HAL
open science

La Maladie des Exostoses Multiples : Analyse du génotype et phénotype d'une cohorte de 135 familles

Virginie Magry

▶ **To cite this version:**

Virginie Magry. La Maladie des Exostoses Multiples : Analyse du génotype et phénotype d'une cohorte de 135 familles. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02493866

HAL Id: dumas-02493866

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02493866

Submitted on 28 Feb 2020

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.

Année 2019 N°

UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE

UFR DE MÉDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMÉDICALES

THÈSE D'EXERCICE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

MAGRY VIRGINIE

Présentée et soutenue publiquement le 23 septembre 2019

La Maladie des Exostoses Multiples :
Analyse du génotype et phénotype d'une cohorte de 135 familles

Président du jury :

Mme CREVEAUX Isabelle, Professeure, UFR de Médecine et des Professions Paramédicales de Clermont-Ferrand

Membres du jury :

Mr GARCIER Jean-Marc, Professeur, UFR de Médecine et des Professions Paramédicales de Clermont-Ferrand

Mr CORNELIS François, Professeur, UFR de Médecine et des Professions Paramédicales de Clermont-Ferrand

Mme FRANCANNET Christine, Docteur, CHU Clermont-Ferrand (service de Génétique clinique)

Mme NACHURY-JANEL Caroline, Docteur, CHU Clermont-Ferrand (service de Génétique moléculaire)

UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

PRESIDENTS HONORAIRES UNIVERSITE D'AUVERGNE	: **JOYON** Louis : **DOLY** Michel : **TURPIN** Dominique : **VEYRE** Annie : **DULBECCO** Philippe : **ESCHALIER** Alain
PRESIDENTS HONORAIRES UNIVERSITE BLAISE PASCAL	: **CABANES** Pierre : **FONTAINE** Jacques : **BOUTIN** Christian : **MONTEIL** Jean-Marc : **ODOUARD** Albert : **LAVIGNOTTE** Nadine
PRESIDENT DE L'UNIVERSITE et PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE PLENIER	: **BERNARD** Mathias
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE RESTREINT	: **DEQUIEDT** Vianney
VICE-PRESIDENT DU CONSEIL D'ADMINISTRATION	: **WILLIAMS** Benjamin
VICE-PRESIDENT DE LA COMMISSION DE LA RECHERCHE	: **HENRARD** Pierre
VICE PRESIDENTE DE LA COMMISSION DE LA FORMATION ET DE LA VIE UNIVERSITAIRE	: **PEYRARD** Françoise
DIRECTEUR GENERAL DES SERVICES	: **PAQUIS** François

✧✧✧✧✧

UFR DE MEDECINE
ET DES PROFESSIONS PARAMEDICALES

DOYENS HONORAIRES	: **DETEIX** Patrice : **CHAZAL** Jean
DOYEN	: **CLAVELOU** Pierre
RESPONSABLE ADMINISTRATIVE	: **ROBERT** Gaëlle

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BACIN Franck - BEGUE René-Jean - BOUCHER Daniel - BOURGES Michel - BUSSIERE Jean-Louis - CANO Noël - CASSAGNES Jean - CATILINA Pierre - CHABANNES Jacques – CHAZAL Jean - CHIPPONI Jacques - CHOLLET Philippe - COUDERT Jean - DASTUGUE Bernard - DEMEOCQ François - DE RIBEROLLES Charles - ESCANDE Georges - Mme FONCK Yvette - MM. GENTOU Claude - GLANDDIER Gérard - Mmes GLANDDIER Phyllis - LAVARENNE Jeanine - MM. LAVERAN Henri - LEVAI Jean-Paul - MAGE Gérard - MALPUECH Georges - MARCHEIX Jean-Claude - MICHEL Jean-Luc - MOLINA Claude - MONDIE Jean-Michel - PERI Georges - PETIT Georges - PHILIPPE Pierre - PLAGNE Robert - PLANCHE Roger - PONSONNAILLE Jean - RAYNAUD Elie - REY Michel - Mme RIGAL Danièle - MM. ROZAN Raymond - SCHOEFFLER Pierre - SIROT Jacques - SOUTEYRAND Pierre - TANGUY Alain - TERVER Sylvain - THIEBLOT Philippe - TOURNILHAC Michel - VANNEUVILLE Guy - VIALLET Jean-François - Mle VEYRE Annie

PROFESSEURS EMERITES :

MM. - BEYTOUT Jean - BOITEUX Jean-Paul - BOMMELAER Gilles - CHAMOUX Alain - DAUPLAT Jacques - DETEIX Patrice - ESCHALIER Alain - IRTHUM Bernard - JACQUETIN Bernard - KEMENY Jean-Louis – Mme LAFEUILLE Hélène – MM. LEMERY Didier - LESOURD Bruno - LUSSON Jean-René - RIBAL Jean-Pierre

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PROFESSEURS DE CLASSE EXCEPTIONNELLE

M.	VAGO Philippe	Histologie-Embryologie Cytogénétique
M.	AUMAITRE Olivier	Médecine Interne
M.	LABBE André	Pédiatrie
M.	AVAN Paul	Biophysique et Traitement de l'Image
M.	DURIF Franck	Neurologie
M.	BOIRE Jean-Yves	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M.	BOYER Louis	Radiologie et Imagerie Médicale option Clinique
M.	POULY Jean-Luc	Gynécologie et Obstétrique
M.	CANIS Michel	Gynécologie-Obstétrique
Mme	PENAULT-LLORCA Frédérique	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M.	BAZIN Jean-Etienne	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
M.	BIGNON Yves Jean	Cancérologie option Biologique
M.	BOIRIE Yves	Nutrition Humaine
M.	CLAVELOU Pierre	Neurologie
M.	DUBRAY Claude	Pharmacologie Clinique
M.	GILAIN Laurent	O.R.L.

M.	LEMAIRE Jean-Jacques	Neurochirurgie
M.	CAMILLERI Lionel	Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M.	DAPOIGNY Michel	Gastro-Entérologie
M.	LLORCA Pierre-Michel	Psychiatrie d'Adultes
M.	PEZET Denis	Chirurgie Digestive
M.	SOUWEINE Bertrand	Réanimation Médicale
M.	BOISGARD Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
M.	CONSTANTIN Jean-Michel	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
Mme	DUCLOS Martine	Physiologie
M.	SCHMIDT Jeannot	Thérapeutique

PROFESSEURS DE 1ère CLASSE

M.	DECHELOTTE Pierre	Anatomie et Cytologie Pathologique
M.	CAILLAUD Denis	Pneumo-phtisiologie
M.	VERRELLE Pierre	Radiothérapie option Clinique
M.	CITRON Bernard	Cardiologie et Maladies Vasculaires
M.	D'INCAN Michel	Dermatologie -Vénéréologie
Mme	JALENQUES Isabelle	Psychiatrie d'Adultes
Mle	BARTHELEMY Isabelle	Chirurgie Maxillo-Faciale
M.	GARCIER Jean-Marc	Anatomie-Radiologie et Imagerie Médicale
M.	GERBAUD Laurent	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
M.	SOUBRIER Martin	Rhumatologie
M.	TAUVERON Igor	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
M.	MOM Thierry	Oto-Rhino-Laryngologie
M.	RICHARD Ruddy	Physiologie
M.	RUIVARD Marc	Médecine Interne
M.	SAPIN Vincent	Biochimie et Biologie Moléculaire
M.	BAY Jacques-Olivier	Cancérologie
M.	BERGER Marc	Hématologie
M.	COUDEYRE Emmanuel	Médecine Physique et de Réadaptation
Mme	GODFRAIND Catherine	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M.	ROSSET Eugénio	Chirurgie Vasculaire
M.	ABERGEL Armando	Hépatologie
M.	LAURICHESSE Henri	Maladies Infectieuses et Tropicales
M.	TOURNILHAC Olivier	Hématologie
M.	CHIAMBARETTA Frédéric	Ophtalmologie
M.	FILAIRE Marc	Anatomie – Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M.	GALLOT Denis	Gynécologie-Obstétrique
M.	GUY Laurent	Urologie
M.	TRAORE Ousmane	Hygiène Hospitalière
M.	ANDRE Marc	Médecine Interne
M.	BONNET Richard	Bactériologie, Virologie
M.	CACHIN Florent	Biophysique et Médecine Nucléaire
M.	COSTES Frédéric	Physiologie
M.	FUTIER Emmanuel	Anesthésiologie-Réanimation
Mme	HENG Anne-Elisabeth	Néphrologie
M.	MOTREFF Pascal	Cardiologie
Mme	PICKERING Gisèle	Pharmacologie Clinique

PROFESSEURS DE

2ème CLASSE

Mme	CREVEAUX Isabelle	Biochimie et Biologie Moléculaire
M.	FAICT Thierry	Médecine Légale et Droit de la Santé
Mme	KANOLD LASTAWIECKA Justyna	Pédiatrie
M.	TCHIRKOV Andréï	Cytologie et Histologie
M.	CORNELIS François	Génétique
M.	DESCAMPS Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M.	POMEL Christophe	Cancérologie – Chirurgie Générale
M.	CANAVESE Fédérico	Chirurgie Infantile
M.	LESENS Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
M.	RABISCHONG Benoît	Gynécologie Obstétrique
M.	AUTHIER Nicolas	Pharmacologie Médicale
M.	BROUSSE Georges	Psychiatrie Adultes/Addictologie
M.	BUC Emmanuel	Chirurgie Digestive
M.	CHABROT Pascal	Radiologie et Imagerie Médicale
M.	LAUTRETTE Alexandre	Néphrologie Réanimation Médicale
M.	AZARNOUSH Kasra	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
Mme	BRUGNON Florence	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
Mme	HENQUELL Cécile	Bactériologie Virologie
M.	ESCHALIER Romain	Cardiologie
M.	MERLIN Etienne	Pédiatrie
Mme	TOURNADRE Anne	Rhumatologie
M.	DURANDO Xavier	Cancérologie
M.	DUTHEIL Frédéric	Médecine et Santé au Travail
Mme	FANTINI Maria Livia	Neurologie
M.	SAKKA Laurent	Anatomie – Neurochirurgie
M.	BOURDEL Nicolas	Gynécologie-Obstétrique
M.	GUIEZE Romain	Hématologie
M.	POINCLOUX Laurent	Gastroentérologie
M.	SOUTEYRAND Géraud	Cardiologie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

M.	CLEMENT Gilles	Médecine Générale
Mme	MALPUECH-BRUGERE Corinne	Nutrition Humaine
M.	VORILHON Philippe	Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES

Mme	BOTTET-MAULOUBIER Anne	Médecine Générale
M.	CAMBON Benoît	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

