en est de même pour les mutations affectant le bromodomaine de *CREBB* et le domaine KAT d'*EP300*. En revanche, nous suggérons que les mutations faux-sens des domaines non impliqués dans l'activité catalytique aboutissent à des phénotypes très atténués voire distincts du SRT.

### **3. Conséquences des mutations dans *EP300* pour les patients**

Comme nous l'avons vu précédemment, nous avons collaboré à l'établissement de la plus grande cohorte mondiale de patients atteints de SRT avec mutations *EP300* (cf. Travaux scientifiques). La description de 52 patients, dont 20 issus de notre centre de référence, a pu permettre de mieux caractériser les patients porteurs de mutations *EP300* en les comparant à une cohorte de 308 patients mutés dans *CREBBP*.

Concernant le phénotype, ces données confirment les résultats des précédentes études<sup>10,16-19,120,159,162</sup> en montrant que le phénotype des porteurs de mutations *EP300* est ressemblant à ceux de *CREBBP* mais dans une forme plus modérée. L'aspect facial est ainsi moins marqué à l'exception de la columelle saillante qui apparaît aussi fréquente dans les deux populations. Les anomalies des extrémités sont superposables à celles rencontrées chez les patients mutés dans *CREBBP* mais sont moins fréquentes. L'exception à cela est l'absence de déviation radiale du pouce chez l'ensemble des patients de la cohorte en dehors d'un patient dont le caractère pathogène du variant *EP300* reste incertain.

De la même façon tous les degrés de déficit intellectuels sont observés mais de manière générale, le niveau cognitif est supérieur chez les patients mutés dans *EP300*. Fait notable, la microcéphalie est pourtant significativement plus observée chez les patients avec mutation *EP300* (86% des cas) par rapport aux patients mutés dans *CREBBP* (54% des cas)

Il n'y a pas de différence significative concernant l'existence de malformations d'organes entre les deux groupes de patients (environ 25% des cas).

En revanche aucune corrélation phénotype/génotype n'a pu être montrée de manière significative entre le phénotype et la localisation des mutations *EP300*. Le faible nombre de patients ne permet pas de conclure entre l'absence réelle de corrélation ou un biais d'échantillonnage.

Les anomalies anténatales sont peu décrites chez les patients porteurs de mutation *CREBBP*, c'est pourquoi le diagnostic de SRT n'est pas en général évoqué lors de la grossesse.

Cependant, plusieurs études ont rapporté un taux de RCIU plus important ainsi que des cas de pré-éclampsie et d'HTA gravidique lors de grossesses d'enfants porteurs d'une mutation dans *EP300*<sup>17,18,20</sup>.

Cette plus large étude tend à confirmer cette observation puisque 42% des patients porteurs de mutations *EP300* ont présenté un RCIU contre 25% des cas de la cohorte *CREBBP*. Par ailleurs, dans la population générale, le taux de pré-éclampsie pendant la grossesse est estimé entre 5 et 8%<sup>184</sup>. Dans la cohorte de l'étude 23% (12/52) des grossesses étaient compliquées de pré-éclampsie et 10% d'autres avaient présenté une HTA gravidique alors que seules deux grossesses sur les 52 cas avec mutations *CREBBP* renseignés présentaient une pré-éclampsie.

Des études fonctionnelles sont nécessaires pour tenter de comprendre la fréquence plus importante de pré-éclampsie chez les mères porteuses de fœtus avec mutation *EP300* mais ce risque apparaît spécifiquement corrélé aux mutations *EP300*.

Nous présenterons l'ensemble des résultats de cette cohorte lors d'une communication orale à l'occasion du congrès de l'*American Society of Human Genetics* à Vancouver du 18 au 22 octobre 2016 (cf. Travaux scientifiques).

#### **4. Cas particulier des variants dans la région des exons 30 et 31**

Nous avons collaboré à une étude récente initiée par Raoul Hennekam qui a décrit 11 patients porteurs de mutations dans *CREBBP* qui ne ressemblaient pas, ou seulement de façon très limitée à un syndrome de Rubinstein-Taybi<sup>151</sup>. Dix de ces 11 patients ont été diagnostiqués grâce au séquençage d'exome devant une déficience intellectuelle sans hypothèse syndromique étiologique et le 11<sup>e</sup> patient, issu de notre centre de référence (patient #76), a été diagnostiqué par séquençage Sanger du gène *CREBBP* mais présentait une forme très mineure et atypique de SRT.

Ces patients présentaient tous des mutations faux-sens comprises entre la fin de l'exon 30 et l'exon 31 de *CREBBP* et avaient un phénotype considérablement différent des formes typiques de SRT. Certains patients présentaient quelques signes rapportés dans le SRT mais qui étaient soit des signes communs comme le retard de croissance ou peu caractéristiques comme l'implantation basse des oreilles ou la micrognathie.

En revanche aucun ne présentait un réel élargissement et/ou déviation des pouces et des hallux ou l'élargissement des dernières phalanges des doigts, signes les plus caractéristiques de SRT.

Ces variants faux-sens étaient localisés au niveau des domaines *ZNF2* (doigt de zinc, type ZZ) et *ZNF3* (doigt de zinc, type TAZ), qui contiennent des résidus cystéine importants pour les liaisons  $Zn^{2+}$ . Ces domaines sont impliqués dans la stabilisation d'un repliement hélicoïdal qui assure les interactions de liaison avec de nombreuses protéines régulatrices de la transcription<sup>185,186</sup>.

Ces données suggèrent donc que ce groupe de mutations affecte spécifiquement les propriétés de liaison des deux domaines en doigts de zinc aux différents partenaires de *CREBBP* en affectant leur propre repliement. Des analyses fonctionnelles supplémentaires sont néanmoins nécessaires pour valider cette hypothèse.

Ainsi, les patients porteurs des mutations faux-sens dans cette région spécifique de *CREBBP*, présentent un phénotype distinct du SRT avec un spectre somatique, cognitif et comportemental différent. Les différences phénotypiques sont telles que les auteurs proposent de ne pas classer ces patients comme SRT atypique ou « *SRT-like* » mais bien comme une entité syndromique propre. Il apparaît cependant important de pondérer ce message au regard du faible nombre de patients décrits et de rester vigilant quant à l'information à délivrer aux familles dans ce type de situation.

### ***C. Apport des techniques de séquençage de nouvelle génération au diagnostic***

Ce projet collaboratif avec le Pr Alain Verloes et le Dr Laurent Pasquier a été mis en place par notre centre de référence et financé par la fondation Maladies Rares. Il nous a permis d'analyser 5 patients, initialement négatifs pour *CREBBP* et *EP300* par la technique de séquençage d'exomes en trio.

L'objectif de ce projet était d'améliorer la compréhension de l'hétérogénéité génétique du SRT par l'identification de gènes candidats. Il s'agissait d'une étude préliminaire dans un cadre de recherche limitée à cinq patients en raison des coûts liés à la réalisation de la technique.

#### **1. Résultats du séquençage d'exome**

Sur les 5 patients analysés, nous avons pu identifier 27 mutations *de novo* rares dont 24 avec perte de fonction et 3 mutations d'épissage. Cela correspond à une moyenne de 5,4 mutations *de novo* rares exoniques par patient. Ces résultats sont bien supérieurs au taux retrouvé dans la littérature qui est estimé à environ 1,5 mutations *de novo* rares et exoniques par individus<sup>187</sup>.

Une des premières explications peut être méthodologique. En effet, le seuil de profondeur de couverture des variants a été fixé à 5X alors que la plupart des études de cohorte utilisant le WES fixe leur seuil de profondeur de couverture à 10X.

Notre seuil plus permissif de profondeur peut donc aboutir à la détection de faux positifs notamment en cas de faible profondeur de couverture au niveau des exomes parentaux. Pour pallier cela il conviendra de confirmer l'ensemble de nos variants détectés par la technique Sanger.

Cependant, nous pouvons également émettre l'hypothèse d'un taux de mutations *de novo* rares plus important chez ces patients en raison de leur contexte syndromique sévère dont l'étiologie pourrait alors être oligo voire multigénique.

Dans l'objectif de trouver un gène candidat, un seul gène a été identifié chez deux patients différents. Il s'agit du gène *TNXB* où ségrègent les mutations non-sens c.9381C>A / p.Tyr3127\* et c.8059G>T / p.Glu2687\* respectivement chez les patients A. et E.

Le gène *TNXB* est localisé en 6p21.33-p21.32 et code pour la ténascine XB, une glycoprotéine de la matrice extracellulaire principalement située dans la lame réticulaire externe de la membrane basale<sup>188</sup>.

Des mutations dans ce gène sont actuellement connues dans deux principales pathologies. D'une part, cela peut entraîner un syndrome d'Ehlers-Danlos par déficit en ténascine-X<sup>189</sup>, une maladie du tissu conjonctif caractérisée par une peau hyperextensible, des articulations hypermobiles et une fragilité des tissus. Cependant, ce type d'anomalies n'apparaît pas en lien avec le phénotype des deux patients. Par ailleurs la transmission de ce syndrome se fait selon un mode autosomique récessif.

D'autre part, des mutations hétérozygotes dans ce gène ont récemment été impliquées comme cause de reflux vésico-urétéral de transmission autosomique dominante<sup>190</sup>. De la même façon, cela ne peut pas expliquer le phénotype des patients. De plus aucun des deux ne présente de reflux vésico-urétéral. Cependant, en cas de confirmation du variant par technique Sanger, il pourrait être licite de proposer un contrôle de l'échographie rénale et des voies urinaires à ces patients.

De plus, de tous nos variants identifiés, un seul est référencé pour être impliqué aujourd'hui dans le déficit intellectuel, il s'agit du gène *ALDH5A1* où ségrége, chez le patient A. la mutation c.289G>T / p.Glu97\* au niveau de l'exon 1.

Ce gène, membre de la famille des aldéhydes déshydrogénase, localisé en 6p22.3 est également appelé *SSADH* (*Succinic semialdehyde dehydrogenase*) et est impliqué dans le catabolisme des neurotransmetteurs GABA (acide gamma-aminobutyrique)<sup>191</sup>.

Ainsi des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites de ce gène sont responsables d'un déficit en semialdéhyde succinique déshydrogénase (MIM #271980) selon un mode de transmission autosomique récessif. Il s'agit d'un trouble métabolique rare qui perturbe la dégradation normale du GABA. Le phénotype clinique est très variable (que ce soit interfamilial ou intrafamilial) et varie d'un retard léger sur le plan moteur, du langage ou cognitif, jusqu'à des troubles neurologiques sévères tels que des convulsions, une hypotonie, une ataxie, et des troubles du comportement, en particulier chez les patients âgés<sup>192</sup>. Bien que la maladie soit généralement diagnostiquée durant l'enfance, le diagnostic a également été porté chez des adultes<sup>193</sup>.

Cependant, sur les 300 patients aujourd'hui rapportés avec un déficit en succinate semi-aldéhyde déshydrogénase par mutation dans *ALDH5A1*, aucune particularité cranio-faciale ou anomalie des extrémités n'a été décrite.

Le diagnostic de ce déficit peut être confirmé par une chromatographie des acides aminés et organiques dans les urines suivie d'une détermination enzymatique de l'activité SSADH dans les leucocytes, ou directement par le séquençage du gène.

La patiente A. a évolué avec un retard modéré de développement psychomoteur prédominant sur le langage associé à des troubles du comportement principalement à type d'intolérance à la frustration et d'accès de colère. Cependant la patiente n'a jamais présenté de convulsions et l'IRM cérébrale et l'EEG réalisés étaient sans anomalie. De plus, cela ne permet pas d'expliquer les critères dysmorphiques et les anomalies squelettiques présentées par la patiente.

Dans le cadre du bilan étiologique, le bilan métabolique et notamment les chromatographies des acides aminés sanguins et urinaires et des acides organiques urinaires, s'était avéré négatif. Par ailleurs, un seul variant muté dans le gène a été identifié chez cette patiente.

Le phénotype présenté par la patiente ne peut donc pas être complètement expliqué par un déficit en SSADH. Cependant, notre analyse s'étant focalisée sur les variants *de novo*, on ne peut pas exclure la présence d'un variant hérité sur l'autre allèle du gène.

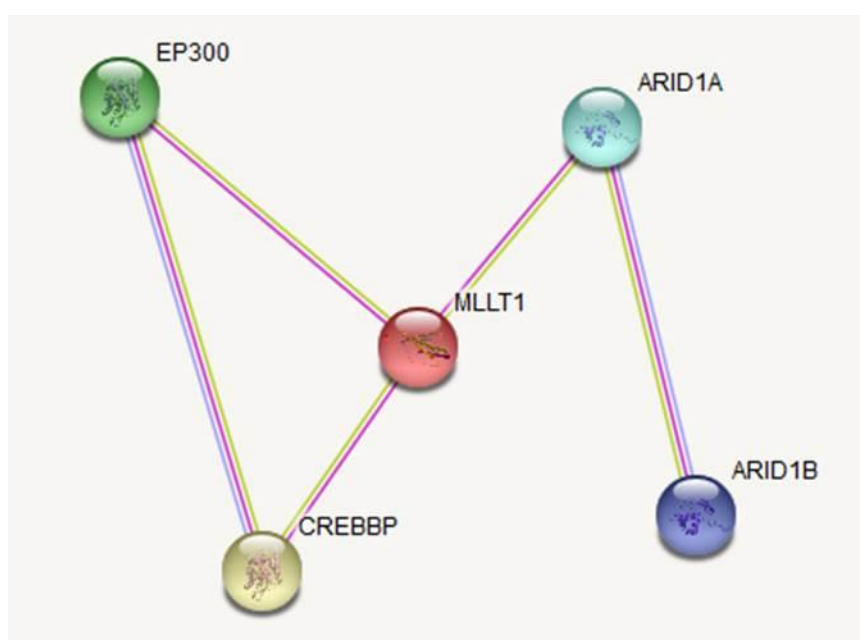


## 2. Le gène *MLLT1* comme potentiel gène candidat ?

L'analyse d'interaction protéine-protéine a tenté de mettre en évidence d'éventuelles voies communes d'interaction avec *CREBBP* et *EP300*. Cette analyse a montré une interaction validée expérimentalement entre la protéine ENL (*eleven-nineteen leukemia*), codé par le gène *MLLT1*, et les protéines CBP et p300 (Figure 30).

La protéine ENL présente des propriétés de transactivation de la transcription. C'est une protéine nucléaire qui est capable d'activer la transcription de gènes rapporteurs au niveau des cellules lymphoïdes et myéloïdes.

Par ailleurs, plusieurs analyses par filtration sur gel, spectrométrie de masse et en Western-Blot sur des lignées cellulaires humaines ont permis d'identifier des complexes SWI/SWF (*SWItch/Sucrose Non-Fermentable*) qui contenaient ENL ainsi que plusieurs sous-unités du complexe SWI/SNF notamment BAF250A (ARID1A; NM\_603024) ou BAF250B (ARID1B; NM\_614556) (Figure 36).