Mme	CHAMBON Martine	Bactériologie Virologie
Mme	BOUTELOUP Corinne	Nutrition

MAITRES DE CONFERENCES DE 1ère CLASSE

M.	MORVAN Daniel	Biophysique et Traitement de l'Image
Mle	GOUMY Carole	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
Mme	FOGLI Anne	Biochimie Biologie Moléculaire
Mle	GOUAS Laetitia	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
M.	MARCEAU Geoffroy	Biochimie Biologie Moléculaire
Mme	MINET-QUINARD Régine	Biochimie Biologie Moléculaire
M.	ROBIN Frédéric	Bactériologie
Mle	VERONESE Lauren	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
M.	DELMAS Julien	Bactériologie
Mle	MIRAND Andrey	Bactériologie Virologie
M.	OUCHCHANE Lemlih	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M.	LIBERT Frédéric	Pharmacologie Médicale
Mle	COSTE Karen	Pédiatrie
M.	EVRARD Bertrand	Immunologie
Mle	AUMERAN Claire	Hygiène Hospitalière
M.	POIRIER Philippe	Parasitologie et Mycologie
Mme	CASSAGNES Lucie	Radiologie et Imagerie Médicale
M.	LEBRETON Aurélien	Hématologie

MAITRES DE CONFERENCES DE 2ème CLASSE

Mme	PONS Hanaë	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
M.	JABAUDON-GANDET Matthieu	Anesthésiologie – Réanimation Chirurgicale
M.	BOUVIER Damien	Biochimie et Biologie Moléculaire
M.	BUISSON Anthony	Gastroentérologie
M.	COLL Guillaume	Neurochirurgie
Mme	SARRET Catherine	Pédiatrie
M.	MAQDASY Salwan	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques
Mme	NOURRISSON Céline	Parasitologie - Mycologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme	BONHOMME Brigitte	Biophysique et Traitement de l'Image
Mme	VAURS-BARRIERE Catherine	Biochimie Biologie Moléculaire
M.	BAILLY Jean-Luc	Bactériologie Virologie
Mle	AUBEL Corinne	Oncologie Moléculaire
M.	BLANCHON Loïc	Biochimie Biologie Moléculaire
Mle	GUILLET Christelle	Nutrition Humaine
M.	BIDET Yannick	Oncogénétique
M.	MARCHAND Fabien	Pharmacologie Médicale
M.	DALMASSO Guillaume	Bactériologie
M.	SOLER Cédric	Biochimie Biologie Moléculaire
M.	GIRAUDET Fabrice	Biophysique et Traitement de l'Image
Mme	VAILLANT-ROUSSEL Hélène	Médecine Générale
Mme	LAPORTE Catherine	Médecine Générale
M.	LOLIGNIER Stéphane	Neurosciences – Neuropharmacologie
Mme	MARTEIL Gaëlle	Biologie de la Reproduction
M.	PINEL Alexandre	Nutrition Humaine

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES

M.	TANGUY Gilles	Médecine Générale
M.	BERNARD Pierre	Médecine Générale
Mme	ESCHALIER Bénédicte	Médecine Générale
Mme	RICHARD Amélie	Médecine Générale

Dédicace :

A NOTRE PRESIDENTE DE THESE

Madame le Professeur Isabelle CREVEAUX, Professeur des universités-Praticien Hospitalier, Chef du Service de Génétique Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand

Vous me faites l'immense honneur de présider ce jury et de juger mon travail de thèse. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur Jean-Marc GARCIER, Professeur des universités-Praticien Hospitalier, Chef du service d'Imagerie Médicale, CHU de Clermont-Ferrand

Vous me faites l'honneur de juger ce travail, veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

Monsieur le Professeur François CORNELIS, Professeur des universités-Praticien Hospitalier, Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de juger cette thèse. Je tiens à vous exprimer ma grande reconnaissance et mes profonds remerciements.

Madame le Docteur Christine FRANCANNET, Chef du Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand

Vous me faites l'honneur de juger cette thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma grande reconnaissance et mes sincères remerciements.

Madame le Docteur Caroline NACHURY-JANEL, Service de Génétique Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand

Je vous prie de recevoir l'expression de mes sincères remerciements pour avoir accepté de juger mon travail.

A ma famille, A Kévin, A mes amis,

Sur qui j'ai toujours pu compter.
Merci pour votre soutien infaillible et constant.

Et à tous ceux que je n'ai pas cités mais que je n'oublie pas.

Table des matières

1. Introduction *11*

2. Synthèse des connaissances *11*

2.1. Clinique **11**

2.2. Étiologie **14**

2.2.1. Génétique moléculaire 14

2.2.2. Mécanisme physiopathologique de formation des ostéochondromes 16

2.3. Diagnostic **17**

2.3.1. Clinique et radiologique 17

2.3.2. Génétique 18

2.4. Prise en charge **21**

2.4.1. Surveillance 21

2.4.2. Conseil génétique 21

2.4.3. Traitements des manifestations 22

2.4.4. Nouvelles approches thérapeutiques 23

2.5. Objectif **23**

3. Matériels et Méthodes *23*

3.1. Patients **23**

3.2. Analyse moléculaire **24**

3.2.1. PCR-Séquençage 24

3.2.2. MLPA 26

4. Résultats *27*

4.1. Génotypes des patients **27**

4.2. Analyse du phénotype **29**

4.2.1. Présentation clinique 29

4.2.2. Complications 31

4.2.3. Prise en charge chirurgicale 35

5. Discussion *35*

6. Références *45*

Annexe I. *49*

Annexe II. *55*

Liste des tableaux et figures :

Tableaux :

Tableau I : Séquences des amorces utilisées pour les PCR et séquençage des gènes EXT1 et EXT2…….24

Tableau II : Liste des mutations identifiées chez les cas index dans le gène EXT1…….49

Tableau III : Liste des mutations identifiées chez les cas index dans le gène EXT2……52

Tableau IV : Résumé de la présentation clinique et fréquence des différentes complications…31

Figures :

Figure 1 : Photographie et radiographies de patients présentant une maladie des exostoses multiples……11

Figure 2 : Représentation schématique d'EXT 1 et EXT 2……15

Figure 3 : Représentation schématique illustrant les modifications possibles à la base de la formation des ostéochondromes……17

Figure 4 : Représentation schématique du principe du séquençage Sanger……..18

Figure 5 : Représentation schématique illustrant les différentes étapes de la MLPA……19

Figure 6 : Résultats de la MLPA mettant en évidence la duplication des exons 2 à 7 du gène EXT1…….27

Figure 7 : Identification d'un des points de jonction de la duplication des exons 2-7 du gène EXT1…….28

Liste des abréviations :

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN: Acide Ribonucléique

ACGS: Association for Clinical Genomic Science

ACMG: American College of Medical Genetics

ANPGM : Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire

BMP : Bone morphogenic protein

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

dNTP : désoxyribonucléotides triphosphate

ddNTP : didésoxyribonucléotides triphosphate

FGF: Fibroblast Growth factors

HS: Heparane sulfate

Ihh : Indian Hedgehog

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

MLPA: Multiplex ligation-dependent probe amplification

NGS: Next Generation Sequencing

PCR: Polymerase Chain Reaction

VOUS: Variant of uncertain significance

***Figure 1*: Photographie et radiographies de patients présentant une maladie des exostoses multiples (de Arauz et al, 2019 et Robin et al, 2019).** *(A) Photographie d'une cheville droite avec des exostoses (flèche blanche). (B-C) Radiographie de genou de face et profil montrant plusieurs exostoses. (D) Radiographie d'un avant-bras présentant une déformation de Madelung.*

1. Introduction

La maladie des exostoses multiples, aussi appelée maladie des ostéochondromes multiples, est une pathologie génétique caractérisée par le développement de nombreux ostéochondromes (exostoses). Il s'agit de tumeurs osseuses bénignes entourées de cartilage se développant au niveau des os longs. La maladie des exostoses multiples est une pathologie autosomique dominante relativement rare puisqu'elle a une prévalence estimée chez les caucasiens à 1/50000. Cette pathologie est principalement causée par des mutations perte de fonction dans deux gènes : EXT1 et EXT2. Ces gènes codent des glycosyltransférases qui catalysent la polymérisation des héparanes sulfates. La maladie des exostoses multiples est associée à un large spectre de manifestations cliniques telles qu'une petite taille, des douleurs, des déformations osseuses, une mobilité articulaire réduite, et à des problèmes de compression des structures adjacentes, notamment nerveuses. La complication la plus redoutée reste néanmoins la transformation maligne d'un ostéochondrome en chondrosarcome. La prise en charge des ostéochondromes est principalement chirurgicale, même si de nouvelles approches thérapeutiques sont en cours de développement.

2. Synthèse des connaissances

2.1. Clinique

Les patients atteints de cette pathologie peuvent présenter un large spectre de manifestations cliniques (1) (figure 1). Les ostéochondromes se développent et augmentent de taille dans la première décade de vie et cessent de croître quand les plaques de croissance se ferment à la puberté. L'âge médian au moment du diagnostic est de trois ans (2). La distribution anatomique peut varier d'un patient à l'autre (3). Les ostéochondromes apparaissent généralement dans la région juxtaphysaire des os longs et à la surface des os plats (bassin,

scapula...). Ils peuvent être pédonculés ou sessiles (à large base) et leur taille est très variable (4). La participation est généralement symétrique. Les os les plus couramment touchés sont le fémur, le tibia, la fibula, l'humérus, le radius et l'ulna. (5). Ils sont particulièrement fréquents autour du genou. Ils sont souvent découverts pour la 1ère fois au niveau du grill costal et de la région tibiale proximale, où ils sont clairement visibles et palpables. Les os du visage ne sont jamais touchés. Le nombre d'ostéochondromes qui se développent chez une personne atteinte et la sévérité du phénotype varient aussi considérablement, même au sein d'une même famille. Les hommes ont tendance à être plus sévèrement touchés que les femmes (6).

La plupart des ostéochondromes sont asymptomatiques, mais certains sont responsables de complications telles que des douleurs, des problèmes fonctionnels et des déformations.

La plupart des patients présentent des douleurs qui conduisent souvent à la nécessité d'une prise en charge chirurgicale (7). Elles peuvent être causées par une compression des tendons et des muscles, avec éventuellement pour conséquence une irritation chronique et des ruptures. Parfois, une bursite peut se développer et, à la suite d'un traumatisme, des exostoses pédonculées peuvent se fracturer (1).

À l'âge adulte, 75% des personnes touchées présentent une déformation osseuse cliniquement évidente. La présence d'ostéochondromes au niveau de l'avant-bras, peut entraîner un raccourcissement déséquilibré de l'ulna, responsable d'une incurvation du radius (déformation de Madelung) et pouvant limiter progressivement la pronation. (8). Des déformations de la main caractérisée par des métacarpes raccourcis (brachymétacarpie) sont fréquentes (9). Une coxa valga peut être observée suite à la présence d'ostéochondrome au niveau de la partie proximale du fémur (10). Le taux de déformations intéressant les genoux est aussi élevé chez les patients atteints, en effet, près du tiers des patients développent un genu valgum (11). Enfin, les exostoses peuvent influer sur la croissance longitudinale des membres,

un quart des patients présentant une différence de longueur des membres nécessitant souvent des interventions chirurgicales (1).

Une limitation de mobilité articulaire est souvent rencontrée. Par exemple, la prono-supination peut être limitée en raison d'ostéochondromes s'étendant dans l'intervalle interosseux entre radius et l'ulna ; ou au niveau du genou, la flexion maximale peut être gênée par un ostéochondrome dans la région poplitée. (1)

Les symptômes peuvent également apparaître suite à une compression des structures nerveuses, vasculaires ou même médullaires par des ostéochondromes. La compression ou l'étirement des nerfs périphériques sont généralement douloureux mais peuvent également entraîner des déficits sensoriels ou moteurs (12). Bien que rare, une compression médullaire peut survenir avec des conséquences neurologiques graves (13). Plus rarement, des compressions vasculaires sont observées, particulièrement au membre inférieur (14). Des ostéochondromes pelviens de grande taille peuvent être responsables d'une obstruction urinaire ou intestinale. Des ostéochondromes thoraciques ont été rapportés comme conduisant à une rupture diaphragmatique (15).

La maladie des exostoses multiples peut être responsable d'une petite taille ou d'une taille inférieure à la taille cible, même si elle se trouve dans les limites de la normale. (16).

La scoliose a été décrite dans la littérature chez des patients atteints, sans données sur la prévalence et la gravité. Une étude récente a montré que la scoliose était fréquente dans cette pathologie et que la gravité de la maladie était un facteur prédictif de scoliose modérée (17).

Les exostoses costales sont pour la plupart asymptomatiques, mais peuvent parfois causer des complications intrathoraciques, notamment un hémothorax, un pneumothorax, ainsi que des lésions de la plèvre, du poumon, du diaphragme ou du péricarde.

Des complications peuvent survenir pendant l'accouchement en raison de la morphologie aberrante du pelvis ou de la présence d'ostéochondromes à l'intérieur du pelvis.

Wicklund et al. (1995) (18) ont rapporté que les 2/3 des femmes atteintes avaient eu un accouchement par césarienne, dont 29% étaient secondaires à des ostéochondromes pelviens.

La maladie des exostoses multiples ne se limite pas aux problèmes cliniques et aux complications, mais a également de graves répercussions sur la vie quotidienne. Les enfants à l'école peuvent rencontrer des difficultés, notamment en ce qui concerne l'éducation physique ou l'écriture. Certains patients adultes ont connu des problèmes au cours de leur activité professionnelle. Les patients atteints peuvent avoir des difficultés pour la pratique du sport. De plus, les déformations des membres et la petite taille sont souvent considérées comme des problèmes esthétiques importants. Pour toutes ces raisons, la maladie peut avoir de grandes répercussions psychologiques sur les personnes touchées (1).

La complication la plus grave est la transformation secondaire d'un ostéochondrome en chondrosarcome. L'incidence rapportée de la dégénérescence maligne en chondrosarcome est très variable, allant de 1% dans des publications récentes à 25% dans de plus anciennes séries. Cependant, dans une grande cohorte de 529 personnes touchées, le taux de transformation maligne a été calculé à 5% (6). La dégénérescence maligne peut survenir pendant l'enfance ou l'adolescence, mais le risque augmente avec l'âge. En effet, celle-ci survient le plus souvent dans la 1ère moitié de la quarantaine. (1) Une croissance rapide d'une exostose connue et une douleur croissante/atypique, en particulier chez une personne adulte, sont des signes devant faire évoquer une transformation sarcomateuse.

2.2. Étiologie

2.2.1. Génétique moléculaire

La maladie des exostoses multiples est une maladie génétique rare autosomique dominante. La pénétrance est habituellement d'environ 96% chez les femmes et 100% chez les hommes (2). Des mutations perte de fonction dans les gènes suppresseurs de tumeurs *EXT1* et

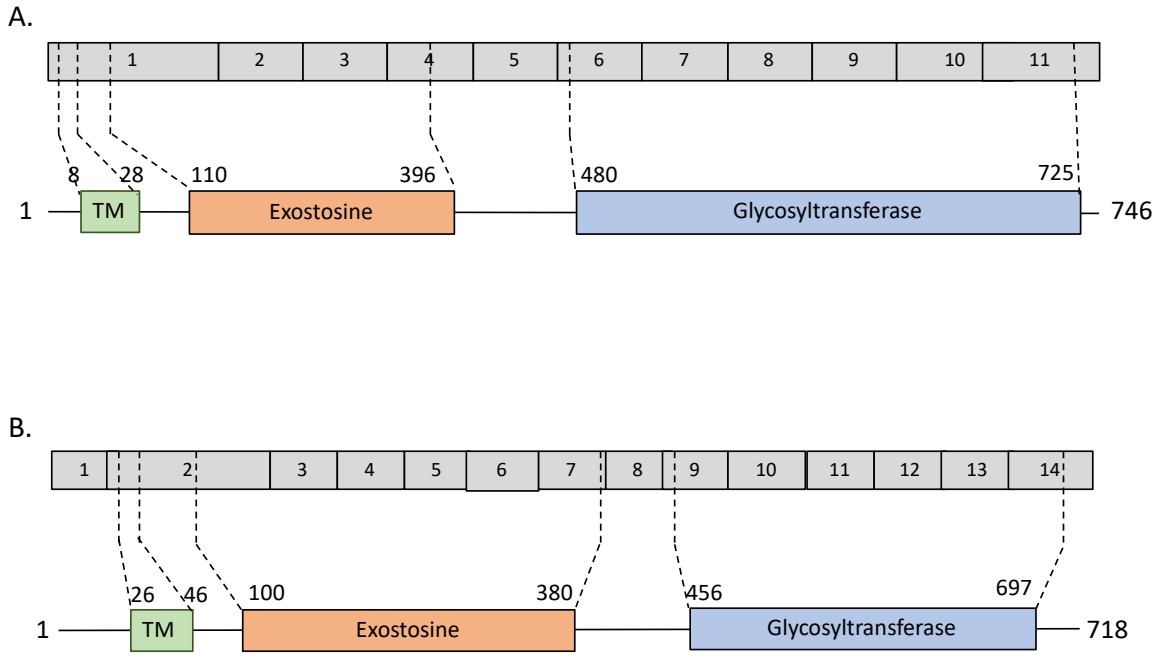

***Figure 2*: Représentation schématique d'EXT 1 et EXT 2**. *(A) En haut, représentation schématique du gène EXT1 en gris indiquant le nombre d'exons. En dessous, représentation de la protéine EXT1 montrant les différents domaines fonctionnels: transmembranaire (TM), Exostosine et glycosyltransférase. Les chiffres indiquent la position des acides aminés au niveau de la protéine. (B) En haut, représentation schématique du gène EXT2 en gris indiquant le nombre d'exons. En dessous, représentation de la protéine EXT2 montrant les différents domaines fonctionnels: transmembranaire (TM), Exostosine et glycosyltransférase. Les chiffres indiquent la position des acides aminés au niveau de la protéine.*

EXT2 sont retrouvées chez près de 90 % des patients. A ce jour, 1248 variants ont été décrit dans la base de données LOVD (828 dans *EXT1* et 420 dans *EXT2*). Il s'agit surtout de mutations perte de fonction (variants non-sens, frameshift (décalage du cadre de lecture), variants affectant l'épissage, délétion exonique ou multi-exonique). On désigne par perte de fonction un effet délétère dû à la diminution ou l'abolition de production de la protéine active, sur le plan quantitatif (niveau de synthèse de la protéine) et/ou qualitatif (fonctionnalité de la protéine), l'effet délétère de type perte de fonction se manifestant lorsque le niveau résiduel de protéine fonctionnelle passe en dessous d'un seuil.

L'existence d'un 3ème locus *EXT3* a été discuté pendant de nombreuses années, mais n'a pour l'instant pas été identifié et est remis en question.

Plusieurs études ont montré qu'il existait un phénotype plus sévère chez les personnes ayant des variants pathogènes dans le gène *EXT1* que chez celles ayant des variants pathogènes dans le gène *EXT2* (19, 4, 20, 6).

Le premier gène identifié, *EXT1* est situé sur le chromosome 8 (en 8q24.1). Il comprend 11 exons (partie codante d'un gène) et code une protéine de 746 acides aminés (21) (figure 2A). *EXT2*, quant à lui, est situé sur le chromosome 11 (locus 11p11.13), contient 14 exons (dont un premier exon non codant) et il code une protéine de 718 acides aminés (22) (figure 2B).

EXT1 et *EXT2* codent des glycosyltransférases transmembranaires de type II exprimées de manière ubiquitaire et qui sont localisées dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. EXT1 et EXT2 sont structurellement similaires et sont constituées d'un domaine transmembranaire à l'extrémité N-terminale, d'un domaine d'interaction Exostosine au centre et un domaine catalytique glycosyltransferase à l'extrémité C-terminale (figure 2). Les deux protéines agissent comme des complexes hétéro-dimèriques et sont toutes deux nécessaires à la synthèse de l'héparane sulfate (HS) en permettant l'ajout de glycosaminoglycanes aux chaines d'HS. L'HS est un polysaccharide entrant dans la composition des protéoglycanes et est un

composant essentiel de la surface des cellules et de la matrice extracellulaire. Les protéines EXT1 et EXT2 forment un complexe dans lesquels EXT1 exerce une fonction enzymatique et EXT2 joue un rôle structurel et de régulation, les deux protéines étant nécessaires pour une polymérisation efficace de l'HS (23). Du fait de leur structure unique, les chaines d'HS sont capables d'interagir spécifiquement avec des protéines de signalisation cellulaire nécessaires au développement du squelette, telles que Indian hedgehog (Ihh), les Fibroblast growth factors (FGFs), Bone morphogenetic proteins (BMPs) and Wnts (24, 23). Ainsi, le complexe EXT1-EXT2 joue un rôle essentiel dans la cascade de signalisation pour la régulation de la différenciation des chondrocytes, l'ossification et l'apoptose.