**Figure 36: La protéine ENL, codée par *MLLT1* est au centre d'interactions entre plusieurs protéines impliquées dans le remodelage chromatinien.**

Les liaisons violettes indiquent une similarité de séquence protéique ; les liaisons roses indiquent des liaisons prouvées après études expérimentales ; les liaisons vertes indiquent une interaction évoquée dans la littérature sans preuve expérimentale. Réalisé depuis <sup>178</sup>.

Le complexe SWI/SNF est un complexe de remodelage chromatinien hautement conservé retrouvé chez les eucaryotes et procaryotes.

Des études génétiques sur *C. Elegans* ont montré que le complexe SWI/SNF interagissait avec les enzymes à activité lysine acétyltransférase (KAT) pour réguler l'expression des gènes. Ces études ont alors suggéré que l'activité combinatoire des enzymes KAT et du complexe SWI/SNF était nécessaire pour la régulation génétique, de par leur rôle de modification des histones et de remodelage de la chromatine (résumé par Lopez et Wood<sup>194</sup>).

L'analogie humaine de ce complexe est le complexe nBAF (*neuron-specific Brg1/hBrm Associated Factor*). Des mutations dans des sous-unités de ce complexe, notamment dans des gènes de la famille *ARID*, ont été impliquées dans le syndrome de Coffin-Siris (MIM #135900), dans le syndrome de Nicolaides-Baraitser (MIM #601358), dans la schizophrénie, ou encore dans les troubles du spectre de l'autisme.

Ce complexe de remodelage chromatinien, au même titre que CBP et p300, joue un rôle dans la plasticité neuronale, l'apprentissage et la mémoire, indépendamment de son rôle dans le développement<sup>194</sup>.

Par ailleurs, une étude récente a pour la première fois identifié le gène *MLLT1* comme gène candidat en pathologie humaine, et plus particulièrement dans les anomalies du neurodéveloppement. En effet, Charng *et al.* ont étudié plusieurs familles consanguines d'Arabie Saoudite par la technique de séquençage d'exome où ségrégaient des troubles neurologiques congénitaux.

Ils ont alors mis en évidence 12 nouveaux gènes candidats dans 11 familles différentes dont *MLLT1*. Le cas index était porteur d'une mutation faux-sens homozygote (c.1418G>A / p.Arg473Gln). Sur le plan clinique, il présentait un retard global du développement associé à une hypotonie, des spasmes infantiles, une atrophie corticale avec des anomalies de la giration, un hypertélorisme et un nez court<sup>195</sup>.

Le phénotype ne semble pas correspondre à celui d'un SRT. Cependant, il s'agit ici d'une mutation homozygote faux-sens avec un probable gain de fonction. Dans notre étude, nous avons mis en évidence une mutation non-sens dans l'exon 7 du gène *MLL1* chez le patient C. (c.1174G>T / p.Glu392\*) dont le mécanisme pourrait s'apparenter davantage à une perte de fonction par haplo-insuffisance.

La protéine ENL est au centre des interactions entre deux complexes jouant un rôle majeur dans le remodelage chromatinien (Figure 31). De plus, l'identification de *MLL1* comme gène candidat dans des pathologies humaines neurodéveloppementales, soutient ce gène comme piste de recherche à approfondir dans l'hypothèse de son influence dans le déterminisme génétique du SRT.

Ainsi, le faible nombre de patients analysés ne permet pas de retenir de gènes candidats évidents et incite à rester prudent sur les conclusions de nos résultats. Cependant, certaines pistes apparaissent intéressantes. La poursuite d'analyses fonctionnelles sur *MLL1* notamment par inactivation du gène chez un modèle murin à la recherche d'un phénotype SRT-like pourrait être une piste de recherche potentielle.

## V. Conclusion et perspectives

Depuis la définition clinique du syndrome en 1963 par Rubinstein et Taybi<sup>118</sup>, les critères diagnostiques ont peu évolué, basés sur des critères phénotypiques caractéristiques comme la racine du nez large avec la columelle saillante, l'aspect évocateur au sourire et surtout les pouces et hallux larges avec ou sans déviation.

Cette définition purement clinique s'est cependant complexifiée avec la découverte des bases moléculaires du syndrome. Initialement pensé comme un syndrome microdélétionnel en 16p13.3<sup>144-146</sup>, les découvertes de *CREBBP* en 1995<sup>8</sup> puis de son paralogue *EP300* en 2005<sup>9</sup> dans le déterminisme du SRT ont abouti à un élargissement du spectre phénotypique.

En effet, se sont alors distinguées des formes dites typiques en relation avec mutations dans *CREBBP* (SRT1 ; MIM #180849) et des formes plus modérées avec une atteinte moins caractéristique des extrémités et un déficit intellectuel plus modéré en lien avec des mutations dans *EP300* (SRT2 ; MIM #613684). La mise en évidence récente d'une entité syndromique distincte chez des patients porteurs de mutations faux-sens dans les exons 30 et 31 de *CREBBP* a ajouté à l'hétérogénéité génétique et clinique de ce syndrome<sup>151</sup>.

L'émergence des techniques de séquençage de nouvelle génération tend à améliorer la compréhension de l'hétérogénéité génétique du syndrome mais en contrepartie le spectre phénotypique va s'élargir rendant les éventuelles corrélations phénotypique/génotype davantage complexes.

La question se pose alors du cadre nosologique du syndrome, jusqu'où peut-on parler de syndrome de Rubinstein-Taybi, la définition doit elle reposer sur une définition moléculaire ou sur les critères cliniques princeps ?

L'expertise de notre centre de référence dans la connaissance clinique et moléculaire du syndrome à travers le recrutement d'une des plus grandes cohortes mondiales nous permet d'affiner le spectre phénotypique et de tenter d'établir des corrélations phénotype/génotype.

Ainsi, au cours de cette étude préliminaire sur notre cohorte, nous avons pu confirmer l'impact d'une altération de *CREBBP* sur le phénotype du SRT lors de microdélétions quels que soit les autres gènes impliqués contrairement à *EP300* dont le phénotype de SRT se semble « dilué » selon la taille de la délétion et les autres gènes emportés.

Par ailleurs, l'analyse des variants faux-sens chez les patients de notre cohorte confirme l'impact des mutations du domaine KAT de *CREBBP* sur le phénotype crânio-facial, squelettique et cognitif des patients déjà observé chez le modèle murin<sup>63,78,79,84,93,95</sup> et sur les analyses fonctionnelles réalisées chez l'Homme<sup>11</sup>. Nous montrons également, pour la première fois, qu'il en est de même pour les mutations affectant le domaine KAT d'*EP300*. Cela soutient la notion du syndrome de Rubinstein-Taybi comme modèle de désordre neurodéveloppemental de mécanisme épigénétique à travers le rôle de *CREBBP* et *EP300* dans le remodelage chromatinien.

D'un point de vue thérapeutique, un Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC) national a ainsi été mis en place dans notre centre de référence pour tenter d'améliorer les compétences cognitives et mnésiques des patients atteints de SRT grâce à un traitement pharmacologique par inhibiteur des histones désacétylases. Il s'agit du premier essai thérapeutique clinique mis en place dans le syndrome de Rubinstein-Taybi. Les résultats sont actuellement en cours d'analyse.

Une autre perspective sera de reprendre en détail la clinique de l'ensemble des patients mutés de notre cohorte afin d'identifier des sous-groupes phénotypiques selon les critères cliniques connus dans le SRT. A partir de ce travail nous pourrons réaliser la curation des patients dont l'analyse s'est révélée négative afin de classer leurs phénotypes selon les formes classiques, modérées ou atypiques. La réalisation de séquençages d'exome à plus grande échelle sur cette cohorte phénotypiquement bien définie aura comme objectif d'améliorer le rendement du diagnostic moléculaire, actuellement manquant chez environ un tiers des patients.

# **ANNEXES**

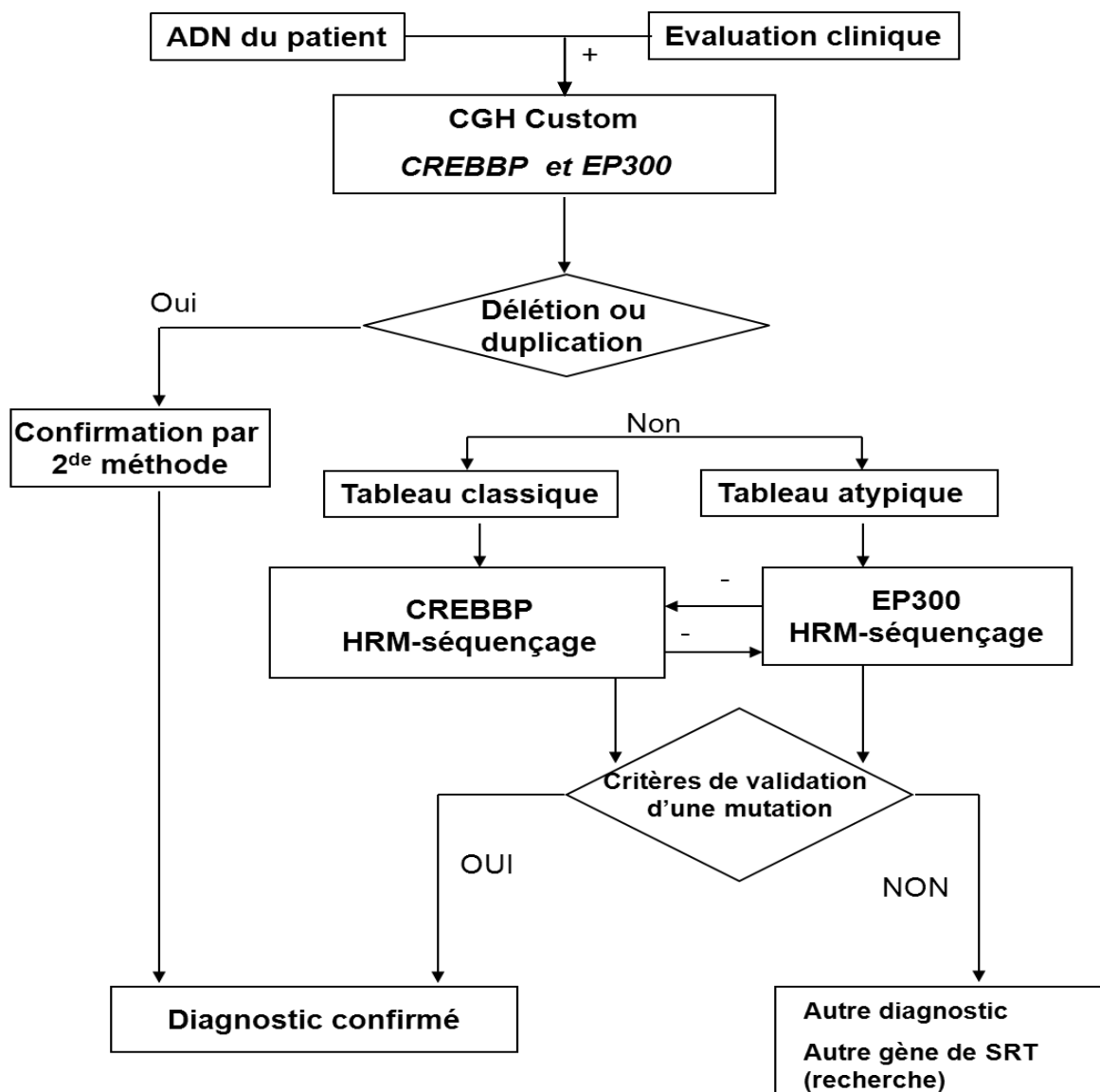


Figure S 1: Arbre décisionnel d'analyse utilisé jusqu'en 2014 pour le diagnostic moléculaire du SRT.

**Tableau S 1 : Mutations du gène *CREBBP* rapportées dans la littérature et listées dans la base HGMD.**

**Mutations faux-sens et non-sens : 102 mutations**

Variant	Proteine	Référence
c.68C>A	p.S23*	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.223C>T	p.R75*	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.406C>T	p.Q136*	Petrij (1995) Nature 376, 348
c.472C>T	p.Q158*	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.778C>T	p.Q260*	Balci (2010) Am J Med Genet A 152A, 1036
c.1066C>T	p.Q356*	Kamenarova (2016) Hum Pathol 47, 144
c.1069C>T	p.Q357*	Petrij (1995) Nature 376, 348
c.1108C>T	p.R370*	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.1217T>G	p.V406G	Sharma (2010) J Biosci 35, 187
c.1237C>T	p.R413*	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.1270C>T	p.R424*	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c.1279T>G	p.C427G	Sharma (2010) J Biosci 35, 187
c.1305T>G	p.N435K	Sharma (2010) J Biosci 35, 187
c.1483C>T	p.Q495*	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.1652T>C	p.L551P	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.1811T>C	p.L604P	Suzuki (2013) Clin Genet 83, 291
c.1828C>T	p.Q610*	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.1949A>T	p.Y650F	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.1984C>T	p.Q662*	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.2026C>T	p.Q676*	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.2302C>T	p.R768*	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.2461C>T	p.Q821*	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.2678C>T	p.S893L	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.2842C>T	p.Q948*	Wieczorek (2009) Am J Med Genet A 149A, 2849
c.2941G>A	p.A981T	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.2986G>T	p.E996*	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c.3121C>T	p.Q1041*	Lee (2014) Brain Dev epub, epub
c.3307C>T	p.R1103*	Lee (2014) Brain Dev epub, epub



c.3452G>A	p.W1151*	Wincent (2016) Mol Genet Genomic Med 4, 39
c.3474G>A	p.W1158*	Bedeschi (2014) Am J Med Genet A 164, 2663
c.3485A>G	p.N1162S	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.3494G>A	p.W1165*	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.3517C>T	p.R1173*	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.3524A>G	p.Y1175C	Bartsch (2002) J Med Genet 39, 496
c.3535A>G	p.S1179G	Zhang (2014) Zhonghua Er Ke Za Zhi 52, 673
c.3639C>A	p.C1213*	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c.3805A>T	p.K1269*	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.3833A>C	p.E1278A	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.3833A>G	p.E1278G	Udaka (2005) Congenit Anom (Kyoto) 45, 125
c.3832G>A	p.E1278K	Kalkhoven (2003) Hum Mol Genet 12, 441
c.3872A>G	p.H1291R	Suzuki (2013) Clin Genet 83, 291
c.4001T>C	p.L1334P	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4003G>C	p.G1335R	Li (2010) Am J Med Genet A 152A, 2939
c.4014G>C	p.L1338F	Lopez-Atalaya (2012) J Med Genet 49, 66
c.4021C>T	p.R1341*	Suzuki (2013) Clin Genet 83, 291
c.4078C>T	p.R1360*	Chiang (2009) Am J Med Genet A 149A, 1463
c.4133G>C	p.R1378P	Murata (2001) Hum Mol Genet 10, 1071
c.4151A>G	p.E1384G	Sharma (2010) J Biosci 35, 187
c.4174C>T	p.R1392*	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4216G>T	p.D1406Y	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4224C>A	p.C1408*	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4238A>C	p.H1413P	Udaka (2005) Congenit Anom (Kyoto) 45, 125
c.4244A>C	p.Q1415P	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4270C>G	p.P1424A	Codina-Solà (2015) Mol Autism 6, 21
c.4280G>C	p.R1427T	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4304A>T	p.D1435V	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c.4340C>T	p.T1447I	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.4348T>C	p.Y1450H	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.4361T>A	p.L1454H	Tajir (2013) Gene 518, 476
c.4377G>C	p.E1459D	Sharma (2010) J Biosci 35, 187