2.2.2. Mécanisme physiopathologique de formation des ostéochondromes

Les deux protéines EXT1 et EXT2 sont nécessaires pour une polymérisation efficace de l'HS. C'est pourquoi, des mutations hétérozygotes dans l'un ou l'autre des gènes entraînent un déficit systémique en HS d'environ 50%. Pourtant, cette perte partielle d'HS n'est pas suffisante pour provoquer la formation d'ostéochondromes multiples. En effet, ce processus nécessiterait une seconde mutation somatique dans *EXT1* ou *EXT2*, conduisant à une nouvelle diminution locale de la synthèse et/ou des niveaux de HS et provoquant un déficit majeur en HS nécessaire à une transformation tumorale des cellules. Plusieurs études suggèrent que les ostéochondromes se développent à partir des progéniteurs mésenchymateux situées dans le périchondre normalement engagé dans l'expansion appositive latérale de l'os ainsi que dans la réparation des tissus (23). Au sein de ce périchondre (perichondrium), le déficit majeur en HS, provoqué par cette seconde mutation somatique, serait susceptible de perturber les équilibres fins entre les différentes voies de signalisation cellulaire, en particulier la perte HS provoquerait une augmentation des facteurs pro-chondrogéniques (tels que le BMP, Hedgehog et l'héparanase) et diminuerait l'expression des protéines ayant un rôle anti-chondrogénique majeur (FGF,

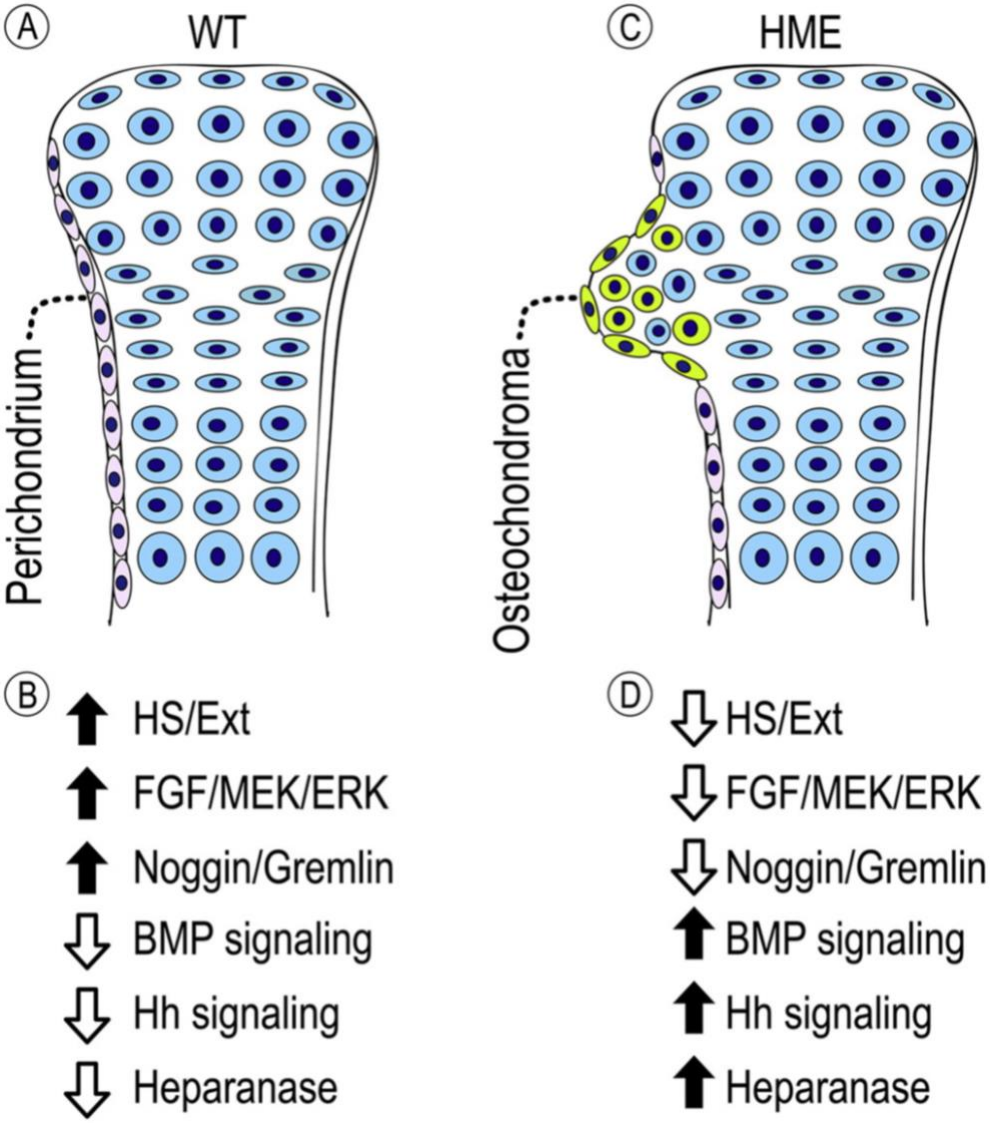

***Figure 3*: Représentation schématique illustrant les modifications possibles à la base de la formation des ostéochondromes (Pacifici et al, 2018).** *(A) Dans des conditions normales, le périchondre (en mauve clair) définirait la limite de la plaque de croissance (en bleu) des os longs. (B) Les cellules mésenchymateuses du périchondre normal exprimeraient des niveaux normaux des protéines EXT et d'HS, une expression importante des voies de signalisation antichondrogèniques (FGF, Noggin) et une faible expression des protéines de signalisation pro-chondrogéniques (BMP, hedgehog (Hh)) et de héparanase. (C) Au cours d'une maladie des exostoses multiples, la perte d'hétérozygotie ou une seconde mutation dans certaines cellules entraîneraient une perte abrupte et presque complète des niveaux d'expression des protéines EXT et / ou de l'HS dans ces cellules (en vert) du périchondre. Cela entraînerait une diminution d'expression des voies anti-chondrogéniques et une augmentation réciproque des voies pro-chondrogéniques et de l'expression de l'héparanase dans les cellules mutées (D), modifiant ainsi les mécanismes de signalisation homéostatique et déclenchant la différenciation des progéniteurs mésenchymateux du périchondre en chondrocytes (en vert). Les ostéochondromes en croissance contiendraient un mélange de cellules homozygotes mutantes (vertes) et hétérozygotes (bleues), ces dernières étant recrutées dans le processus de formation de l'ostéochondrome par des cellules mutantes.*

Noggin). Cela aurait pour conséquence de provoquer une différenciation des progéniteurs mésenchymateux situés dans le périchondre en chondrocytes, favorisant une chondrogénèse ectopique et donc la formation d'ostéochondrome. (23). Les ostéochondromes en croissance contiendraient un mélange de ces chondrocytes et de cellules issues de l'os normal, ces dernières étant recrutées dans le processus de formation de l'ostéochondrome par les chondrocytes développés à partir des progéniteurs mésenchymateux (figure 3). Cette hypothèse est confortée par des modèles murins d'ostéochondromes où l'inactivation totale des 2 allèles d'Ext1 dans une faible proportion de chondrocytes est suffisante pour entrainer la formation d'ostéochondromes et d'anomalies squelettiques associées à la maladie des exostoses multiples, les ostéochondromes étant constitués d'un mélange de cellules EXT+/- et EXT-/- (25, 26).

2.3. Diagnostic

2.3.1. Clinique et radiologique

Le diagnostic repose sur des éléments cliniques et radiographiques avec, si nécessaire, une analyse histologique des ostéochondromes. Ce diagnostic peut être évoqué en observant radiologiquement au moins deux ostéochondromes dans la région juxta-épiphysaire des os longs (ou à la surface des os plat) (exemple : la scapula). La caractéristique radiographique et anatomique essentielle d'un ostéochondrome est la ligne ininterrompue du cortex et de l'os médullaire en regard de l'os où se développe l'ostéochondrome. L'ostéochondrome est en effet constitué d'os bien différencié, en continuité parfaite avec l'os porteur : os spongieux central en continuité avec la cavité médullaire et contour cortical en continuité avec la corticale de l'os porteur. Le contenu spongieux est parfois hétérogène (possibles résidus cartilagineux plus ou moins calcifiés). La surface est recouverte par une coiffe de cartilage hyalin, dont l'épaisseur est très généralement inférieure à 10 mm et même le plus souvent inférieure à 5 mm à l'âge adulte, où elle peut même complètement disparaître. (27)

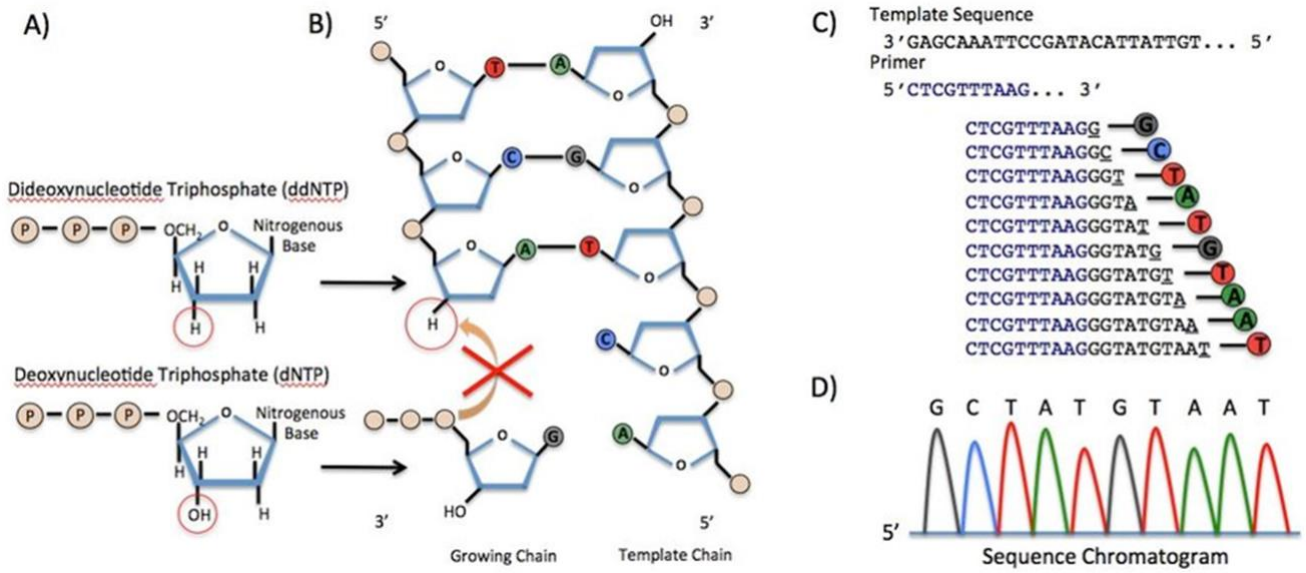

***Figure 4:* Représentation schématique du principe du séquençage Sanger (McGovern, 2015).** *(A-B.)Représentation schématique des dNTP et ddNTP et du blocage de l'extension du brin d'ADN en cas d'incorporation d'un ddNTP. (C) Représentation des fragments de différentes tailles obtenus permettant d'obtenir la séquence de nucléotides grâce aux ddNTP fluorescents. (D) Lecture de la séquence obtenue après électrophorèse capillaire.*

2.3.2. Génétique

Un diagnostic moléculaire peut être proposé à partir d'un prélèvement de sang périphérique à la recherche d'un variant pathogène dans les gènes *EXT1* ou *EXT2*.

Classiquement, un séquençage selon la technique de Sanger de la totalité des régions codantes et des régions introniques flanquantes d'*EXT1* puis d'*EXT2* détecte des variants pathogènes chez 70% à 85% des individus atteints. Si cette analyse est négative, une MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) peut permettre le diagnostic de délétion ou duplication d'un ou plusieurs exons et peut ainsi augmenter le taux de détection jusqu'à 85% à 95% (28).

Depuis le développement très récent des nouvelles techniques de séquençage haut débit, un diagnostic plus rapide de la maladie des exostoses multiples par séquençage de nouvelle génération (NGS) est disponible dans certains pays et est actuellement en développement en France.

Le séquençage selon la technique de Sanger

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer la succession des nucléotides le composant. Le principe de cette méthode consiste à initier la polymérisation de l'ADN à l'aide d'un petit oligonucléotide (amorce) complémentaire à une partie du fragment d'ADN à séquencer (figure 4). Les quatre désoxyribonucléotides (dNTP) (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) et l'ADN polymérase sont ajoutés, ainsi qu'une faible concentration des quatre didésoxyribonucléotides (ddNTP) (ddATP, ddCTP, ddGTP ou ddTTP) qui sont fluorescents. Les ddNTP diffèrent des dNTP par l'absence d'un groupement OH en position 3', ce qui bloque la possibilité de créer une liaison avec un nouveau nucléotide. Ainsi lorsqu'une ADN polymérase incorpore un ddNTP, il n'est plus possible d'allonger le polymère d'ADN : la

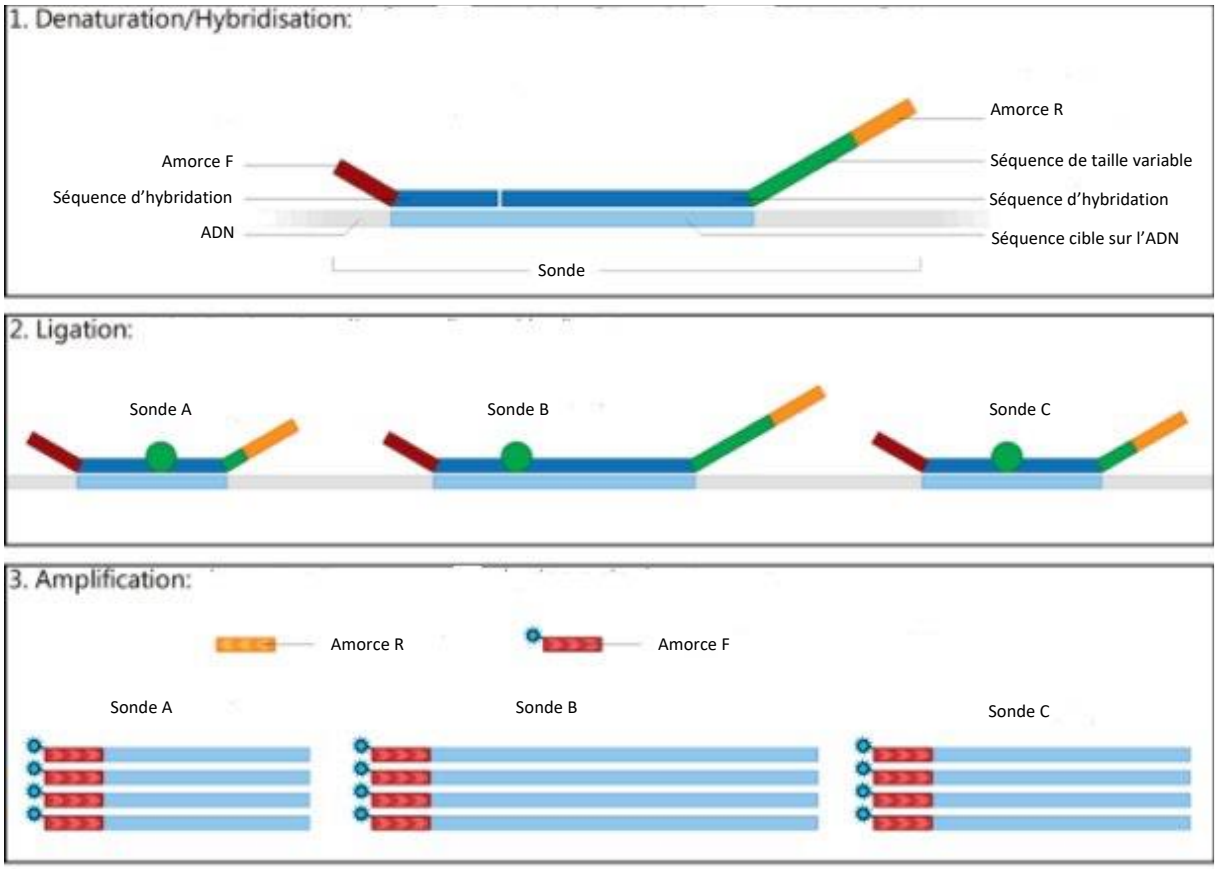

***Figure 5*: Représentation schématique illustrant les différentes étapes de la MLPA** *(MRC Holland (29)). (1) les sondes oligonucléotidiques s'hybrident sur leur séquence cible d'ADN. Deux oligonucléotides sont utilisés : Le premier contient successivement une région correspondant à une première amorce F de PCR (en rouge) et la première moitié de la séquence complémentaire de la région à détecter (en bleu foncé). Le second contient la deuxième moitié de cette séquence (bleu foncé) suivie d'une séquence de taille variable (en vert) puis d'une région correspondant à l'amorce R de PCR (orange). Ces deux oligonucléotides se fixent sur l'ADN à analyser, spécifiquement au niveau de la région correspondant à la sonde (bleu clair). (2) Étape de ligation. Comme les deux moitiés de la sonde sont dessinées pour être situées l'une à côté de l'autre, il est possible de les assembler par ligation. On obtient alors une sonde complète liée à l'ADN étudié, avec de chaque côté une région non hybridée sur laquelle il est possible de fixer une amorce F ou R. Il est possible de réaliser cette analyse simultanément sur plusieurs sites, il suffit pour cela de dessiner plusieurs sondes spécifiques de chaque site et que les sondes soient de longueurs différentes (grâce à la séquence stuffer de taille variable) de sorte que l'on puisse les différencier (par exemple ici sonde A, B et C. (3) Etape d'amplification. Les sondes sont déshybridées de l'ADN et l'on procède à une amplification par PCR du produit ligué avec les amorces complémentaires F et R des extrémités de la sonde. Les amplicons A, B et C de taille différente sont détectés par électrophorèse grâce à la présence d'un marqueur fluorescent lié aux amorces F.*

synthèse du brin d'ADN s'arrête. Le mélange réactionnel contenant, à la fois des dNTP et une faible proportion de ddNTP, la terminaison se fait de manière statistique suivant que l'ADN polymérase utilise l'un ou l'autre de ces nucléotides. On obtient donc à la fin un ensemble de brins d'ADN de tailles variées, selon l'endroit où un ddNTP aura été inséré, ces brins étant représentatifs de toute la séquence. Ces fragments sont ensuite séparés par électrophorèse capillaire ce qui permet ainsi de repérer la position des différents ddNTP marqués par fluorescence dans la séquence.

Il est à souligner que le séquençage Sanger impose des limites en termes de taille de séquence analysable. Ceci constitue la principale raison pour laquelle une analyse mutationnelle d'un gène porte le plus souvent essentiellement sur les exons du gène (analyse de la séquence codante), et les bornes introniques flanquantes (analyse des sites donneurs et accepteurs d'épissage). C'est en général dans ces régions que sont concentrées la majeure partie des mutations délétères. Avec les techniques routinières, il serait trop lourd, long et coûteux d'analyser pour un gène donné la totalité du locus génomique correspondant, dont la taille est au moins dix fois plus grande que la séquence codante. Ainsi, une grande partie des régions non-codantes d'un gène donné n'est donc pas analysée en routine, ne permettant pas de mettre en évidence d'éventuelles mutations délétères dans ces régions.

La MLPA

La MLPA est une variante de la PCR multiplexe qui utilise une sonde divisée en deux, nécessitant la ligation des deux parties pour que l'amplification ait lieu (figure 5). Cette méthode est utilisée pour dénombrer les copies d'une même séquence dans un ADN. Deux oligonucléotides sont utilisés : Le premier contient successivement une région correspondant à une première amorce de PCR et la première moitié de la sonde complémentaire de la région à détecter. Le second contient la deuxième moitié de la sonde suivie d'une région correspondant

à la deuxième amorce de PCR. Au cours de l'analyse, ces deux oligonucléotides se fixent sur l'ADN à analyser, spécifiquement au niveau de la région correspondant à la sonde. Comme les deux moitiés de la sonde sont dessinées pour être situées l'une à côté de l'autre, il est possible de les assembler par ligation. On obtient alors une sonde complète liée à l'ADN étudié, avec de chaque côté une région non-liée sur laquelle il est possible de fixer une amorce. Cette sonde est déshybridée de l'ADN et l'on procède à une amplification par PCR avec les amorces complémentaires des extrémités de la sonde. Seuls les oligonucléotides ayant subi une ligation, c'est-à-dire ceux qui se sont liés au brin d'ADN, sont susceptibles d'être amplifiés. On évite ainsi d'amplifier les oligonucléotides qui ne se sont pas liés à l'ADN cible. L'amplicon est détecté grâce à la présence d'un marqueur fluorescent lié aux amorces. Il est possible de réaliser cette analyse simultanément sur plusieurs sites, il suffit pour cela que les sondes soient de longueurs différentes de sorte que l'on puisse les différencier par électrophorèse.

Classification des variants identifiés

Le terme « mutation » désigne n'importe quel changement intervenu dans la séquence de l'ADN, sans préjuger de sa pathogénicité à l'échelle du gène ou du chromosome. On parle aussi de « variants ». Il est important de souligner d'emblée qu'on attribue souvent à tort une connotation pathologique à ce terme de « mutation ». Mais les variations non pathogènes ou bénignes de l'ADN (appelées « polymorphismes ») sont par définition également des mutations. La conséquence de toute mutation dépend de son effet fonctionnel, qui peut être neutre, conduire à l'amélioration d'une fonction (diversité, évolution) dans le cas de polymorphismes ou conduire à l'altération d'une fonction (effet pathogène).

Un séquençage de l'ADN permet d'identifier de nombreux variants chez les patients pouvant être pathogènes ou la plupart du temps bénins. L'un des travail du biologiste consiste à évaluer la pathogénicité ou le caractère bénin des variations de séquence identifiées chez

chaque patient. Cela peut être parfois difficile avec certaines variations identifiées qui n'ont jamais été décrites dans la littérature ou les bases de données. Dans ce contexte, des recommandations ont été émises par les sociétés savantes (ACMG, ACGS, ANPGM) au niveau international afin d'aider à la classification de ces variants en fonction de différents critères et permettent de les classer en 5 catégories : « pathogène » (classe 5), « probablement pathogène » (classe 4), « signification inconnue » (VOUS) (classe 3), « probablement bénins » (classe 2) et « bénins » (classe 1).

2.4. Prise en charge

2.4.1. Surveillance

Il est conseillé de mettre en place dès l'enfance, une surveillance clinique orthopédique annuelle pour documenter les exostoses existantes ainsi que les problèmes fonctionnels et les déformations associées. Un bilan radiologique à l'âge de 10 ans, associant un scanner osseux et une IRM médullaire comprenant la base du crâne, est également préconisé. Ce bilan n'est pas répété par la suite, mais remplacé dans l'idéal par une imagerie 3D moins irradiante que le scanner appelé EOS (ou par une IRM en cas de l'indisponibilité de l'appareil EOS), à réaliser sur point d'appel clinique ou sinon, tous les 3 ans. Chez l'adulte, on conseille classiquement une surveillance clinique orthopédique tous les 2 ans.