c.4398T>A	p.Y1466*	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.4409A>G	p.H1470R	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.4423C>A	p.P1475T	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4435G>T	p.G1479*	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.4444T>G	p.Y1482D	Lopez-Atalaya (2012) J Med Genet 49, 66
c.4445A>G	p.Y1482C	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.4492C>T	p.R1498*	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.4499A>C	p.Q1500P	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4508A>G	p.Y1503C	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4508A>T	p.Y1503F	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4520T>C	p.L1507P	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4557C>A	p.Y1519*	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4597A>T	p.S1533C	Sharma (2010) J Biosci 35, 187
c.4613C>G	p.P1538R	Wincent (2016) Mol Genet Genomic Med 4, 39
c.4627G>A	p.D1543N	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4627G>T	p.D1543Y	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.4672C>T	p.Q1558*	Kalkhoven (2003) Hum Mol Genet 12, 441
c.4762A>T	p.K1588*	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4804C>T	p.R1602C	Carli (2013) Birth Defects Res A Clin Mol Teratol 97, 798
c.4837G>A	p.V1613M	Sharma (2010) J Biosci 35, 187
c.4874T>C	p.M1625T	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4879A>T	p.K1627*	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.4991G>A	p.R1664H	Kalkhoven (2003) Hum Mol Genet 12, 441
c.5003T>A	p.L1668H	Sharma (2010) J Biosci 35, 187
c.5060C>T	p.S1687F	Lopez-Atalaya (2012) J Med Genet 49, 66
c.5129G>A	p.C1710Y	Helbig (2016) Genet Med Epub, Epub
c.5170G>A	p.E1724K	Sharma (2010) J Biosci 35, 187
c.5204C>G	p.T1735R	Sharma (2010) J Biosci 35, 187
c.5635C>T	p.Q1879*	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c.5719G>A	p.A1907T	Suzuki (2013) Clin Genet 83, 291
c.5932A>G	p.N1978D	Ward (2005) J Med Genet 42, 514
c.5933A>G	p.N1978S	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415

c.6010C>T	p.R2004*	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.6019C>T	p.Q2007*	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c.6127C>T	p.Q2043*	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.6133C>T	p.Q2045*	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.6283C>T	p.Q2095*	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.6661A>C	p.M2221L	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.6728C>T	p.A2243V	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415

### Coutes insertion/délétion : 3 mutations

Variant	Référence
c.139delAinsTCATCATGAGCTG	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.2829_2834delGTCATCinsTCGCAGCAACA	Kosaki (2010) Am J Med Genet A 152A, 1844
c.3369_3369+6delAGTAAGTinsCA	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415

### Courtes délétions : 62 mutations

Variant	Référence
c.201_202delTA	Qaksen (2009) Genet Couns 20, 255
c.236delG	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.474_493del20	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c.537delT	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.547delC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.806_807delTA	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.810_811delTG	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.885_886delCC	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.904_905delAG	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.1238delG	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.1257delG	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.1382_1389delGCACAGGG	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.1425delC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.1515_1521delTGCCAG	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.1733delC	Udaka (2005) Congenit Anom (Kyoto) 45, 125
c.1891_1895delGCCTA	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485

c.2064_2077del14	Huh (2015) Ann Clin Lab Sci 45, 458
c.2199delG	Yoo (2015) Int J Mol Sci 16, 5697
c.2239_2246delATGAACCA	Suzuki (2013) Clin Genet 83, 291
c.2356delC	Lopez-Atalaya (2012) J Med Genet 49, 66
c.2479delG	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.2527delC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.2715_2716delAG	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.2747delC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.2827delC	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.3032delG	Suzuki (2013) Clin Genet 83, 291
c.3260delC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.3396_3400delCATGG	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.3432_3433delAG	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.3501_3502delTA	Murata (2001) Hum Mol Genet 10, 1071
c.3608_3609+5delAGGTACA	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.3715_3716delAA	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.3751delC	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.3767_3769delCAC	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c.3858_3859delTG	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4080_4090del11	Petrij (2000) J Med Genet 37, 168
c.4169delC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4189_4192delTTTG	Lee (2014) Brain Dev epub, epub
c.4256_4257delCT	Kalkhoven (2003) Hum Mol Genet 12, 441
c.4399delG	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.4400delT	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4400_4401delTG	Lee (2014) Brain Dev epub, epub
c.4404_4405delAG	Murata (2001) Hum Mol Genet 10, 1071
c.4425_4426delTC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4444delT	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4611delG	Udaka (2005) Congenit Anom (Kyoto) 45, 125
c.4650_4654delAGAGA	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4837delG	Kalkhoven (2003) Hum Mol Genet 12, 441

c.4945delA	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.4963delC	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.4995_4999delCGCCT	Zhang (2014) Zhonghua Er Ke Za Zhi 52, 673
c.5016delA	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.5039_5041delCCT	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.5790delC	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.5837delC	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.5948delC	Lee (2014) Brain Dev epub, epub
c.6043delA	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.6065_6071delAGCAGGC	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.6122_6125delCCAT	Chiang (2009) Am J Med Genet A 149A, 1463
c.6166delG	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.6192delC	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.6250delC	Spena (2015) Clin Genet 88, 431

### Courtes insertions ou duplications : 32 mutations

Variant	Référence
c.134_135insCA	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.317dupA	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.605dupC	de Kort (2014) Am J Med Genet A 164, 1332
c.840dupT	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.1481dupA	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.1570dupC	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.1735dupA	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.1915_1916dupGA	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.2045dupA	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.2178dupC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.2513_2514insGCCA	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.2749dupA	Udaka (2005) Congenit Anom (Kyoto) 45, 125
c.2810dupC	Wincent (2016) Mol Genet Genomic Med 4, 39
c.3096dupT	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.3250dupA	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512

c.3250+1dupG	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.3351_3352dupCC	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77
c.3475dupC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.3511dupA	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.3545dupC	Udaka (2005) Congenit Anom (Kyoto) 45, 125
c.3546_3547insCC	Marzuillo (2013) BMC Med Genet 14, 28
c.3824dupT	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.4321dupC	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c. Not yet available	Murata (2001) Hum Mol Genet 10, 1071
c.4397_4400dupATGT	Wincent (2016) Mol Genet Genomic Med 4, 39
c.4482dupC	Lee (2014) Brain Dev epub, epub
c.4644_4646dupGTT	Herriot (2016) Clin Genet 89, 355
c.4944dupC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.5793dupC	Udaka (2005) Congenit Anom (Kyoto) 45, 125
c.5837dupC	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.5838_5857dup20	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.5991dupC	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.6044_6050dupGCATGCC	Bartsch (2005) Hum Genet 117, 485
c.6351_6352dupCC	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512

### Mutations d'épissage : 24 mutations

Variant	Protéine	Référence
c.85+1G>T	p.?	Lopez-Atalaya (2012) J Med Genet 49, 66
c.1216+1G>A	p.?	Bartsch (2002) J Med Genet 39, 496
c.1676+1G>A	p.?	Bartsch (2002) J Med Genet 39, 496
c.1823+1G>A	p.?	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.1823+5G>A	p.?	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.1941+1G>A	p.?	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.3060+1G>A	p.?	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.2881-13G>A	p.?	Wincent (2016) Mol Genet Genomic Med 4, 39
c.3698+1G>A	p.?	Udaka (2005) Congenit Anom (Kyoto) 45, 125
c.3698+3A>T	p.?	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415

c.3836+1G>A	p.?	Udaka (2005) Congenit Anom (Kyoto) 45, 125
c.3836+5G>C	p.?	Kalkhoven (2003) Hum Mol Genet 12, 441
c.3837-2A>G	p.?	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.3837-2A>T	p.?	Kalkhoven (2003) Hum Mol Genet 12, 441
c.3915-1G>A	p.?	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.4133+1G>A	p.?	Kalkhoven (2003) Hum Mol Genet 12, 441
c.4134-6T>C	p.?	Wincent (2016) Mol Genet Genomic Med 4, 39
c.4280+2T>C	p.?	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.4281-7C>G	p.?	Lopez-Atalaya (2012) J Med Genet 49, 66
c.4394+5G>T	p.?	Spena (2015) Clin Genet 88, 431
c.4559A>G	p.?	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.4560+1G>A	p.?	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
c.4561-5C>G	p.?	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
c.4728+1G>A	p.?	Bentivegna (2006) BMC Med Genet 7, 77

### Larges délétions : 61 mutations

Variant	Référence
>120 kb ex. 1-31	Bartsch (2002) J Med Genet 39, 496
>134191 bp incl ex. 1-26	Aradhya (2012) Genet Med 14, 594
>154855 bp incl entire gene	Aradhya (2012) Genet Med 14, 594
>155741 bp incl entire gene	Aradhya (2012) Genet Med 14, 594
>20113 bp incl ex. 4-6	Aradhya (2012) Genet Med 14, 594
>285 bp incl ex. 16	Aradhya (2012) Genet Med 14, 594
>560 kb	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
>903 bp incl ex. 2	Aradhya (2012) Genet Med 14, 594
>9877 bp incl ex. 17-21	Aradhya (2012) Genet Med 14, 594
~120 kb incl. ex. 6-31 + entire TRAP1	Md Ahid (2012) J Med Case Rep 6, 30
~240kb	Wincent (2016) Mol Genet Genomic Med 4, 39
0.5-2 kb, ex. 27-28	Boone (2010) Hum Mutat 31, 1326
0.93-9 kb ex. 22 to IVS23	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
1.35-1.38 Mb incl. entire gene +27 others	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613

10,916 bp IVS13-342_IVS16+7306	Udaka (2006) Genet Test 10, 265
147 kb partial gene	Asadollahi (2014) J Med Genet 51, 677
148 bp nt. 86	Bartsch (2002) J Med Genet 39, 496
150 kb incl. entire gene	Gervasini (2007) Genomics 90, 567
154-164 kb ex. 22-31 +TRAP1 +DNASE1 +part SLX4	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
17-27 kb ex. 1-IVS1	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
194-208 kb 5-UTR to ex. 31	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
2.6 Mb incl. entire gene	Gervasini (2007) Genomics 90, 567
210kb incl 5' half of gene	Kosaki (2011) Am J Med Genet A 155, 1189
28-43 kb ex. 4-16	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
3' end of gene incl. ex. 17-31	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415
3' gene	Blough (2000) Am J Med Genet 90, 29
360 kb incl. ex. 1-2	Bourdeaut (2014) Pediatr Blood Cancer 61, 383
394-413 kb from IVS2 +7 other genes	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
480-494 kb incl. entire gene + 7 others	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
5-16 kb incl. ex. 31	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
5-6 kb incl ex. 27-28	Tsai (2011) Eur J Hum Genet 19, 43
5' gene	Blough (2000) Am J Med Genet 90, 29
500 kb incl. entire gene	Gervasini (2007) Genomics 90, 567
59-64 kb ex. 29-31 to IVS10 TRAP1	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
6-10 kb IVS11-ex. 15	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
61,640 bp IVS3+10556_IVS26+149	Udaka (2006) Genet Test 10, 265
65-70 kb ex. 12-31 to IVS1 TRAP1	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
713 bp, ex. 2	Petrij (2000) J Med Genet 37, 168
741-760 kb incl. entire gene + 9 others	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
81.4 kb incl ex. 29-31, DNASE1 & TRAP1	Lai (2012) Gene 499, 182
84-98 kb incl. ex. 1-2	Rusconi (2015) Hum Genet 134, 613
9-24 kb around ex. 2	Isidor (2010) Am J Med Genet A 152A, 1847
c.4133-154_-2del153	Schorry (2008) Am J Med Genet A 146A, 2512
codons 267-2443	Bartsch (1999) Eur J Hum Genet 7, 748
codons 822-2443	Bartsch (1999) Eur J Hum Genet 7, 748



ex. 1	Balci (2010) Am J Med Genet A 152A, 1036
ex. 1	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
ex. 1-16	Udaka (2006) Genet Test 10, 265
ex. 1-19	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
ex. 1-2	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
ex. 17-21	Cali (2013) Genet Mol Res 12, 2809
ex. 28-31	Zimmermann (2007) Eur J Hum Genet 15, 837
ex. 31	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
ex. 5-31	Udaka (2006) Genet Test 10, 265
ex. 6-31	Lee (2014) Brain Dev epub, epub
incl. entire gene	Blough (2000) Am J Med Genet 90, 29
incl. ex. 12	Coupry (2004) Hum Mutat 23, 278
incl. ex. 2	Coupry (2004) Hum Mutat 23, 278
incl. ex. 30	Coupry (2004) Hum Mutat 23, 278
incl. mid-3' gene	Blough (2000) Am J Med Genet 90, 29
N-terminal region of gene	Coupry (2002) J Med Genet 39, 415

### Larges duplications : 1 mutation

Variant	Référence
ex. 1	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572

### Réarrangements complexes : 3 mutations

Variant	Reference
Translocation breakpoints within gene	Petrij (1995) Nature 376, 348
Translocation t(1;16)(p36.2;p13.3)	Kim (2013) Ann Clin Lab Sci 43, 450
Translocation t(2;16)(q36.3;p13.3)	Petrij (2000) J Med Genet 37, 168

**Tableau S 2: Mutations du gène *CREBBP* rapportées dans la base LOVD; non publiées.**

Localisation	Variant	Protéine	Taille de la délétion	Référence
01_31	c.(?-204)_(*2664_?)del	p.?	délétion exon 1 à 31	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
01_02	c.(?-204)_798+?del	p.?	délétion exon 1 à 2	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
01_02	c.(?-204)_798+?del	p.?	délétion exon 1 à 2	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
1	c.37A>G	p.Lys13Glu	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
2	c.86-?_798+?del	p.?	délétion exon 2	Netherlands:Leiden
2	c.86-?_798+?del	p.?	délétion exon 2	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
2	c.277dupA	p.Ser93fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
4	c.1011dupA	p.Gln338fs	-	D.J.M. Peters, personal communication, Netherlands:Leiden
4	c.1114C>T	p.Gln372X	-	D.J.M. Peters, personal communication, Netherlands:Leiden
5	c.1318C>T	p.Arg440X	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
6	c.1412_1415delGTAA	p.Ser471fs	-	D.J.M. Peters, personal communication, Netherlands:Leiden
6	c.1522C>T	p.Gln508X	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
7	c.1655delC	p.Pro552fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
12	c.2254C>T	p.Gln752X	-	D.J.M. Peters, personal communication, Netherlands:Leiden
14	c.2678C>A	p.Ser893X	-	D.J.M. Peters, personal communication, Netherlands:Leiden
14	c.2724delT	p.Ser908fs	-	D.J.M. Peters, personal communication, Netherlands:Leiden
14	c.2879delC	p.Pro960fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
16_19	c.3061-?_3698+?del	p.?	délétion exon 16 à 19	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
18	c.3375T>G	p.Tyr1125X	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
18	c.3547G>T	p.Glu1183X	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
18i	c.3610-2A>G	p.?	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
18i	c.3610-1G>A	p.?	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
20i	c.3779+1G>A	p.?	-	Netherlands:Leiden
20i	c.3779+2T>C	p.?	Non présent chez la mère, père indisponible	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden

20i	c.3779+3A>T	p.?	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
21	c.3817_3821dupGATAC	p.Leu1275fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
22_23	c.3837-?_3982+?del	p.?	délétion exon 22 à 23	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
22_23	c.3837-?_3982+?del	p.?	délétion exon 22 à 23	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
22	c.3862_3871del	p.Arg1288fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
22i	c.3914+1G>T	p.?	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
24_31	c.3983-?>(*2664_?)del	p.?	délétion exon 24 à 31	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
25	c.4268dupC	p.Pro1424fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
26i	c.4394+4A>C	p.?	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
27	c.4396_4406del	p.Tyr1466fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
27	c.4436_4438delGAG	p.Gly1479del	-	Netherlands:Leiden
27i	c.4561-2A>G	p.?	-	D.J.M. Peters, personal communication, Netherlands:Leiden
28	c.4567_4568delTT	p.Phe1523fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
28	c.4708G>T	p.Ala1570Ser	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
29	c.4872dupC	p.Met1625fs	-	D.J.M. Peters, personal communication, Netherlands:Leiden
29	c.4885_4887delAAG	p.Lys1629del	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
31	c.5641_5642delAG	p.Leu1882fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
31	c.5710C>T	p.Gln1904X	-	D.J.M. Peters, personal communication, Netherlands:Leiden
31	c.5821C>T	p.Gln1941X	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
31	c.6213delG	p.Arg2072fs	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden
31	c.6436C>T	p.Gln2146X	-	M.J. van Belzen, Netherlands:Leiden

**Tableau S 3: Mutations du gène *EP300* rapportées dans la littérature et listées dans la base HGMD.**

**Mutations faux-sens et non-sens : 13 mutations**

Variant	Protéine	Référence
c.1282C>T	p.P428S	Tamhankar (2015) Indian J Pediatr epub, epub
c.1833T>G	p.Y611*	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.1876C>T	p.R626*	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.1942C>T	p.R648*	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.2377C>T	p.Q793*	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.2437C>T	p.Q813*	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.2656C>G	p.P886A	Fromer (2014) Nature 506, 179
c.3829A>T	p.K1277*	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.3934C>T	p.R1312*	Negri (2015) Clin Genet 87, 148
c.4232C>T	p.T1411I	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.4585C>T	p.R1529*	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.4933C>T	p.R1645*	Solomon (2015) Am J Med Genet A 167, 1111
c.5824A>T	p.M1942L	Wincent (2016) Mol Genet Genomic Med 4, 39

**Courtes délétions : 10 mutations**

Variant	Reference
c.104_107delCTCT	Woods (2014) Am J Med Genet A 164, 251
c.494_497delTGAA	Bounakis (2015) J Med Case Rep 9,
c.638delG	Bartsch (2010) Am J Med Genet A 152A, 181
c.1371_1374delTCAG	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.2445delC	Masuda (2015) Mol Syndromol 6, 99
c.2877_2884delCACAGAAG	Roelfsema (2005) Am J Hum Genet 76, 572
c.2966delC	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.3625delC	Bartholdi (2007) J Med Genet 44, 327
c.4783_4784delTT	Wincent (2016) Mol Genet Genomic Med 4, 39
c.7100delC	Zimmermann (2007) Eur J Hum Genet 15, 837

**Mutations d'épissage : 3 mutations**

Variant	Protéine	Référence
c.1879-12A>G	p.?	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.3501+1G>A	p.?	Negri (2015) Clin Genet 87, 148
c.4287-1G>A	p.?	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175

**Courtes insertions ou duplications : 5 mutations**

Variant	Reference
c.669dupT	Negri (2015) Clin Genet 87, 148
c.718dupC	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.4640dupA	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175
c.4652dupA	Negri (2015) Clin Genet 87, 148
c.5723dupC	Stavropoulos (2016) NPJ Genomic Med 1 15012

**Coutes insertion/délétion : 2 mutations**

Variant	Reference
c.41_51delins11	Negri (2015) Clin Genet 87, 148
c.1187_1189delCTCinsATT	Negri (2016) Hum Mutat 37, 175





Poumons : .....

**Anomalies radiologiques :**

◆ Extrémités

	MAINS			PIEDS		
1ère phalange distale élargie	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>	NSP <input type="checkbox"/>	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>	NSP <input type="checkbox"/>
1er rayon élargi	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>	NSP <input type="checkbox"/>	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>	NSP <input type="checkbox"/>
duplication 1ère phalange distale	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>	NSP <input type="checkbox"/>	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>	NSP <input type="checkbox"/>
phalanges distales en baguettes de tambour	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>	NSP <input type="checkbox"/>	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>	NSP <input type="checkbox"/>
autres anomalies						

Retard âge osseux : .....

Anomalies vertébrales : .....

Anomalies costales : .....

Autres anomalies : .....

**Exploration Génétique :**

◆ Caryotype : .....

◆ Analyse moléculaire en 16p13.3 par FISH :

○ date de l'envoi : .....

○ résultat : délétion pas de délétion

○ Commentaires : .....

◆ Envoyée à Bordeaux  oui  / non  / NSP

Cette étude sur le syndrome de Rubinstein-Taybi vise à essayer d'établir une corrélation phénotype-génotype dans ce syndrome.

Si vous suivez des patients, merci d'essayer de remplir au mieux ce questionnaire pour chaque cas.

**Joindre une photographie de la face et des extrémités et une radiographie des mains et des pieds.**

Merci d'avance, amicalement

Didier LACOMBE

**Retourner les documents au Docteur Patricia FERGELOT  
Laboratoire de Génétique Moléculaire**

**Plateau technique Biologie Moléculaire**

**1<sup>er</sup> étage TRIPODE**

**Hôpital Pellegrin**

**Place Amélie Raba Léon**

**33076 BORDEAUX Cedex**

**Tel : 05 56 79 87 23**

**Mail : [patricia.fergelot@chu-bordeaux.fr](mailto:patricia.fergelot@chu-bordeaux.fr)**

**Tableau S 5: Mutations du gène *CREBBP* identifiées dans notre cohorte.**

DEL : grande délétion ; del : courte délétion ; ins : courte insertion ou duplication ; delins : courte insertion-duplication ; \*: patient déjà rapporté par notre équipe.

Patient N°	Anomalie génétique	Localisation	Type	Précédents rapports
1	Délétion complète	6,5 Mb dont <i>CREBBP</i>	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
2	Délétion complète	chr16:3214064_5901337, 2,68 Mb, 50 gènes dont <i>CREBBP</i>	DEL	
3	Délétion complète	délétion emportant 1Mb centromérique et 500 kb télomérique	DEL	
4	Délétion complète	chr16:3591245_4490301, 900 kb, 13 gènes dont <i>CREBBP</i>	DEL	
5	Délétion complète	chr16:4199059_3766451, 433 kb avec le gène <i>ADCY9</i>	DEL	
6	Délétion complète	qPCR : Ex 2, 12, 30	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
7	Délétion complète	700 kb, 7 gènes dont <i>CREBBP</i>	DEL	
8	Délétion interstitielle	5'UTR et Exons 1 à 21	DEL	
9	Délétion interstitielle	5'UTR et Exons 1 à 21	DEL	
10	Délétion interstitielle	5'UTR et Exons 1 et 2, 63 kb	DEL	
11	Délétion interstitielle	5'UTR et Exons 1 et 2	DEL	
12	Délétion interstitielle	chr16:3865912_4063777. 5'UTR et Exons 1 et 2	DEL	
13	Délétion interstitielle	Exon 1	DEL	
14	Délétion interstitielle	Exon 1, 31,5 kb	DEL	
15	Délétion interstitielle	Exon 1, 4,5 kb	DEL	
16	Délétion interstitielle	Exon 2	DEL	
17	Délétion interstitielle	Exon 2	DEL	
18	Délétion interstitielle	Exon 2, 10 kb	DEL	
19	Délétion interstitielle	Exon 2, 38 kb	DEL	
20	Délétion interstitielle	Exons 2 à 16	DEL	
21	Délétion interstitielle	Exons 2 à 31, gènes <i>TRAP</i> et <i>DNase1</i> , 223 kb	DEL	
22	Délétion interstitielle	chr16:3426461_3889374, Exons 3 à 31, +11 gènes en position télomérique de <i>CREBBP</i> , 463 kb	DEL	
23	Délétion interstitielle	Exon 4	DEL	



24	Délétion interstitielle	Exons 4 et 5	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
25	Délétion interstitielle	Exons 4 à 31	DEL	
26	Délétion interstitielle	Exons 4 à 31, 69 kb	DEL	
27	Délétion interstitielle	Exons 6 à 31, gènes <i>TRAP</i> et <i>DNase1</i> , 156 kb	DEL	
28	Délétion interstitielle	Exons 9 et 10	DEL	
29	Délétion interstitielle	Exons 10 et 11, 1,9 kb	DEL	
30	Délétion interstitielle	Exons 17 à 31 et 3'UTR	DEL	
31	Délétion interstitielle	Exons 20 à 31, gène <i>TRAP</i> et début gène <i>DNase1</i> , 97 kb, mosaïque 50%	DEL	
32	Délétion interstitielle	Exons 22 à 31 et gène <i>TRAP1</i> , 49 kb	DEL	
33	Délétion interstitielle	Exon 27 et 28	DEL	
34	Délétion interstitielle	Exons 29 à 31	DEL	
35	Délétion interstitielle	Exons 29 à 31 et 3'UTR	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
36	Délétion interstitielle	Exons 30 et 31 et 3'UTR	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
37	Délétion interstitielle	Exons 30 et 31 et 3'UTR	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
38	Délétion interstitielle	Exons 30 et 31 et 3'UTR	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
39	Délétion interstitielle	Exons 30 et 31 et 3'UTR	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
40	Délétion interstitielle	?	DEL	
41	Délétion interstitielle	?	DEL	
42	Délétion interstitielle	?	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
43	Délétion interstitielle	?	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
44	Délétion interstitielle	?	DEL	Coupry <i>et al.</i> 2002*
45	Duplication interstitielle	Exons 4 à 16, 28 kb	DUP	
46	Duplication interstitielle	Exon 2, 12kb, mosaïque somatique à 75%	DUP	
47	Duplication interstitielle	Exons 1 et 2	DUP	
48	c.38A>T / p.Lys13Ile	1	faux-sens	
49	c.1801C>T / p.Arg601Trp	8	faux-sens	

50	c.1801C>T / p.Arg601Trp	8	faux-sens	
51	c.3609G>C / p.Lys1203Asn	18	faux-sens	
52	c.3832G>A / p.Glu1278Lys	21	faux-sens	Kalkhoven <i>et al.</i> 2003
53	c.3832G>A / p.Glu1278Lys	21	faux-sens	Kalkhoven <i>et al.</i> 2003
54	c.3832G>A / p.Glu1278Lys	21	faux-sens	Kalkhoven <i>et al.</i> 2003
55	c.3832G>A / p.Glu1278Lys	21	faux-sens	Kalkhoven <i>et al.</i> 2003
56	c.3832G>A / p.Glu1278Lys	21	faux-sens	Kalkhoven <i>et al.</i> 2003
57	c.3832G>A / p.Glu1278Lys	21	faux-sens	Kalkhoven <i>et al.</i> 2003
58	c.4013T>C / p.Leu1338Ser	24	faux-sens	
59	c.4112T>G / p.Val1371Gly	24	faux-sens	
60	C.4280G>C / p.Arg1427Thr	25	faux-sens	Schorry <i>et al.</i> 2008
61	c.4298A>G / p.Tyr1433Cys	26	faux-sens	
62	c.4340C>T / p.Trp1447Ile	26	faux-sens	Roefselma <i>et al.</i> 2005
63	c.4361T>A / p.Leu1454His	26	faux-sens	Tajir <i>et al.</i> 2013*
64	c.4361T>A / p.Leu1454His	26	faux-sens	Tajir <i>et al.</i> 2013*
65	c.4366G>A / p.Gly1456Arg	26	faux-sens	
66	c.4445A>G / p.Tyr1482Cys	27	faux-sens	Bentivegna <i>et al.</i> 2006
67	c.4481C>G / p.Pro1494Arg	27	faux-sens	
68	c.4559A>G / p.Lys1520Arg	27	faux-sens	
69	c.4559A>G / p.Lys1520Arg	27	faux-sens	
70	c.4627G>T / p.Asp1543Tyr	28	faux-sens	Bentivegna <i>et al.</i> 2006 / Kalkhoven <i>et al.</i> 2003
71	c.4883A>C / p.His1628Pro	29	faux-sens	
72	c.4894 T>G / p.Phe1632Val	30	faux-sens	
73	c.4894 T>G / p.Phe1632Val	30	faux-sens	
74	c.4894 T>G / p.Phe1632Val	30	faux-sens	
75	c.5129G>A / p.Cys1710Tyr	30	faux-sens	

76	c.5357G>C / p.Arg1786Pro	31	faux-sens	
77	c.52_68del / p.Ser18Glyfs*3	1	del	
78	c.62delG / p.Gly21Valfs*24	1	del	
79	c.139delinsTCATCATGAGCTG / p.Asp47Serfs*3	2	delins	<b>Coupry et al. 2002*</b>
80	c.298dup / p.Pro134Alafs*2	2	ins	
81	c.567del2insGGGTGGTAACTAGGAGT / p.Asn190Glyfs*4	2	delins	
82	c.732del / p.Gln245Argfs*6	2	del	
83	c.737_741delinsCTGGTCA / p.Val246Alafs*6	2	delins	
84	c.820del / p.Ser274Valfs*20	3	del	
85	c.840dupT / p.Ser281*	3	ins	<b>Coupry et al. 2002*</b>
86	c.963del8 / p.Asn321Lysfs*25	3	del	
87	c.1008del / p.Thr337Hisfs*17	4	del	
88	c.1227_1228dup / p.Ala410Valfs*25	5	ins	
89	c.1251_1252del / p.His418Leufs*8	5	del	
90	c.1333_1343del / p.Ile445Serfs*3	6	del	
91	c.1412_1415delGTAA / p.Ser471Thrfs*5	6	del	<b>LOVD</b>
92	c.1616_1623del / p.Asp539Alafs*29	7	del	
93	c.1679del / p.Pro560Hisfs*2	8	del	
94	c.1793_1799dup / p.Arg601Glyfs*9	8	ins	
95	c.1972dup / p.Ile658Asnfs*18	10	ins	
96	c.2045dupA / p.Pro683Alafs*43	10	ins	<b>Coupry et al. 2002*</b>
97	c.2063_2064insCG / p.Pro688Profs*7	10	ins	
98	c.2068del / p.Ala690Leufs*5	10	del	
99	c.2160delGinsTAA / p.Met721Lysfs*2	12	delins	
100	c.2246delA / pThr749Profs*4	12	del	
101	c.2357_2364del8 / p.Gln786Argfs*43	13	del	