Bien entendu, toute douleur atypique et/ou augmentation de volume d'une exostose connue, en particulier chez l'adulte, devra être investiguée et faire l'objet d'une résection chirurgicale si l'on suspecte d'une dégénérescence en chondrosarcome.

2.4.2. Conseil génétique

La maladie des exostoses multiples est une pathologie génétique autosomique dominante. Le risque de transmission à la descendance est donc de 50%. Un diagnostic prénatal

ou préimplantatoire est possible si la mutation responsable de la maladie est connue. Celui-ci est néanmoins rarement demandé.

2.4.3. Traitements des manifestations

La prise en charge passe par l'exérèse chirurgicale des ostéochondromes à l'origine de douleurs, troubles fonctionnels ou de déformations.

Il est recommandé par ailleurs d'éviter au maximum les interventions chirurgicales chez l'enfant ou de les différer si possible à l'âge adulte, le risque de récidive étant moins important à cet âge. Bien que la résection sans complications des ostéochondromes chez les enfants en croissance soit fréquemment rapportée, il existe un risque théorique d'anomalie de croissance résultant de la résection d'ostéochondromes périphériques.

Les lésions douloureuses, en l'absence de déformation osseuse associée, sont traitées avec une excision chirurgicale incluant la capsule cartilagineuse et le périchondre sous-jacent pour prévenir les récidives. En présence d'une déformation de l'avant-bras, le traitement consiste par l'excision des exostoses, une ostéotomie corrective et une procédure d'allongement de l'ulna. Les inégalités importantes de longueur de jambe sont souvent traitées par épiphysiodèse (arrêt du plateau de croissance) de la jambe la plus longue ou par l'allongement de la jambe concernée. Un mauvais alignement des membres inférieurs peut être traité avec des hémiépiphysiodèses (ou ostéotomies) au niveau distal du fémur, ou proximal du tibia ou distal du tibia. Un traitement précoce de la déformation de la cheville peut prévenir ou atténuer une détérioration ultérieure du fonctionnement de cette articulation. La dégénérescence sarcomateuse est traitée par résection chirurgicale. La radiothérapie et la chimiothérapie adjuvantes sont souvent utilisées dans le cadre d'un ostéosarcome secondaire.

2.4.4. Nouvelles approches thérapeutiques

La chirurgie est actuellement la principale option thérapeutique pour les patients présentant une maladie des exostoses multiples. Cependant, ces patients ont de très nombreux ostéochondromes qui ne peuvent pas toujours être réséqués ou nécessitent des prises en charge chirurgicales itératives. Il n'existe pour l'instant aucun traitement pharmacologique dans la maladie des exostoses multiples autre que les traitements antalgiques pris en cas de douleur.

Néanmoins, de nouvelles approches thérapeutiques sont en cours de développement. Certaines équipes ont montré par exemple que des inhibiteurs de la voie de signalisation du BMP peuvent réduire le développement des ostéochondromes. Mais d'autres facteurs et voies de signalisation impliqués dans le développement des ostéochondromes pourraient également offrir des cibles thérapeutiques plausibles pour inhiber la croissance de l'ostéochondrome. (Hh, FGF, Héparanase …) (23)

2.5. Objectif

L'objectif de ce travail est d'analyser les mutations identifiées et les caractéristiques cliniques de la cohorte nationale de patients atteints de cette pathologie, étudiés au sein du laboratoire de génétique moléculaire du CHU de Clermont-Ferrand.

3. Matériels et Méthodes

3.1. Patients

Les patients ont été recruté par différents prescripteurs de plusieurs centres cliniques français qui ont demandé une analyse moléculaire des gènes *EXT1* et *EXT2* et ont envoyé leurs échantillons au service de génétique moléculaire du Centre Hospitalier Universitaire de Clermont Ferrand entre 2010 et 2019. Un consentement informé écrit a été obtenu de tous les

patients. En cas de patients de moins de 18 ans, un consentement a été signé par les parents. Les études moléculaires réalisées dans le cadre de ce travail étaient faites dans le cadre du diagnostic de routine. L'approbation du Comité d'établissement pour cette étude n'a donc pas été demandée.

Afin de compléter les renseignements cliniques des patients, un questionnaire reprenant différents items a été envoyé à chaque prescripteur dans un second temps (Annexe I). Ce questionnaire reprenait notamment les caractéristiques générales des patients (âge, taille, antécédents personnels et familiaux), l'âge de début de la maladie des exostoses multiples, le nombre d'exostoses, leurs localisations et la présence ou non de complications (douleurs, déformations, limitations mobilités articulaires, etc.) ainsi que la nécessité ou non de prise en charge chirurgicale. La sévérité du phénotype a été analysée selon une échelle établie par Francannet et al (2001) (Annexe II). Cette échelle inclut l'évaluation de toutes les lésions palpables, de la taille du patient, des déformations et des limitations fonctionnelles. La sévérité de la maladie a été évaluées en fonction de l'âge de début (avant / après 3 ans), du nombre d'exostoses (plus / moins de 10 ostéochondromes), de la présence ou non d'une localisation vertébrale des exostoses, de la taille (supérieure ou inférieure au 10e percentile) et de l'atteinte fonctionnelle. Le degré de sévérité a été classé comme modéré (M) ou sévère (S). Quatre sous-catégories ont été définies chez les patients présentant un phénotype sévère (du type IS au type IVS).

3.2. Analyse moléculaire

3.2.1. PCR-Séquençage

L'ADN génomique a été obtenu à partir de leucocytes du sang périphérique, dans certains cas manuellement, à l'aide des kits d'extraction QIAamp DSP DNA Blood Mini (Qiagen) avant 2019 puis NucleoSpin® Dx Blood (Macherey-Nagel) en 2019. Et dans d'autres

Exon	Séquences amorces Forward F (5’ → 3’)	Séquences amorces Reverse R (5’ → 3’)
Gène *EXT1*		
1_1	CATTGTGCAACCCAAAGATG	CTCAGTTCCAGGCTCAAAGG
1_2	TGGGTGCGAGATATTCAGCC	CCAGGCTTTTCAGTTTGCCC
1_3	TCGCCGAAAGTTACCAAAAC	CTGAGGTGACAACTGGTCTCTG
1_4	CAGGCGGGAAGATGGCGGACTGG	CTCCGGCTGTGGCTCCTCGATGCCC
1_5	TGCTCTCAGCTGGCTCTTGTCTCG	GAATCCTCGTTTTCCAATTGATCCC
1_6	CGGACGCTCTGCGCCCCTTCGTTCC	CTAGAATGTTTTGGTAACTTTCGGCG
1_7	CGTATACCCACAGCAAAAAGGGG	CATTGTTCCACAAGTGGAGACTCTGC
1_8	CCAGTTGTCACCTCAGTATGTGC	CTGGCTTTGGCCAGCATC
1_9	CCTGACTACACCGAGGACG	GGTGTCTGATCCTATCCCTG
1_10	GGTATTCAAGGGGAAGAGGTAC	GGACCAAGGCCGGCAGAGCCC
2	TTCATGCAGCAACCCAACCT	GGTAGGCCAAGCTGGCAAT
3	ACGTACAACCTTCGTGTGACTT	TTCATATTCACCATGACACAGGT
4	AGGTGCTACTGAATCTTAGAGGTG	ACTGGACCAATCACACATCCC
5	TCTGACTGCCACCATCTTTCG	GATCCATAATTTGGGGAGCCTA
6	CAAAGGAGAAATCATCCAGGAG	GAGGCAGGATGAATGAAAGG
7	TGGGGTGATAATGTTCTGAGGT	GGTCACAAAGCTATAAAAGAGTTGG
8	TGGGAAATGAGATTCCTTCG	CCAGCGCTGTAGGAAGTTTT
9	TGGGGCAAAATGTCAAGCAG	CTAGAACAGTGCCCTTGGGT
10	GTTTAGGGATTCAAAGAATGGGTAT	ATCCCTGCACCAATCATACACT
11	GCATTTTCAGCAGGTGCATA	AGTTGGCACAATCTGGCTCT
Gène *EXT2*		
2_3	ACCACTTAAGGGAAAGAAATAGGT	CCAGGACATAAGCCCTAACTGG
2_3bis	AGTCCCTTTTTGTTATTTCACCACA	GAATCAGCGTGCCCCCATTAC
2a	TTCTTATTTCTCTCCCTGGTGAC	GCTGCGCTTCTCTACATTCC
2b	TCAGTTTTGGCCCCATTCTA	CCATCCTTCCCTTCCCTTTA
3	GCTTTGCATACCTGAGAAGCG	
4	TATTTAGGACCCCGGGGGAA	ACCACATGGATTCCTGGCTTA
5	ATCAGTGGAGGTGAAGACTGGT	CCAAGCAGCTTTGCACGAAC
6	AACAGTGGTGGCATTGAAGCAATA	GCAAACTGGCCTTGGTTTGTGA
7	GGAGCTGTAAGAGAACTCCTTTGA	AGTGGAGGAAGTAAACCCCAC
8	GAGCATATGCCCTAGGCACC	TGCAAAAGTCACCGGGATGT
9	AGCAGTTGCTTAGCTCTGGG	GTATGCCAGGGCTTGGAGTT
10	ATGCATCTGTGAGAATCTCCCCT	GGGAGTTCCCAAAACCAGTG
11	TTGAAATTCCCAAGCATATACAAGA	ACTGTCACACAATATGGCTTTTCT
12	TTGAACATGCTTGGTCACTTG	ACTGAAGGTTAAAAACTGCAACT
13	CATGCAACATCTCAGCTTACAACA	AAGACCCTTCCAGCCATTACAA
14	AAGCAGCATCTCCTGTTCACG	TGCATAGCTCGAGGTGCTTGG

***Tableau 1* : Séquences des amorces utilisées pour les PCR et séquençage des gènes EXT1 et EXT2.**

cas, de manière automatisée à l'aide d'un appareil d'extraction d'ADN LabTurbo 24 Compact System (Taigen). L'ADN a été extrait conformément aux instructions du fabricant.