102	c.2555del / p.Pro852Hisfs*26	14	del	
103	c.2641del / p.Gln881Serfs*46	14	del	
104	c.2646dup / p.Ala883Serfs*87	14	ins	
105	c.2697delC / p.Thr900Profs*27	14	del	
106	c.2825del / p.Pro942Leufs*56	14	del	
107	c.2827delC / p.Gln943Serfs*55	14	del	Coupry <i>et al.</i> 2002*
108	c. 3003_3004del / p.Gln1002Serfs*5	15	del	
109	c.3096dupT / p.Lys1033*	16	ins	Coupry <i>et al.</i> 2002*
110	c.3139dup / p. Glu1047fs*4	16	ins	
111	c.3218dup / p.Ser1074Valfs*13	16	ins	
112	c.3369_3369+6delinsCA / p.Asp1124Argfs*4	17	delins	Coupry <i>et al.</i> 2002*
113	c.3613_3616delAG / p.Glu1205Phefs*44	19	del	
114	c.3642delT / p.Tyr1214*	19	del	
115	c.3826insA / p.Asp1276Gluufs*6	21	ins	
116	c.4074dupT / p.Val1359Cysfs*29	24	ins	
117	c.4274del / p.Asn1425Thrfs*34	25	del	
118	c.4404_4405delAG / p.Gly1469Alafs*9	27	del	Murata <i>et al.</i> 2001
119	c.4404_4405delAG / p.Gly1469Alafs*9	27	del	Murata <i>et al.</i> 2001
120	c.4404_4405delAG / p.Gly1469Alafs*9	27	del	Murata <i>et al.</i> 2001
121	c.4427dup / p.Ser1477Lysfs*2	27	ins	
122	c.4650_4654del / p.Glu1551Hisfs*	28	del	Spena <i>et al.</i> 2015
123	c. 4764dup / p.Asn1589Gluufs*28	29	ins	
124	c.4925_5069del145 / p.Val1642Alafs*54	30	del	
125	c.4944dupC / p.Ile1649Hisfs*11	30	del	Schorry <i>et al.</i> 2008
126	c.4945delA / p.Ile1649Serfs*95	30	del	Coupry <i>et al.</i> 2002*
127	c.5029dup / p.Glu1677Glyfs*58	30	ins	

128	c.5675delC / p.Thr1894Hisfs*21	31	del	
129	c.5814_5816delinsAG / p.Thr1939Alafs*37	31	delins	
130	c.5837dup / p.Pro1947Thrfs*19	31	ins	<b>Spena et al. 2015</b>
131	c.5837dup / p.Pro1947Thrfs*19	31	ins	<b>Spena et al. 2015</b>
132	c.5837dup / p.Pro1947Thrfs*19	31	ins	<b>Spena et al. 2015</b>
133	c.5852_5861del / p.Pro1951Glnfs*22	31	del	
134	c.5899dup / p.Gln1967Profs*374	31	ins	
135	c.6142_6152delinsTGCT / p.Val2048Cysfs*25	31	delins	
136	c.6240dup / p.Gln2081Profs*260	31	ins	
137	c.6332delA / p.Asn2111Ilefs*32	31	del	
138	c.68C>A / p.Ser23*	1	non-sens	<b>Coupry et al. 2002*</b>
139	c.223C>T / p.Arg75*	2	non-sens	<b>Spena et al. 2015</b>
140	c.253G>T / p.Gly85*	2	non-sens	
141	c.316C>T / p.Gln106*	2	non-sens	
142	c.406C>T / p.Gln136*	2	non-sens	<b>Petrij et al. 1995</b>
143	c.1108C>T / p.Arg370*	4	non-sens	<b>Coupry et al. 2002* / Bartsch et al. 2002</b>
144	c.1114C>T / p.Gln372*	4	non-sens	<b>LOVD</b>
145	c.1142C>A / p.Ser381*	4	non-sens	
146	c.1237C>T / p.Arg413*	5	non-sens	<b>Coupry et al. 2002*</b>
147	c.1237C>T / p.Arg413*	5	non-sens	<b>Coupry et al. 2002</b>
148	c.1257G>A / p.Trp419*	5	non-sens	
149	c.1270C>T / p.Arg424*	5	non-sens	<b>Bartsch et al. 2005</b>
150	c.1270C>T / p.Arg424*	5	non-sens	<b>Bartsch et al. 2005</b>
151	c.1327C>T / p.Glu443*	5	non-sens	
152	c.1447C>T / p.Arg483*	6	non-sens	
153	c.1447C>T / p.Arg483*	6	non-sens	

154	c.1501C>T / p.Gln501*	6	non-sens	
155	c.1507C>T / p.Gln503*	6	non-sens	
156	c.1621C>T / p.Gln541*	7	non-sens	
157	c.1923C>A / p.Tyr641*	9	non-sens	
158	c.2254C>T / p.Gln752*	12	non-sens	LOVD
159	c.2273C>G / p.Ser758*	12	non-sens	
160	c.2302C>T / p.Arg768*	13	non-sens	Schorry <i>et al.</i> 2008
161	c.2356 C>T / p.Gln786*	13	non-sens	
162	c.2434C>T / p.Gln812*	13	non-sens	
163	c.2548C>T / p.Gln850*	14	non-sens	
164	c.2755C>T / p.Gln919*	14	non-sens	
165	c.2755C>T / p.Gln919*	14	non-sens	
166	c.2755C>T / p.Gln919*	14	non-sens	
167	c.2767C>T / p.Gln923*	14	non-sens	
168	c.2956C>T / p.Gln986*	15	non-sens	
169	c.2959C>T / p.Gln987*	15	non-sens	
170	c. 3160G>T / p.Glu1054*	16	non-sens	
171	c.3307C>T / p.Arg1103*	17	non-sens	Lee <i>et al.</i> 2014
172	c.3352C>T / p.Gln1118*	17	non-sens	
173	c.3352C>T / p.Gln1118*	17	non-sens	
174	c.3415A>T / p.Lys1139*	18	non-sens	
175	c.3547G>T / p.Glu1183*	18	non-sens	LOVD
176	c.3702T>A / p.Tyr1234*	20	non-sens	
177	c.3805A>T / p.Lys1269*	21	non-sens	Coupry <i>et al.</i> 2002*
178	c.4198G>T / p.Glu1400*	25	non-sens	
179	c.4350C>A / p.Tyr1450*	26	non-sens	

180	c.4398T>A / p.Tyr1466*	27	non-sens	Coupry <i>et al.</i> 2002*
181	c.4492C>T / p.Arg1498*	27	non-sens	Coupry 2002
182	c.4492C>T / p.Arg1498*	27	non-sens	Coupry <i>et al.</i> 2002*
183	c.4509C>G / p.Tyr1503*	27	non-sens	
184	c.4537G>T / p.Glu1513*	27	non-sens	
185	c.4573C>T / p.Gln1525*	28	non-sens	
186	c.5902 C>T / p.Gln1968*	31	non-sens	
187	c.5902 C>T / p.Gln1968*	31	non-sens	
188	c.6010C>T / p.Arg2004*	31	non-sens	Roefselma <i>et al.</i> 2005
189	c.6010C>T / p.Arg2004*	31	non-sens	Roefselma <i>et al.</i> 2005
190	c.6127C>T / p.Gln2043*	31	non-sens	Coupry <i>et al.</i> 2002*
191	c.6169C>T / p.Gln2057*	31	non-sens	
192	c.6241C>T / p.Gln2081*	31	non-sens	
193	c.6253C>T / p.Gln2085*	31	non-sens	
194	c.6598C>T / p.Gln2200*	31	non-sens	
195	c.1216+1delG / p.?	Intron 4	épissage	
196	c.1823+1G>A / p.?	Intron 8	épissage	Schorry <i>et al.</i> 2008
197	c.1942-2A>G / p.?	Intron 9	épissage	
198	c.1942-2A>T / p.?	Intron 9	épissage	
199	c.2159-9C>G / p.?	Intron 11	épissage	
200	c.2283+1 G>C / p.?	Intron 12	épissage	
201	c.2283+3_c.2283+8del / p.?	Intron 12	épissage	
202	c.3060+1G>A / p.?	Intron 15	épissage	Schorry <i>et al.</i> 2008
203	c.3060+5G>A / p.?	Intron 15	épissage	
204	c.3370-1G>A / p.?	Intron 18	épissage	
205	c.3698+3A>T / p.?	Intron 19	épissage	Coupry <i>et al.</i> 2002*

206	c.3780-2A>G / p.?	Intron 20	épissage	
207	c.3836+1G>A / p?	Intron 21	épissage	Udaka <i>et al.</i> 2005
208	c.3837-2A>C / p.?	Intron21	épissage	
209	c.3914+4dup / p.?	Intron 22	épissage	
210	c.3914+4A>G / p.?	Intron 22	épissage	
211	c.3914+5G>A / p.?	Intron 22	épissage	
212	c.3915-2A>T / p.?	Intron 22	épissage	
213	c.3915-1G>A / p.?	Intron 22	épissage	Roefselma <i>et al.</i> 2005
214	c.3982+5G>A / p.?	Intron 23	épissage	
215	c.3983-2_3986del / p?	Intron 23	épissage	
216	c.3983-2A>G / p.?	Intron 23	épissage	Coupry <i>et al.</i> 2002*
217	c.4280+2T>C / p.?	Intron 25	épissage	
218	c.4394+1G>A / p.?	Intron 26	épissage	
219	c.4561-37_4561-14del / p.?	Intron27	épissage	
220	c.4561-5C>G / p.?	Intron 27	épissage	Coupry <i>et al.</i> 2002*
221	c.4728+2T>C / p.?	Intron 28	épissage	
222	c.5039_5041delCCT / p.Ser1680del	30	del en phase	Schorry <i>et al.</i> 2008 / LOVD
223	c.5039_5041delCCT / p.Ser1680del	30	del en phase	Schorry <i>et al.</i> 2008 / LOVD
224	c.5039_5041delCCT / p.Ser1680del	30	del en phase	Schorry <i>et al.</i> 2008 / LOVD
225	c.3609G>A / p.Lys1203Lys	18	syn	



## Table des figures

<b>Figure 1:</b> Les différents niveaux de condensation de l'ADN.....	14
<b>Figure 2:</b> Tableau représentant les différentes familles de protéines HDAC et KAT. ....	17
<b>Figure 3:</b> Fonction des protéines KAT et HDAC.....	18
<b>Figure 4:</b> Structure des protéines p300/CBP. ....	20
<b>Figure 5 :</b> Fonctions de p300/CBP comme protéines d'échafaudage et activité acétyltransférase. ....	22
<b>Figure 6:</b> Exemples de facteurs de transcription, d'activateurs et de co-activateurs associés aux différents domaines fonctionnels de CBP et p300. ....	23
<b>Figure 7:</b> Modèle de fonction de CBP, p300 et PCAF.....	25
<b>Figure 8 :</b> Représentation linéaire de la souche sauvage et des différentes souches mutantes de CBP et p300 utilisées dans des modèles murins de SRT. ....	26
<b>Figure 9:</b> Comparaison entre les courbes de croissance construites pour les patients SRT et les courbes de croissance de référence pour l'âge (selon les normes néerlandaises de 2009). ....	36
<b>Figure 10:</b> Aspect crânio-facial néonatal de patients atteints de SRT.....	38
<b>Figure 11:</b> Evolution du phénotype durant l'enfance, l'adolescence et à l'âge adulte.....	39
<b>Figure 12:</b> Photographies des anomalies des extrémités avec pouces et hallux larges. ....	41
<b>Figure 13:</b> Radiographies typiques des extrémités.....	41
<b>Figure 14:</b> Aspect oro-dentaires dans le SRT. ....	43
<b>Figure 15:</b> Anomalies cutanées dans le SRT.....	46
<b>Figure 16:</b> Structure des gènes <i>EP300</i> et <i>CREBBP</i> .....	49
<b>Figure 17 :</b> Représentation schématique des protéines CPB/p300 et de leurs domaines fonctionnels. ....	50
<b>Figure 18 :</b> Représentation schématique du spectre mutationnel de <i>CREBBP</i> chez les patients avec SRT. ....	51
<b>Figure 19 :</b> Carte des microsatellites de la région du gène <i>CREBBP</i> .....	68
<b>Figure 20:</b> Arbre décisionnel actuellement utilisé au laboratoire pour l'analyse moléculaire du SRT.....	71
<b>Figure 21:</b> Représentation schématique du spectre mutationnel des variants <i>CREBBP</i> identifiés dans notre cohorte.....	76
<b>Figure 22:</b> Photographies des patients porteurs de délétions complètes de <i>CREBBP</i> . ....	83

<b>Figure 23:</b> Représentation schématique de la localisation des délétions complètes de <i>CREBBP</i> .....	86
<b>Figure 24:</b> Phénotype crânio-facial du patient #226. ....	92
<b>Figure 25:</b> Evolution du phénotype cranio-facial et aspect des extrémités du patient #227... ..	94
<b>Figure 26:</b> Photographies des patients porteurs de délétions intragéniques d' <i>EP300</i> .....	97
<b>Figure 27:</b> Représentation schématique de la localisation des délétions <i>EP300</i> .....	99
<b>Figure 28:</b> Représentation schématique des 31 exons du gène <i>EP300</i> avec la localisation des délétions intragéniques.....	100
<b>Figure 29:</b> Photographies des patients #49 à #64, porteurs de mutation faux-sens. ....	108
<b>Figure 30:</b> Photographies des patients #65 à #76 et #232 à 234, porteurs de mutation faux-sens.....	109
<b>Figure 31:</b> Phénotype crânio-facial et aspect des extrémités de la patiente A. ....	120
<b>Figure 32:</b> Phénotype crânio-facial et aspect des extrémités du patient C.....	123
<b>Figure 33:</b> Phénotype crânio-facial de la patiente D. ....	124
<b>Figure 34:</b> Phénotype crânio-facial et aspect des extrémités de la patiente E.....	126
<b>Figure 35:</b> Réseau d'interaction protéine-protéine permettant de visualiser le degré d'interaction entre les gènes des variants identifiés avec <i>CREBBP</i> et <i>EP300</i> .....	129
<b>Figure 36:</b> La protéine ENL, codée par <i>MLLT1</i> est au centre d'interactions entre plusieurs protéines impliquées dans le remodelage chromatinien.....	151
<b>Figure S 1:</b> Arbre décisionnel d'analyse utilisé jusqu'en 2014 pour le diagnostic moléculaire du SRT.....	157

## Table des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Résumé des mutations <i>EP300</i> identifiées dans notre cohorte.....	81
<b>Tableau 2 :</b> Phénotypes et génotypes des 7 patients porteurs d'une délétion complète de <i>CREBBP</i> .....	87
<b>Tableau 3:</b> Comparaison des patients porteurs d'une délétion complète d' <i>EP300</i> issus de notre cohorte et de la littérature.....	101
<b>Tableau 4:</b> Phénotypes et génotypes des 32 patients porteurs d'une mutation faux-sens. ....	110
<b>Tableau 5:</b> Résumé des variants <i>de novo</i> rares identifiés chez les 5 patients par WES.....	128
<b>Tableau S 1 :</b> Mutations du gène <i>CREBBP</i> rapportées dans la littérature et listées dans la base HGMD.....	158
<b>Tableau S 2:</b> Mutations du gène <i>CREBBP</i> rapportées dans la base LOVD; non publiées. ..	168
<b>Tableau S 3:</b> Mutations du gène <i>EP300</i> rapportées dans la littérature et listées dans la base HGMD.....	170
<b>Tableau S 4:</b> Fiche de renseignements cliniques pour le syndrome Rubinstein-Taybi. ....	171
<b>Tableau S 5:</b> Mutations du gène <i>CREBBP</i> identifiées dans notre cohorte. ....	174

## Abréviations

**AA:** acide aminé

**AcétylCoA :** acétyl-coenzyme A

**ADN:** acide désoxyribonucléique

**ADP-ribosylation:** adénosine diphosphate-ribosylation

**ALDH5A1:** Aldehyde Dehydrogenase 5 Family, Member A1

**AMPc :** adénosine mono-phosphate cyclique

**ARN:** acide ribonucléique

**ATP:** adénosine tri-phosphate

**BDNF:** Brain-Derived Neurotrophic Factor

**CAMS:** Centre d'Action Médico-Sociale Précoce

**CGH** comparative genomic hybridization

**CH** motif cystéine et histidine

**CKO** knock-out conditionné

**CNV:** Copy Number Variant

**CREBP:** cAMP response element-binding protein (CREB) binding protein

**CBP:** protéine codée par *CREBBP*

**EDBr ou Bromo:** bromodomaine

**BRCA1 :** BRest CAncer type 1

**dHPLC** Chromatographie Liquide à Haute Performance dénaturante

**DI:** déficience/déficit intellectuel

**DS:** Déviation Standard

**EEG** électroencéphalogramme

**EN:** eleven-nineteen leukemia, protéine codée par *MLLT1*

**EP300:** EA1-associated protein p300

**FISH** Fluorescent *In Situ* Hybridization

**GABA :** acide gamma-aminobutyrique

**HAS:** Haute Autorité de Santé

**HAT:** histone acétyltransférase

**HDAC** Histone Désacétylase

**HRM** High Resolution Melting

**IMC:** indice/index de masse corporelle

**IME:** Institut Médico-Educatif

**IRM:** imagerie par résonance magnétique

**kb :** kilobase

**KAT:** lysine acétyltransférase

**kDa :** kilodalton

**KI:** knock-in

**KIX** Kinase Inducible Domain Interaction

**KO** knock-out

**Mb:** megabase

**MEC** matrice extracellulaire

**MILI:** Mixed Lineage Leukemia, Translocated to, 1

**MPE:** Modification post-raductionnelle

**nBAF:** neuron-specific Brg1/hBrm Associated Factor

**NGS:** Next Generation Sequencing

**NR1DCou RID** domaine d'interaction aux récepteurs nucléaires

**OMM** Online Mendelian Inheritance in Man

**p300:** protéine codée par *EP300*

**pb :** paire de bases

**PC** périmètre crânien

**PCAF:** p300/CBP Associated Factor

**PCR:** polymerase chain reaction

**PHD:** Plant homeodomain

**PKD1 :** Polycystin 1

**PHRC:** Programme Hospitalier de Recherche Clinique

**PNS:** Protocole National de Diagnostic et de Soins

**QI:** quotient intellectuel

**QMPCR :** Quantitative Multiplex Fluorescente PCR

**qPCR:** PCR quantitative

**RCU:** retard de croissance intra-utérin

**RCO:** reflux gastro-oesophagien  
**RSIS:** Rubinstein-Taybi syndrome  
**SA:** semaine d'aménorrhée  
**SAHA :** acide suberoylanilide hydroxamique  
**SESSAD:** Service d'Education Spéciale et de Soins à Domicile  
**SNP:** Single Nucleotide Polymorphisme  
**SRT:** syndrome de Rubinstein-Taybi  
**SSADH :** Succinic semialdehyde dehydrogenase  
**SWI/SWF:** SWItch/Sucrose Non-Fermentable  
**TBP:** TATA-binding protein  
**TFII B:** Transcription Factor II B  
**TN B:** Tenascin XB  
**TO D:** transit œso-gastro-duodéal  
**TSA:** troubles du spectre de l'autisme  
**TSA:** trichostatine A  
**WES:** Whole Exome Sequencing

# REFERENCES

1. Hennekam, R. C. M. Rubinstein-Taybi syndrome. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* **14**, 981–985 (2006).
2. Bartsch, O. *et al.* Inheritance and variable expression in Rubinstein–Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet. A* **152A**, 2254–2261 (2010).
3. Rubinstein, J. H. Broad thumb-hallux (Rubinstein-Taybi) syndrome 1957–1988. *Am. J. Med. Genet.* **37**, 3–16 (1990).
4. Rubinstein, J. H. & Taybi, H. Broad thumbs and toes and facial abnormalities. A possible mental retardation syndrome. *Am. J. Dis. Child.* 1960 **105**, 588–608 (1963).
5. Hennekam, R. C. M., Van Den Boogaard, M.-J., Sibbles, B. J. & Van Spijker, H. G. Rubinstein-Taybi syndrome in the Netherlands. *Am. J. Med. Genet.* **37**, 17–29 (1990).
6. Hennekam, R. C. M. Rubinstein–Taybi syndrome. *Eur. J. Hum. Genet.* **14**, 981–985 (2006).
7. Stevens, C. A., Carey, J. C. & Blackburn, B. L. Rubinstein-Taybi syndrome: A natural history study. *Am. J. Med. Genet.* **37**, 30–37 (1990).
8. Petrif, F. *et al.* Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP. *Nature* **376**, 348–351 (1995).
9. Roelfsema, J. H. *et al.* Genetic Heterogeneity in Rubinstein-Taybi Syndrome: Mutations in Both the CBP and EP300 Genes Cause Disease. *Am. J. Hum. Genet.* **76**, 572–580 (2005).
10. Bartsch, O. *et al.* DNA sequencing of CREBBP demonstrates mutations in 56% of patients with Rubinstein–Taybi syndrome (RSTS) and in another patient with incomplete RSTS. *Hum. Genet.* **117**, 485–493 (2005).
11. Kalkhoven, E. *et al.* Loss of CBP acetyltransferase activity by PHD finger mutations in Rubinstein–Taybi syndrome. *Hum. Mol. Genet.* **12**, 441–450 (2003).
12. Coupry, I. *et al.* Molecular analysis of the CBP gene in 60 patients with Rubinstein-Taybi syndrome. *J. Med. Genet.* **39**, 415–421 (2002).

13. Murata, T. *et al.* Defect of histone acetyltransferase activity of the nuclear transcriptional coactivator CBP in Rubinstein–Taybi syndrome. *Hum. Mol. Genet.* **10**, 1071–1076 (2001).
14. Sharma, N., Mali, A. M. & Bapat, S. A. Spectrum of CREBBP mutations in Indian patients with Rubinstein-Taybi syndrome. *J. Biosci.* **35**, 187–202 (2010).
15. Udaka, T. *et al.* Comprehensive screening of CREB-binding protein gene mutations among patients with Rubinstein-Taybi syndrome using denaturing high-performance liquid chromatography. *Congenit. Anom.* **45**, 125–131 (2005).
16. Zimmermann, N., Acosta, A. M. B. F., Kohlhase, J. & Bartsch, O. Confirmation of EP300 gene mutations as a rare cause of Rubinstein–Taybi syndrome. *Eur. J. Hum. Genet.* **15**, 837–842 (2007).
17. Bartholdi, D. *et al.* Genetic heterogeneity in Rubinstein–Taybi syndrome: delineation of the phenotype of the first patients carrying mutations in EP300. *J. Med. Genet.* **44**, 327–333 (2007).
18. Foley, P., Bunyan, D., Stratton, J., Dillon, M. & Lynch, S. A. Further case of Rubinstein–Taybi syndrome due to a deletion in EP300. *Am. J. Med. Genet. A.* **149A**, 997–1000 (2009).
19. Tsai, A. C.-H. *et al.* Exon deletions of the EP300 and CREBBP genes in two children with Rubinstein–Taybi syndrome detected by aCGH. *Eur. J. Hum. Genet.* **19**, 43–49 (2011).
20. Negri, G. *et al.* Clinical and molecular characterization of Rubinstein-Taybi syndrome patients carrying distinct novel mutations of the EP300 gene. *Clin. Genet.* **87**, 148–154 (2015).
21. Lopez-Atalaya, J. P., Valor, L. M. & Barco, A. in *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (ed. Lubin, S. A. and F.) **128**, 139–176 (Academic Press, 2014).



22. Waddington, C. H. The Epigenotype. *Int. J. Epidemiol.* **41**, 10–13 (2012).
23. Redon, C. *et al.* Histone H2A variants H2AX and H2AZ. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **12**, 162–169 (2002).
24. Chodaparambil, J. V., Edayathumangalam, R. S., Bao, Y., Park, Y. J. & Luger, K. Nucleosome structure and function. *Ernst Scher. Res. Found. Workshop* 29–46 (2006).
25. Grunstein, M. Histones as regulators of genes. *Sci. Am.* **267**, 68–74B (1992).
26. Kouzarides, T. Chromatin Modifications and Their Function. *Cell* **128**, 693–705 (2007).
27. Jenuwein, T. & Allis, C. D. Translating the Histone Code. *Science* **293**, 1074–1080 (2001).
28. Strahl, B. D. & Allis, C. D. The language of covalent histone modifications. *Nature* **403**, 41–45 (2000).
29. Zhou, V. W., Goren, A. & Bernstein, B. E. Charting histone modifications and the functional organization of mammalian genomes. *Nat. Rev. Genet.* **12**, 7–18 (2011).
30. Garcia, B. A. Mass spectrometric analysis of histone variants and post-translational modifications. *Front. Biosci. Sch. Ed.* **1**, 142–153 (2009).
31. Xing, S. & Poirier, Y. The protein acetylome and the regulation of metabolism. *Trends Plant Sci.* **17**, 423–430 (2012).
32. Allis, C. D. *et al.* New Nomenclature for Chromatin-Modifying Enzymes. *Cell* **131**, 633–636 (2007).
33. Phillips, D. M. P. The presence of acetyl groups in histones. *Biochem. J.* **87**, 258–263 (1963).
34. Allfrey, V. G., Faulkner, R. & Mirsky, A. E. ACETYLATION AND METHYLATION OF HISTONES AND THEIR POSSIBLE ROLE IN THE

- REGULATION OF RNA SYNTHESIS\*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **51**, 786–794 (1964).
35. Brownell, J. E. *et al.* Tetrahymena Histone Acetyltransferase A: A Homolog to Yeast Gcn5p Linking Histone Acetylation to Gene Activation. *Cell* **84**, 843–851 (1996).
  36. Valor, L., Viosca, J., Lopez-Atalaya, J. & Barco, A. Lysine Acetyltransferases CBP and p300 as Therapeutic Targets in Cognitive and Neurodegenerative Disorders. *Curr. Pharm. Des.* **19**, 5051–5064 (2013).
  37. Grunstein, M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature* **389**, 349–352 (1997).
  38. Dhalluin, C. *et al.* Structure and ligand of a histone acetyltransferase bromodomain. *Nature* **399**, 491–496 (1999).
  39. Wang, Z. *et al.* Genome-wide Mapping of HATs and HDACs Reveals Distinct Functions in Active and Inactive Genes. *Cell* **138**, 1019–1031 (2009).
  40. Verdin, E. & Ott, M. 50 years of protein acetylation: from gene regulation to epigenetics, metabolism and beyond. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **16**, 258–264 (2015).
  41. Yee, S. P. & Branton, P. E. Detection of cellular proteins associated with human adenovirus type 5 early region 1A polypeptides. *Virology* **147**, 142–153 (1985).
  42. Whyte, P., Williamson, N. M. & Harlow, E. Cellular targets for transformation by the adenovirus E1A proteins. *Cell* **56**, 67–75 (1989).
  43. Eckner, R. *et al.* Molecular cloning and functional analysis of the adenovirus E1A-associated 300-kD protein (p300) reveals a protein with properties of a transcriptional adaptor. *Genes Dev.* **8**, 869–884 (1994).
  44. Chrivia, J. C. *et al.* Phosphorylated CREB binds specifically to the nuclear protein CBP. *Nature* **365**, 855–859 (1993).

45. Eckner, R. p300 and CBP as transcriptional regulators and targets of oncogenic events. *Biol. Chem.* **377**, 685–688 (1996).
46. Taddei, A. & Gasser, S. M. Structure and Function in the Budding Yeast Nucleus. *Genetics* **192**, 107–129 (2012).
47. Rando, O. J. & Chang, H. Y. Genome-Wide Views of Chromatin Structure. *Annu. Rev. Biochem.* **78**, 245–271 (2009).
48. Bordoli, L., Netsch, M., Lüthi, U., Lutz, W. & Eckner, R. Plant orthologs of p300/CBP: conservation of a core domain in metazoan p300/CBP acetyltransferase-related proteins. *Nucleic Acids Res.* **29**, 589–597 (2001).
49. Giles, R. H., Dauwerse, H. G., van Ommen, G. J. & Breuning, M. H. Do human chromosomal bands 16p13 and 22q11-13 share ancestral origins? *Am. J. Hum. Genet.* **63**, 1240–1242 (1998).
50. Dancy, B. M. & Cole, P. A. Protein Lysine Acetylation by p300/CBP. *Chem. Rev.* **115**, 2419–2452 (2015).
51. Valor, L. M., Viosca, J., Lopez-Atalaya, J. P. & Barco, A. Lysine Acetyltransferases CBP and p300 as Therapeutic Targets in Cognitive and Neurodegenerative Disorders. *Curr. Pharm. Des.* **19**, 5051–5064 (2013).
52. Yang, X.-J. & Seto, E. Lysine acetylation: codified crosstalk with other posttranslational modifications. *Mol. Cell* **31**, 449–461 (2008).
53. Bedford, D. C. & Brindle, P. K. Is histone acetylation the most important physiological function for CBP and p300? *Aging* **4**, 247–255 (2012).
54. Bedford, D. C., Kasper, L. H., Fukuyama, T. & Brindle, P. K. Target gene context influences the transcriptional requirement for the KAT3 family of CBP and p300 histone acetyltransferases. *Epigenetics Off. J. DNA Methylation Soc.* **5**, 9–15 (2010).