Les 11 exons codants *EXT1* et 13 *EXT2* et leurs régions flanquantes introniques ont été amplifiés par PCR à partir de l'ADN génomique extrait. Les séquences d'amorces sont détaillées dans le tableau 1. Tous les exons, à l'exception de l'exon 1 d'*EXT1* et les exons 2 à 3 d'*EXT2*, pouvait être amplifiés par PCR et séquencé en un fragment. L'exon 1 d'*EXT 1* et les exons 2 à 3 de *EXT2* ont été amplifiés par PCR long-range puis divisés en plusieurs fragments se chevauchant pour obtenir des produits de séquençage de plus petite taille. Les PCR ont été réalisée dans un volume réactionnel de 50 µl contenant 100 à 200 ng d'ADN génomique, 200 µM de chaque dNTP, 500nM de chaque amorce et 1 U de Taq polymerase (qiagen) pour les PCR classique ou 1 U de Taq High Fidelity (Q5) pour les PCR long range. Tous les programmes de PCR comprenaient une dénaturation initiale de 30 secondes à 10 minutes à 94 ° C ou 98°C, suivie de 35 cycles de 10 à 30 secondes à 94 ou 98 ° C, 30 secondes à la température d'hybridation et 45 secondes à 72 ° C. Une extension finale à 72 ° C a ensuite été réalisée pendant 2 min. La température d'annelage allait de 58 ° C à 68°C en fonction des combinaisons d'amorces.

Les régions introniques contenant les potentiels point de cassure impliqués dans la duplication identifiée par MLPA dans le gène EXT1 ont également été analysées par PCR-séquençage selon le même protocole.

Tous les produits de PCR ont été purifiés à l'aide d'un kit de purification Mini Elute PCR purification (Qiagen) et séquencés avec le Big Dye Terminator v1.1 (Applied Biosystems Life Technologies). Après purification du produit de séquence à l'aide des plaques Centri-Sep 96-well plates® (Life Technologies 4367821), les séquences ont été analysées par électrophorèse capillaire à l'aide d'un séquenceur d'ADN ABI 3130XL (Applied Biosystems Life Technologies) puis les résultats ont été analysés par le logiciel d'analyse SEQSCAPE. Les

mutations ont reçu la nomenclature officielle HGVS (www.hgvs.org). Les séquences de référence étaient NM_000127.2 pour *EXT1* et NM_207122.1 pour *EXT2*.

Afin d'évaluer l'effet pathogène possible des nouvelles variations de séquence identifiés, plusieurs logiciels de prédiction en ligne ont été utilisés : Mutation Taster, SIFT et PolyPhen-2 (30,31,32,33) pour les variants faux-sens, HSF/MaxEntScan pour les variants introniques affectant l'épissage. Et la présence ou non de ces nouvelles variations dans les bases de données Exac, GnomAD, LOVD et Clinvar a été recherchée (34,35,36,37). Tous les variants identifiés ont été classé en 5 catégories selon les recommandations de la classification NGS-diag (38).

Dans les cas sporadiques, la mutation identifiée chez le cas index a été recherchée chez les parents dans la mesure du possible et l'absence de cette variation de séquence identifiée chez les parents confirmait la survenue de novo.

3.2.2. MLPA

Afin d'identifier une éventuelle délétion ou duplication, le nombre de copies des exons de *EXT1* et *EXT2* présents dans l'ADN génomique du patient a été analysé par MLPA à l'aide du kit SALSA MLPA (MRC Holland) (Séquence de référence EXT1: NM_000127.2; Séquence de référence EXT2: NM_207122.1) en suivant les instructions du fabricant.

Les produits de PCR ont été passés sur un séquenceur capillaire ABI 3130XL (Applied Biosystems). Les pics ont été analysés à l'aide du logiciel Coffalyser (MRC-Holland). La proportion de chaque pic par rapport à la hauteur de tous les pics a été calculée pour chaque échantillon, puis comparée aux proportions du pic correspondant moyenné pour un ensemble de plusieurs ADN normaux. Les échantillons avec des rapports compris entre 0,8 et 1,2 ont été considérés comme portant un nombre de copies normal. Les rapports inférieurs à 0,8 ont été considérés comme correspondant aux délétions et supérieurs à 1,2 aux duplications.

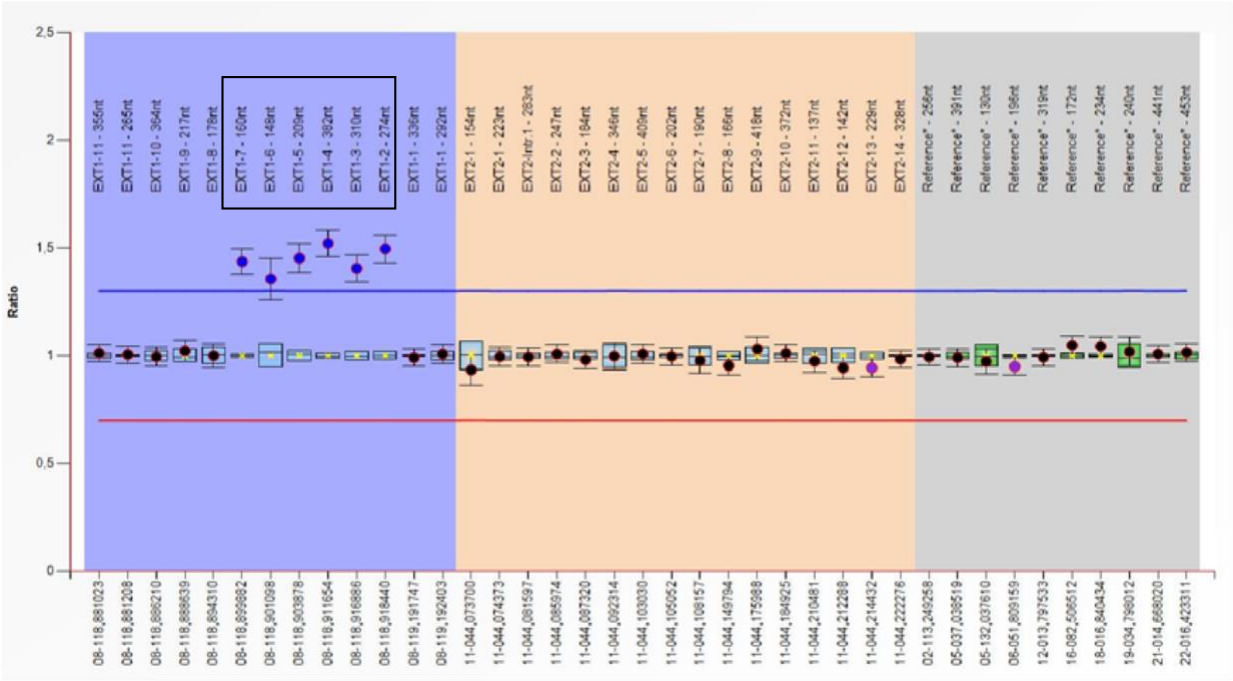

***Figure 6*: Résultats de la MLPA mettant en évidence la duplication des exons 2 à 7 du gène EXT1.** *En abscisse se trouve le nom et position des différentes sondes de MLPA et en ordonnée les ratios calculés pour chaque sonde. La zone colorée en bleu correspond aux sondes couvrant le gène EXT1, la zone orange au gène EXT2 et la zone grise, aux sondes de références nécessaires à la normalisation. La ligne horizontale bleue marque la limite de ratio supérieure à 1,2 et la ligne rouge celle inférieure à 0,8. On peut voir au niveau des 6 sondes EXT1-2, EXT1-3, EXT1-4, EXT1-5, EXT1-6, EXT1-7 (encadré en noir), localisées respectivement au niveau des exons 2, 3, 4, 5, 6 et 7 du gène EXT1, un ratio supérieur à 1,3 et donc une duplication.*

4. Résultats

4.1. Génotypes des patients

L'analyse moléculaire par séquençage selon la technique de Sanger et/ou par MLPA a été réalisée chez 168 patients appartenant à 135 familles différentes. Sur les 135 cas index analysés, l'un d'entre eux, dont le résultat était négatif, avait en réalité un diagnostic de Fibrodysplasie ossifiante progressive avec mutation dans le gène *ACVR1* identifiée et a donc été exclu de l'étude.

Parmi les 134 familles analysées restantes, des variants pathogènes ou probablement pathogènes ont été identifiés chez 112 cas index (84%) dont 45 variants n'ayant jamais été décrits dans la littérature ni les bases de données (35 de ces variants étaient situés dans *EXT1* et 10 dans *EXT2*).

97 de ces 112 variants étaient différents, tandis que les 15 autres étaient des mutations retrouvées plusieurs fois dans notre cohorte. 13 des mutations identifiées (7 *EXT1* et 6 *EXT2*) étaient des mutations récurrentes dans la littérature et les bases de données (« hotspots »).

Sur les 112 variants retrouvés, 75 ont été identifiés dans *EXT1* (67%) (Tableau 2) : 35 frameshift (47%), 14 non-sens (19%), 10 faux-sens (13%) et 10 mutations affectant l'épissage (13%). Ces variants ont été retrouvés au niveau de l'ensemble des exons et jonctions intron-exons du gène *EXT1*, néanmoins un grand nombre d'entre eux étaient situés au niveau de l'exon 1 (6/14 non-sens, 17/35 frameshift et 3/10 faux sens). De nombreux variants faux-sens étaient aussi situés dans l'exon 2 (7/10). L'analyse par MLPA a permis ensuite d'identifier 5 délétions de grande taille (7%) touchant 1 ou plusieurs exons du gène *EXT1* dont 1 délétion en mosaïque.

Et enfin 1 duplication de grande taille touchant les exons 2 à 7 d'*EXT1* (1%) a aussi été identifiée par MLPA (figure 6). Cette duplication a été retrouvée chez le cas index et également chez 3 autres individus atteints appartenant à la même famille. Afin de tenter de préciser les