55. Wang, L., Tang, Y., Cole, P. A. & Marmorstein, R. Structure and chemistry of the p300/CBP and Rtt109 histone acetyltransferases: Implications for histone acetyltransferase evolution and function. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **18**, 741–747 (2008).
56. *Histol Histopathol*, Vol 17, Janknecht. Available at:  
[http://www.hh.um.es/Abstracts/Vol\\_17/17\\_2/17\\_2\\_657.htm](http://www.hh.um.es/Abstracts/Vol_17/17_2/17_2_657.htm). (Accessed: 27th July 2016)
57. Iyer, N. G., Özdag, H. & Caldas, C. p300/CBP and cancer. *Oncogene* **23**, 4225–4231 (2004).
58. Hasan, S., Hassa, P. O., Imhof, R. & Hottiger, M. O. Transcription coactivator p300 binds PCNA and may have a role in DNA repair synthesis. *Nature* **410**, 387–391 (2001).
59. Tini, M. *et al.* Association of CBP/p300 Acetylase and Thymine DNA Glycosylase Links DNA Repair and Transcription. *Mol. Cell* **9**, 265–277 (2002).
60. Ait-Si-Ali, S. *et al.* CBP/p300 histone acetyl-transferase activity is important for the G1/S transition. *Oncogene* **19**, 2430–2437 (2000).
61. Bannister, A. J., Miska, E. A., Görlich, D. & Kouzarides, T. Acetylation of importin- $\alpha$  nuclear import factors by CBP/p300. *Curr. Biol.* **10**, 467–470 (2000).
62. Chan, H. M. & Thangue, N. B. L. p300/CBP proteins: HATs for transcriptional bridges and scaffolds. *J. Cell Sci.* **114**, 2363–2373 (2001).
63. Kung, A. L. *et al.* Gene dose-dependent control of hematopoiesis and hematologic tumor suppression by CBP. *Genes Dev.* **14**, 272–277 (2000).
64. Yao, T.-P. *et al.* Gene Dosage-Dependent Embryonic Development and Proliferation Defects in Mice Lacking the Transcriptional Integrator p300. *Cell* **93**, 361–372 (1998).
65. Kalkhoven, E. CBP and p300: HATs for different occasions. *Biochem. Pharmacol.* **68**, 1145–1155 (2004).

66. Kasper, L. H. *et al.* Conditional Knockout Mice Reveal Distinct Functions for the Global Transcriptional Coactivators CBP and p300 in T-Cell Development. *Mol. Cell. Biol.* **26**, 789–809 (2006).
67. Chen, J. & Li, Q. Life and death of transcriptional co-activator p300. *Epigenetics* **6**, 957–961 (2011).
68. Hsieh, J., Nakashima, K., Kuwabara, T., Mejia, E. & Gage, F. H. Histone deacetylase inhibition-mediated neuronal differentiation of multipotent adult neural progenitor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 16659–16664 (2004).
69. Levenson, J. M. *et al.* Regulation of Histone Acetylation during Memory Formation in the Hippocampus. *J. Biol. Chem.* **279**, 40545–40559 (2004).
70. Monsey, M. S., Ota, K. T., Akingbade, I. F., Hong, E. S. & Schafe, G. E. Epigenetic Alterations Are Critical for Fear Memory Consolidation and Synaptic Plasticity in the Lateral Amygdala. *PLoS ONE* **6**, (2011).
71. Bousiges, O. *et al.* Spatial Memory Consolidation is Associated with Induction of Several Lysine-Acetyltransferase (Histone Acetyltransferase) Expression Levels and H2B/H4 Acetylation-Dependent Transcriptional Events in the Rat Hippocampus. *Neuropsychopharmacology* **35**, 2521–2537 (2010).
72. Lubin, F. D. & Sweatt, J. D. THE I $\kappa$ B KINASE REGULATES CHROMATIN STRUCTURE DURING RECONSOLIDATION OF CONDITIONED FEAR MEMORIES. *Neuron* **55**, 942–957 (2007).
73. Bredy, T. W. *et al.* Histone modifications around individual BDNF gene promoters in prefrontal cortex are associated with extinction of conditioned fear. *Learn. Mem.* **14**, 268–276 (2007).
74. Broide, R. S. *et al.* Distribution of histone deacetylases 1-11 in the rat brain. *J. Mol. Neurosci. MN* **31**, 47–58 (2007).

75. Maurice, T. *et al.* Altered Memory Capacities and Response to Stress in p300/CBP-Associated Factor (PCAF) Histone Acetylase Knockout Mice. *Neuropsychopharmacology* **33**, 1584–1602 (2008).
76. Duclot, F., Jacquet, C., Gongora, C. & Maurice, T. Alteration of working memory but not in anxiety or stress response in p300/CBP associated factor (PCAF) histone acetylase knockout mice bred on a C57BL/6 background. *Neurosci. Lett.* **475**, 179–183 (2010).
77. Ogryzko, V. V., Schiltz, R. L., Russanova, V., Howard, B. H. & Nakatani, Y. The Transcriptional Coactivators p300 and CBP Are Histone Acetyltransferases. *Cell* **87**, 953–959 (1996).
78. Tanaka, Y. *et al.* Abnormal skeletal patterning in embryos lacking a single Cbp allele: A partial similarity with Rubinstein–Taybi syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **94**, 10215–10220 (1997).
79. Oike, Y. *et al.* Truncated CBP Protein Leads to Classical Rubinstein—Taybi Syndrome Phenotypes in Mice: Implications for a Dominant-Negative Mechanism. *Hum. Mol. Genet.* **8**, 387–396 (1999).
80. Roth, J.-F. *et al.* Differential role of p300 and CBP acetyltransferase during myogenesis: p300 acts upstream of MyoD and Myf5. *EMBO J.* **22**, 5186–5196 (2003).
81. Kasper, L. H. *et al.* Two transactivation mechanisms cooperate for the bulk of HIF-1-responsive gene expression. *EMBO J.* **24**, 3846–3858 (2005).
82. Zhang, Z., Hofmann, C., Casanova, E., Schütz, G. & Lutz, B. Generation of a conditional allele of the CBP gene in mouse. *genesis* **40**, 82–89 (2004).
83. Kang-Decker, N. *et al.* Loss of CBP causes T cell lymphomagenesis in synergy with p27Kip1 insufficiency. *Cancer Cell* **5**, 177–189 (2004).
84. Korzus, E., Rosenfeld, M. G. & Mayford, M. CBP Histone Acetyltransferase Activity Is a Critical Component of Memory Consolidation. *Neuron* **42**, 961–972 (2004).

85. Wood, M. A. *et al.* Transgenic mice expressing a truncated form of CREB-binding protein (CBP) exhibit deficits in hippocampal synaptic plasticity and memory storage. *Learn. Mem.* **12**, 111–119 (2005).
86. Oliveira, A. M. M., Wood, M. A., McDonough, C. B. & Abel, T. Transgenic mice expressing an inhibitory truncated form of p300 exhibit long-term memory deficits. *Learn. Mem.* **14**, 564–572 (2007).
87. Shikama, N. *et al.* Essential function of p300 acetyltransferase activity in heart, lung and small intestine formation. *EMBO J.* **22**, 5175–5185 (2003).
88. Kasper, L. H. *et al.* Two transactivation mechanisms cooperate for the bulk of HIF-1-responsive gene expression. *EMBO J.* **24**, 3846–3858 (2005).
89. Erdmann, G., Schütz, G. & Berger, S. Inducible gene inactivation in neurons of the adult mouse forebrain. *BMC Neurosci.* **8**, 63 (2007).
90. Mayford, M. *et al.* Control of Memory Formation Through Regulated Expression of a CaMKII Transgene. *Science* **274**, 1678–1683 (1996).
91. Goodman, R. H. & Smolik, S. CBP/p300 in cell growth, transformation, and development. *Genes Dev.* **14**, 1553–1577 (2000).
92. Tanaka, Y. *et al.* Extensive brain hemorrhage and embryonic lethality in a mouse null mutant of CREB-binding protein. *Mech. Dev.* **95**, 133–145 (2000).
93. Chen, G., Zou, X., Watanabe, H., van Deursen, J. M. & Shen, J. CBP is required for both short-term and long-term memory formation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **30**, 13066–13077 (2010).
94. Valor, L. M. *et al.* Ablation of CBP in Forebrain Principal Neurons Causes Modest Memory and Transcriptional Defects and a Dramatic Reduction of Histone Acetylation But Does Not Affect Cell Viability. *J. Neurosci.* **31**, 1652–1663 (2011).

95. Viosca, J., Lopez-Atalaya, J. P., Olivares, R., Eckner, R. & Barco, A. Syndromic features and mild cognitive impairment in mice with genetic reduction on p300 activity: Differential contribution of p300 and CBP to Rubinstein–Taybi syndrome etiology. *Neurobiol. Dis.* **37**, 186–194 (2010).
96. Yamauchi, T. *et al.* Increased insulin sensitivity despite lipodystrophy in Crebbp heterozygous mice. *Nat. Genet.* **30**, 221–226 (2002).
97. Wang, F., Marshall, C. B. & Ikura, M. Transcriptional/epigenetic regulator CBP/p300 in tumorigenesis: structural and functional versatility in target recognition. *Cell. Mol. Life Sci.* **70**, 3989–4008 (2013).
98. Miller, R. W. & Rubinstein, J. H. Tumors in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **56**, 112–115 (1995).
99. Barco, A. The Rubinstein–Taybi syndrome: modeling mental impairment in the mouse. *Genes Brain Behav.* **6**, 32–39 (2007).
100. Barrett, R. M. *et al.* Hippocampal Focal Knockout of CBP Affects Specific Histone Modifications, Long-Term Potentiation, and Long-Term Memory. *Neuropsychopharmacology* **36**, 1545–1556 (2011).
101. Alarcón, J. M. *et al.* Chromatin Acetylation, Memory, and LTP Are Impaired in CBP<sup>+/-</sup> Mice: A Model for the Cognitive Deficit in Rubinstein-Taybi Syndrome and Its Amelioration. *Neuron* **42**, 947–959 (2004).
102. Oliveira, A. M. M. *et al.* Subregion-specific p300 conditional knock-out mice exhibit long-term memory impairments. *Learn. Mem.* **18**, 161–169 (2011).
103. Lopez-Atalaya, J. P. *et al.* Histone acetylation deficits in lymphoblastoid cell lines from patients with Rubinstein–Taybi syndrome. *J. Med. Genet.* **49**, 66–74 (2012).



104. Michail, J., Matsoukas, J. & Theodorou, S. [Arched, clubbed thumb in strong abduction-extension & other concomitant symptoms]. *Rev. Chir. Orthopédique Réparatrice Appar. Mot.* **43**, 142–146 (1957).
105. Simpson, N. E. The Rubinstein-Taybi Syndrome: chromosomal studies. *Am. J. Hum. Genet.* **25**, 230–236 (1973).
106. Beets, L., Rodríguez-Fonseca, C. & Hennekam, R. C. Growth charts for individuals with Rubinstein–Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **164**, 2300–2309 (2014).
107. Stevens, C. A., Hennekam, R. C. M. & Blackburn, B. L. Growth in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **37**, 51–55 (1990).
108. Allanson, J. E. Microcephaly in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **46**, 244–246 (1993).
109. Guion-Almeida, M. L. & Richieri-Costa, A. Callosal agenesis, iris coloboma, and megacolon in a Brazilian boy with Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **43**, 929–931 (1992).
110. Marzuillo, P. *et al.* Novel cAMP binding protein-BP (CREBBP) mutation in a girl with Rubinstein-Taybi syndrome, GH deficiency, Arnold Chiari malformation and pituitary hypoplasia. *BMC Med. Genet.* **14**, 28 (2013).
111. Tanaka, T., Ling, B. C., Rubinstein, J. H. & Crone, K. R. Rubinstein–Taybi syndrome in children with tethered spinal cord. *J. Neurosurg. Pediatr.* **105**, 261–264 (2006).
112. Skousen, G. J., Wardinsky, T. & Chenaille, P. Medulloblastoma in patient with Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **66**, 367 (1996).
113. Siraganian, P. A., Rubinstein, J. H. & Miller, R. W. Keloids and neoplasms in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Med. Pediatr. Oncol.* **17**, 485–491 (1989).
114. Galéra, C. *et al.* Socio-behavioral characteristics of children with Rubinstein-Taybi syndrome. *J. Autism Dev. Disord.* **39**, 1252–1260 (2009).

115. Yagihashi, T. *et al.* Age-dependent change in behavioral feature in Rubinstein-Taybi syndrome. *Congenit. Anom.* **52**, 82–86 (2012).
116. Allanson, J. E. Rubinstein-Taybi syndrome: The changing face. *Am. J. Med. Genet.* **37**, 38–41 (1990).
117. Allanson, J. E. & Hennekam, R. C. Rubinstein-Taybi syndrome: objective evaluation of craniofacial structure. *Am. J. Med. Genet.* **71**, 414–419 (1997).
118. Rubinstein, J. H. & Taybi, H. Broad thumbs and toes and facial abnormalities. A possible mental retardation syndrome. *Am. J. Dis. Child.* **1960** **105**, 588–608 (1963).
119. Hennekam, R. C. M., Van Den Boogaard, M.-J., Dijkstra, P. F. & Van de Kamp, J. J. P. Metacarpophalangeal pattern profile analysis in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **37**, 48–50 (1990).
120. Wincent, J. *et al.* CREBBP and EP300 mutational spectrum and clinical presentations in a cohort of Swedish patients with Rubinstein-Taybi syndrome. *Mol. Genet. Genomic Med.* **4**, 39–45 (2016).
121. Yamamoto, T. *et al.* Congenital anomaly of cervical vertebrae is a major complication of Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **135A**, 130–133 (2005).
122. Bonioli, E. *et al.* Slipped capital femoral epiphysis associated with Rubinstein-Taybi syndrome. *Clin. Genet.* **44**, 79–81 (1993).
123. Instability of the patellofemoral joint in Rubinstein-Taybi syndrome. - PubMed - NCBI. Available at:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov.gate2.inist.fr/pubmed/?term=mehlman+rubinstein>.  
(Accessed: 25th July 2016)
124. Hennekam, R. C. M. & Van Doorne, J. M. Oral aspects of Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **37**, 42–47 (1990).

125. Bloch-Zupan, A. *et al.* Oro-dental features as useful diagnostic tool in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **143A**, 570–573 (2007).
126. Brei, T. J., Burke, M. J. & Rubinstein, J. H. Glaucoma and findings simulating glaucoma in the Rubinstein-Taybi syndrome. *J. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus* **32**, 248–252 (1995).
127. van Genderen, M. M., Kinds, G., Riemsdag, F. & Hennekam, R. Ocular features in Rubinstein-Taybi syndrome: investigation of 24 patients and review of the literature. *Br. J. Ophthalmol.* **84**, 1177–1184 (2000).
128. Wiley, S., Swayne, S., Rubinstein, J. H., Lanphear, N. E. & Stevens, C. A. Rubinstein-Taybi syndrome medical guidelines. *Am. J. Med. Genet. A.* **119A**, 101–110 (2003).
129. Milani, D. *et al.* Rubinstein-Taybi syndrome: clinical features, genetic basis, diagnosis, and management. *Ital. J. Pediatr.* **41**, 4 (2015).
130. Grunow, J. E. Gastroesophageal reflux in Rubinstein-Taybi syndrome. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **1**, 273–274 (1982).
131. Isidor, B. *et al.* Rubinstein-Taybi syndrome and Hirschsprung disease in a patient harboring an intragenic deletion of the CREBBP gene. *Am. J. Med. Genet. A.* **152A**, 1847–1848 (2010).
132. Moe, J. K., Holland, M. D. & Johnson, R. K. Breastfeeding Practices of Infants with Rubinstein-Taybi Syndrome. *J. Hum. Lact.* **14**, 311–315 (1998).
133. Stevens, C. A. & Bhakta, M. G. Cardiac abnormalities in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **59**, 346–348 (1995).
134. Zucconi, M., Ferini-Strambi, L., Erminio, C., Pestalozza, G. & Smirne, S. Obstructive sleep apnea in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Respir. Int. Rev. Thorac. Dis.* **60**, 127–132 (1993).

135. van de Kar, A. I. *et al.* Keloids in Rubinstein–Taybi syndrome: a clinical study. *Br. J. Dermatol.* **171**, 615–621 (2014).
136. Cambiaghi, S., Ermacora, E., Brusasco, A., Canzi, L. & Caputo, R. Multiple pilomatricomas in Rubinstein-Taybi syndrome: a case report. *Pediatr. Dermatol.* **11**, 21–25 (1994).
137. Papatthemeli, D. *et al.* Pilomatricomas in Rubinstein-Taybi syndrome. *JDDG J. Dtsch. Dermatol. Ges.* **13**, 240–242 (2015).
138. Chiang, P.-W. *et al.* Somatic and germ-line mosaicism in Rubinstein–Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **149A**, 1463–1467 (2009).
139. Hennekam, R. C., Lommen, E. J., Strengers, J. L., Van Spijker, H. G. & Jansen-Kokx, T. M. Rubinstein-Taybi syndrome in a mother and son. *Eur. J. Pediatr.* **148**, 439–441 (1989).
140. Cotsirilios, P., Taylor, J. C. & Matalon, R. Dominant inheritance of a syndrome similar to Rubinstein-Taybi. *Am. J. Med. Genet.* **26**, 85–93 (1987).
141. Marion, R. W., Garcia, D. M. & Karasik, J. B. Apparent dominant transmission of the Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **46**, 284–287 (1993).
142. Petrij, F. *et al.* Diagnostic analysis of the Rubinstein-Taybi syndrome: five cosmids should be used for microdeletion detection and low number of protein truncating mutations. *J. Med. Genet.* **37**, 168–176 (2000).
143. Imaizumi, K. & Kuroki, Y. Rubinstein-Taybi syndrome with de novo reciprocal translocation t(2;16) (p13.3; p13.3). *Am. J. Med. Genet.* **38**, 636–639 (1991).
144. Imaizumi, K., Kurosawa, K., Masuno, M., Tsukahara, M. & Kuroki, Y. Chromosome aberrations in Rubinstein-Taybi syndrome. *Clin. Genet.* **43**, 215–216 (1993).
145. Lacombe, D., Saura, R., Taine, L. & Battin, J. Confirmation of assignment of a locus for rubinstein-taybi syndrome gene to 16p13.3. *Am. J. Med. Genet.* **44**, 126–128 (1992).

146. Tommerup, N., Van Der Hagen, C. B. & Heiberg, A. Tentative assignment of a locus for Rubinstein-Taybi syndrome to 16p13.3 by a de novo reciprocal translocation, t(7;16)(q34;p13.3). *Am. J. Med. Genet.* **44**, 237–241 (1992).
147. Cellular targets for transformation by the adenovirus E1A proteins. Available at: <http://www.sciencedirect.com.gate2.inist.fr/science/article/pii/0092867489909847>. (Accessed: 11th July 2016)
148. Egan, C. *et al.* Mapping of cellular protein-binding sites on the products of early-region 1A of human adenovirus type 5. *Mol. Cell. Biol.* **8**, 3955–3959 (1988).
149. Hennekam, R. C. M., Stevens, C. A. & Van de Kamp, J. J. P. Etiology and recurrence risk in Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **37**, 56–64 (1990).
150. Wydner, K. L., Bhattacharya, S., Eckner, R., Lawrence, J. B. & Livingston, D. M. Localization of human CREB-binding protein gene (CREBBP) to 16p13.2-p13.3 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* **30**, 395–396 (1995).
151. Menke, L. A. *et al.* CREBBP mutations in individuals without Rubinstein-Taybi syndrome phenotype. *Am. J. Med. Genet. A.* n/a-n/a (2016). doi:10.1002/ajmg.a.37800
152. Base HGMD <https://portal.biobase-international.com/hgmd/pro/start.php>.
153. Home - LOVD - An Open Source DNA variation database system. Available at: <http://www.lovd.nl/3.0/home>. (Accessed: 7th August 2016)
154. Coupry, I. *et al.* Analysis of CBP (CREBBP) gene deletions in Rubinstein-Taybi syndrome patients using real-time quantitative PCR. *Hum. Mutat.* **23**, 278–284 (2004).
155. Gervasini, C. *et al.* High frequency of mosaic CREBBP deletions in Rubinstein-Taybi syndrome patients and mapping of somatic and germ-line breakpoints. *Genomics* **90**, 567–573 (2007).

156. Rusconi, D. *et al.* Characterization of 14 novel deletions underlying Rubinstein–Taybi syndrome: an update of the CREBBP deletion repertoire. *Hum. Genet.* **134**, 613–626 (2015).
157. Woods, S. A. *et al.* Exome sequencing identifies a novel EP300 frame shift mutation in a patient with features that overlap cornelia de lange syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **164**, 251–258 (2014).
158. Masuda, K. *et al.* Exome Sequencing Identification of EP300 Mutation in a Proband with Coloboma and Imperforate Anus: Possible Expansion of the Phenotypic Spectrum of Rubinstein-Taybi Syndrome. *Mol. Syndromol.* **6**, 99–103 (2015).
159. Negri, G. *et al.* From Whole Gene Deletion to Point Mutations of EP300-Positive Rubinstein–Taybi Patients: New Insights into the Mutational Spectrum and Peculiar Clinical Hallmarks. *Hum. Mutat.* **37**, 175–183 (2016).
160. Bounakis, N., Karampalis, C., Sharp, H. & Tsirikos, A. I. Surgical treatment of scoliosis in Rubinstein-Taybi syndrome type 2: a case report. *J. Med. Case Reports* **9**, (2015).
161. Tamhankar, P. M., Merchant, R. & Shah, A. Rubinstein Taybi Syndrome in an Indian Child due to EP300 Gene Mutation. *Indian J. Pediatr.* **83**, 473–474 (2015).
162. Solomon, B. D. *et al.* Expanding the phenotypic spectrum in EP300-related Rubinstein–Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **167**, 1111–1116 (2015).
163. Bentivegna, A. *et al.* Rubinstein-Taybi Syndrome: spectrum of CREBBP mutations in Italian patients. *BMC Med. Genet.* **7**, 77 (2006).
164. Schorry, E. k. *et al.* Genotype–phenotype correlations in Rubinstein–Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* **146A**, 2512–2519 (2008).

165. Spena, S. *et al.* Insights into genotype–phenotype correlations from CREBBP point mutation screening in a cohort of 46 Rubinstein–Taybi syndrome patients. *Clin. Genet.* **88**, 431–440 (2015).
166. Bartsch, O. *et al.* Evidence for a new contiguous gene syndrome, the chromosome 16p13.3 deletion syndrome alias severe Rubinstein–Taybi syndrome. *Hum. Genet.* **120**, 179–186 (2006).
167. Stef, M. *et al.* Spectrum of CREBBP gene dosage anomalies in Rubinstein–Taybi Syndrome patients. *Eur. J. Hum. Genet.* **15**, 843–847 (2007).
168. Protocole National de Soins pour le Syndrome de Rubinstein-Taybi, version 2012.
169. Gräff, J. & Tsai, L.-H. The Potential of HDAC Inhibitors as Cognitive Enhancers. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **53**, 311–330 (2013).
170. Fischer, A., Sananbenesi, F., Mungenast, A. & Tsai, L.-H. Targeting the correct HDAC(s) to treat cognitive disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* **31**, 605–617 (2010).
171. Bolden, J. E., Peart, M. J. & Johnstone, R. W. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat. Rev. Drug Discov.* **5**, 769–784 (2006).
172. Vecsey, C. G. *et al.* Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via CREB:CBP-dependent transcriptional activation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **27**, 6128–6140 (2007).
173. Castellano, J. F. *et al.* Reassessing the effects of histone deacetylase inhibitors on hippocampal memory and cognitive aging. *Hippocampus* **24**, 1006–1016 (2014).
174. Stefanko, D. P., Barrett, R. M., Ly, A. R., Reolon, G. K. & Wood, M. A. Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **106**, 9447–9452 (2009).
175. Nithianantharajah, J. & Hannan, A. J. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**, 697–709 (2006).

176. Lopez-Atalaya, J. P. *et al.* CBP is required for environmental enrichment-induced neurogenesis and cognitive enhancement. *EMBO J.* **30**, 4287–4298 (2011).
177. Alamut® Visual 2.8 Documentation: Missense Predictions. Available at: <http://www.interactive-biosoftware.com/doc/alamut-visual/2.8/missense-pred.html>. (Accessed: 26th September 2016)
178. STRING: functional protein association networks. Available at: <http://string-db.org/>. (Accessed: 10th September 2016)
179. Tajir, M. *et al.* Germline mosaicism in Rubinstein–Taybi syndrome. *Gene* **518**, 476–478 (2013).
180. UCSC Genome Browser Gateway. Available at: <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>. (Accessed: 14th September 2016)
181. Lee, J. S. *et al.* Clinical and mutational spectrum in Korean patients with Rubinstein–Taybi syndrome: The spectrum of brain MRI abnormalities. *Brain Dev.* **37**, 402–408 (2015).
182. Huisman, S. A., Redeker, E. J. W., Maas, S. M., Mannens, M. M. & Hennekam, R. C. M. High rate of mosaicism in individuals with Cornelia de Lange syndrome. *J. Med. Genet.* **50**, 339–344 (2013).
183. Bartsch, O. *et al.* Molecular studies in 10 cases of Rubinstein-Taybi syndrome, including a mild variant showing a missense mutation in codon 1175 of CREBBP. *J. Med. Genet.* **39**, 496–501 (2002).
184. Steegers, E. A., von Dadelszen, P., Duvekot, J. J. & Pijnenborg, R. Pre-eclampsia. *The Lancet* **376**, 631–644 (2010).
185. De Guzman, R. N., Liu, H. Y., Martinez-Yamout, M., Dyson, H. J. & Wright, P. E. Solution structure of the TAZ2 (CH3) domain of the transcriptional adaptor protein CBP1. *J. Mol. Biol.* **303**, 243–253 (2000).



186. Ponting, C. P., Blake, D. J., Davies, K. E., Kendrick-Jones, J. & Winder, S. J. ZZ and TAZ: new putative zinc fingers in dystrophin and other proteins. *Trends Biochem. Sci.* **21**, 11–13 (1996).
187. Gilissen, C. *et al.* Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature* **511**, 344–347 (2014).
188. Pénisson-Besnier, I. *et al.* Compound heterozygous mutations of the TNXB gene cause primary myopathy. *Neuromuscul. Disord.* **23**, 664–669 (2013).
189. Burch, G. H. *et al.* Tenascin–X deficiency is associated with Ehlers–Danlos syndrome. *Nat. Genet.* **17**, 104–108 (1997).
190. Gbadegesin, R. A. *et al.* TNXB Mutations Can Cause Vesicoureteral Reflux. *J. Am. Soc. Nephrol.* **24**, 1313–1322 (2013).
191. Chambliss, K. L. *et al.* Molecular Cloning of the Mature NAD-dependent Succinic Semialdehyde Dehydrogenase from Rat and Human cDNA ISOLATION, EVOLUTIONARY HOMOLOGY, AND TISSUE EXPRESSION. *J. Biol. Chem.* **270**, 461–467 (1995).
192. Gibson, K. M. *et al.* The Clinical Phenotype of Succinic Semialdehyde Dehydrogenase Deficiency (4-Hydroxybutyric Aciduria): Case Reports of 23 New Patients. *Pediatrics* **99**, 567–574 (1997).
193. Jakobs, C., Smit, L. M., Kneer, J., Michael, T. & Gibson, K. M. The first adult case with 4-hydroxybutyric aciduria. *J. Inherit. Metab. Dis.* **13**, 341–344 (1990).
194. López, A. J. & Wood, M. A. Role of nucleosome remodeling in neurodevelopmental and intellectual disability disorders. *Front. Behav. Neurosci.* **9**, (2015).
195. Charng, W.-L. *et al.* Exome sequencing in mostly consanguineous Arab families with neurologic disease provides a high potential molecular diagnosis rate. *BMC Med. Genomics* **9**, (2016).

## TRAVAUX SCIENTIFIQUES

### ➤ Article dans une revue internationale avec comité de lecture

- Fergelot P, Van Belzen M, **Van Gils J**, Afenjar A, Armour CM, Arveiler B, Beets L, Burglen L, Busa T, Collet M, Deforges J, de Vries BBA, Dominguez Garrido E, Dorison N, Dupont J, Francannet C, Garcíá-Minaúr S, Gabau Vila E, Gebre-Medhin S, Gener Querol B, Geneviève D, Gérard M, Gervasini CG, Goldenberg A, Josifova D, Lachlan K, Maas S, Maranda B, Moilanen JL, Nordgren A, Parent P, Rankin J, Reardon W, Rio M, Roume J, Shaw A, Smigiel R, Sojo A, Solomon B, Stembalska A, Stumpel C, Suarez F, Terhal P, Thomas S, Touraine R, Verloes A, Vincent-Delorme C, Wincent J, Peters DJM, Bartsch O, Larizza L, Lacombe D, Hennekam RC. Phenotype and Genotype in 52 Patients with Rubinstein-Taybi syndrome caused by *EP300* mutations. *Am J Med Genet A*. 2016 Sep 20. doi: 10.1002/ajmg.a.37940. [Epub ahead of print].

### ➤ Communications orales dans les congrès scientifiques

1. **Van Gils J**, Fergelot P, Van Belzen M, Lacombe D, Hennekam RC, EP300 Working Group. Phenotype and Genotype in 52 Patients with Rubinstein-Taybi syndrome caused by *EP300* mutations. American Society of Human Genetics (Vancouver, 18-22 octobre 2016).
2. **Van Gils J**, Desforges J, Trimouille A, Rooryck-Thambo C, Afenjar A, Bartsch O, Burglen L, Dorison N, Francannet C, Genevieve D, Goldenberg A, Lyonnet S, Maranda B, Parent P, Rio M, Roume J, Suarez F, Touraine R, Verloes A, Vincent-Delorme C, Arveiler B, Lacombe D, Fergelot P. Corrélations phénotype-génotype à partir de 20 patients avec syndrome de Rubinstein-Taybi et mutation dans le gène *EP300*. 7<sup>e</sup> assises de Génétique Humaine et Médicale (Bordeaux, 29-31 janvier 2014).

## SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.