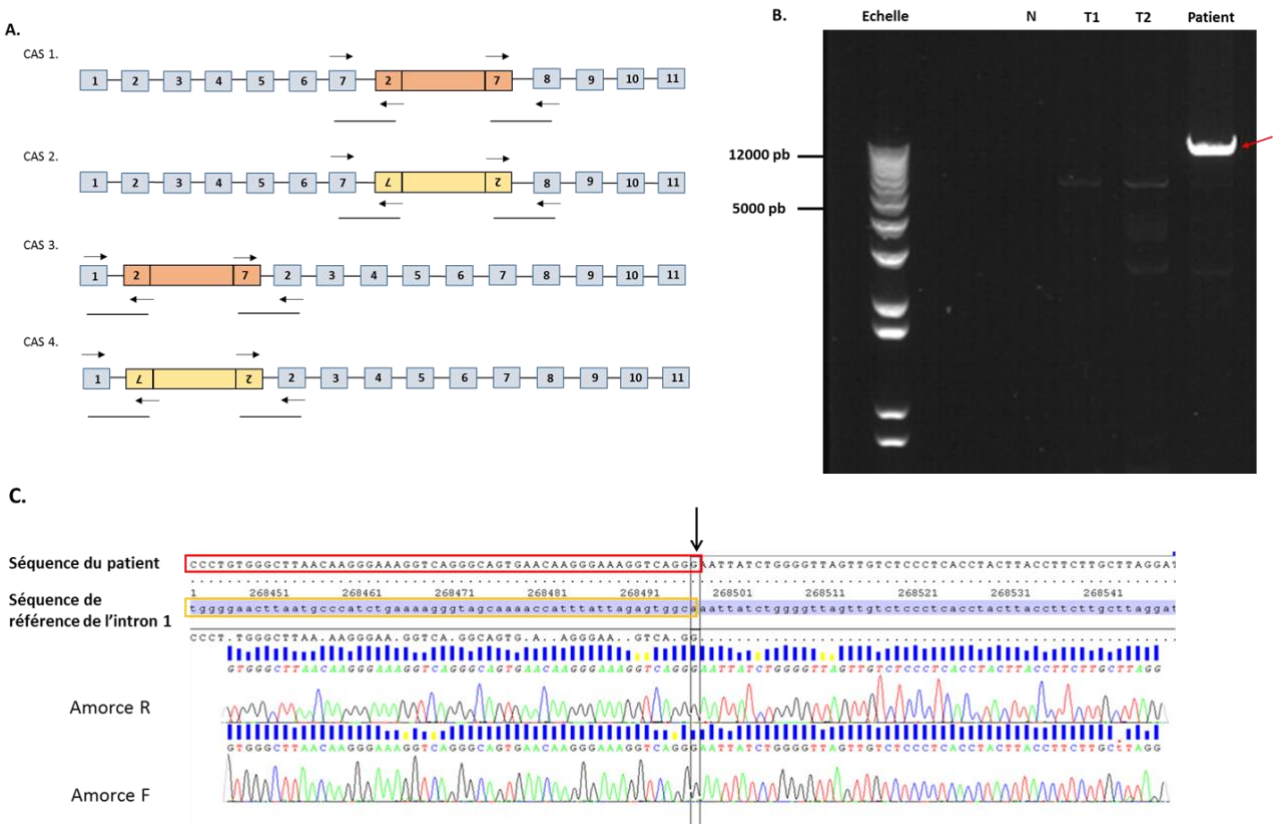

Figure 7 : Identification d'un des points de cassure de la duplication des exons 2-7 du gène EXT1. *(A) Représentation schématique des différentes hypothèses concernant la position et l'orientation possible de la duplication en tandem (rectangles orange ou jaune) au sein du gène EXT1. Les flèches représentent la position des amorces utilisées et les barres les fragments que nous avons tenté d'amplifier par PCR. (B). Gel d'agarose montrant chez le patient l'amplification par PCR d'un fragment entre les exons 7 et 2 ne devant normalement pas exister (flèche rouge). Ce fragment n'est pas retrouvé chez les 2 témoins normaux (T1 et T2). (C) Identification de la position du point de cassure (encadré et flèche noire) par séquençage du fragment amplifié entre les exons 7 et 2. A droite de cette position, la séquence du patient est identique à celle de la séquence de référence de l'intron 1. Mais à gauche, la séquence du patient (encadré en rouge) est différente de la séquence de référence de l'intron 1 (encadré en jaune) et correspond en réalité à un fragment de l'intron 7.*

limites de cette duplication et de confirmer qu'il s'agit bien d'une duplication intra-génique en tandem interrompant le gène *EXT1* (et donc probablement pathogène), nous avons utilisé différentes combinaisons d'amorces pour amplifier par PCR la région où se situe le point de jonction. Nous avons testé différents cas de figures (figure 7) et réussi à amplifier un fragment comprenant un point de jonction entre les introns 7 et 1 chez le cas index. Ce fragment amplifié par PCR a ensuite été séquencé. Nous avons ainsi pu identifier un des points de jonction entre les positions chr8:117815190 (GRCh38.p12) de l'intron 7 et chr8:117841589 (GRCh38.p12) de l'intron 1 de cette duplication en tandem au sein du gène *EXT1*.

37 variants ont d'autre part été identifiés dans *EXT2* (33%) (Tableau 3): 5 décalages du cadre de lecture (frameshift) (14%), 22 non-sens (59%), 4 faux-sens (11%), 4 mutations affectant l'épissage (11%), 2 délétions de grande taille touchant 1 ou plusieurs exons (5%). Un grand nombre de ces variants étaient situés au niveau de l'exon 2 (9/22 non-sens, 1/5 frameshift et 1/4 faux-sens), les autres variants identifiés étant situés dans les exons 3 à 8.

Parmi les 22 familles restantes, 8 variations de signification indéterminée (VOUS) (6%) ont été retrouvées dans *EXT1* (7/8) ou *EXT2* (1/8). Il s'agissait de 6 mutations faux-sens (5 *EXT1* et 1 *EXT2*) et 2 petites délétions respectant le cadre de lecture dans *EXT1*.

Enfin, aucun variant n'a été identifié dans les régions analysées chez 14 patients (10%) qui présentaient une maladie des exostoses multiples confirmée cliniquement.

Sur les 96 cas index pour lesquels les renseignements sur l'histoire familiale avaient été complétés par les prescripteurs, 37 étaient des cas sporadiques (38.5%) et 59 des cas familiaux (61.5%). Concernant les patients négatifs, les antécédents familiaux n'étaient disponibles que pour 4 patients qui étaient tous des cas sporadiques.

4.2. Analyse du phénotype

4.2.1. Présentation clinique

Notre cohorte de patients comprend 167 patients atteints de maladie des exostoses multiples, appartenant à 134 familles distinctes. On dénombre 77 hommes et 90 femmes, âgés de 2 à 74 ans.

Suite à l'envoi du questionnaire aux prescripteurs, nous avons obtenu des données cliniques complémentaires pour 65 individus atteints appartenant à ces familles, soit un taux de réponse de 39%. Tous les items n'avaient pas été systématiquement renseignés. Parmi ces 65 patients, on dénombre 36 femmes et 29 hommes âgés de 4 à 69 ans (médiane : 30 ans). 46 patients sur les 65 avaient plus de 18 ans (70,8%), 6 avaient entre 10 et 18 ans (9.2%) et 13 patients avaient moins de 9 ans (20%).

Parmi ces 65 individus atteints d'une maladie des exostoses multiples confirmée sur le plan clinique, 54 étaient des cas index, les autres (11) étant des apparentés. 37 étaient porteurs d'un variant dans *EXT1*, 24 dans *EXT2*, et enfin 4 autres avaient un résultat négatif.

Les données concernant l'âge de découverte de la maladie étaient disponibles chez 44/65 patients comprenant 24 mutés pour *EXT1*, 17 mutés *EXT2* et 3 dont le résultat était négatif (tableau 4). Sur les 44 individus atteints, cet âge allait de la naissance à 15 ans avec un âge médian de 3,5 ans. Pour les 24 patients mutés dans *EXT1*, l'âge de découverte s'étendait de la naissance à 12 ans avec un âge médian de 3 ans et il s'étendait de la naissance à 14 ans avec une médiane de 4 ans pour les patients mutés dans *EXT2*. Pour les 3 patients chez qui aucune mutation n'a été identifiée, l'âge de découverte était respectivement de 9 mois, 5 ans et 15 ans (médiane : 5 ans).

L'item « nombre d'exostoses » du questionnaire a été rempli chez 43 des 65 patients. Environ 79 % des patients avaient entre 5 et 25 exostoses. Seuls 3/43 (7%) individus avaient moins de 5 exostoses. Ces 3 patients avaient tous moins de 18 ans et étaient négatifs ou mutés

dans le gène *EXT2*. 10/43 (23%) patients avaient entre 5 et 10 exostoses (6 avaient plus de 18 ans et 4 moins de 10 ans. 4 étaient mutés dans le gène *EXT1*, 5 dans *EXT2* et 1 était négatif). 17/43 (40%) patients (dont 12 de plus de 18 ans) avaient entre 10 et 15 exostoses (9 *EXT1*, 7 *EXT2* et 1 négatif). 7/43 (16%) individus en avaient entre 15 et 25 (6 de plus de 18 ans ; 5 *EXT1* et 2 *EXT2*). 5/43 (12%) patients avaient entre 25 et 50 exostoses (3 *EXT1* et 2 *EXT2*) et étaient tous des adultes. Enfin, 1 des individus atteints avait plus de 50 exostoses (2%). Il s'agissait d'un patient de plus de 18 ans muté dans *EXT1*.

La localisation des exostoses était indiquée dans 62 des 65 questionnaires (35 mutés dans le gène *EXT1*, 23 dans le gène *EXT2* et 4 négatifs). Toutes les localisations étaient retrouvées quel que soit le gène (*EXT1* ou *EXT2*) impliqué. En effet, des exostoses étaient retrouvées aux membres inférieurs et supérieurs chez 95% (59/62) et 87% (54/62) des patients respectivement. Le bassin était touché chez 27% des patients (17/62 dont 12 mutés *EXT1* et 5 *EXT2*). La scapula, quant à elle, était touchée dans 34% des cas (21/62 dont 12 mutés *EXT1* et 8 *EXT2*) et la clavicule dans 13% (8/62 avec 2 mutés *EXT1* et 4 *EXT2*) des patients. 8% des patients présentaient des exostoses au niveau du rachis (5/62 dont 2 mutés *EXT1* et 3 *EXT2*). Les mains et les pieds étaient touchés chez respectivement 45% (28/62 avec 21 mutés *EXT1* et 7 *EXT2*) et 26% (16/62 dont 11 mutés *EXT1* et 7 *EXT2*) des patients. 39% des patients présentaient des exostoses au niveau du grill costal (24/62 dont 12 mutés *EXT1* et 13 *EXT2*). A noter que les patients ayant une analyse moléculaire négative n'étaient touchés qu'au niveau des membres inférieurs et supérieurs et au niveau de la scapula pour un de ces patients. De plus aucun des 4 individus négatifs n'avait d'atteinte bilatérale.

Parmi les individus atteints de plus de 18 ans, la maladie était toujours évolutive après la fin de la croissance osseuse pour 20 patients sur les 33 où cet item était renseigné (60%), le développement des exostoses pouvant se poursuivre jusqu'à l'âge de 52 ans au moins (patient

	Total	EXT1	EXT2	Négatif
Age médian de découverte	3 ans 1/2	3 ans	4 ans	5 ans
Groupe S (sévère)	35% (14/40)	37% (9/24)	42% (5/12)	aucun
Taille < 50ème percentile	61% (27/44)	76% (19/25)	50% (8/16)	aucun
Douleurs	69% (40/58)	65% (20/31)	74% (17/23)	3/4
Déformations	64% (36/56)	68% (21/31)	71% (15/21)	aucun
Limitations articulaires	57% (31/54)	52% (15/29)	76% (16/21)	aucun
Brachymétacarpies/tarsies	17% (8/12)	28% (7/25)	6% (1/18)	aucun
Inégalité de longueur	29% (14/49)	1/3 (9/27)	28% (5/18)	aucun
Arthrose précoce	12% (6/49)	15% (4/26)	11% (2/19)	aucun
Compressions nerveuses	20% (10/51)	19% (5/27)	25% (5/20)	aucun
Compressions vasculaires	6% (3/51)	7% (2/27)	5% (1/20)	aucun
Chondrosarcomes	7% (4/54)	3% (1/30)	15% (3/20)	aucun

***Tableau 4* : Résumé de la présentation clinique et fréquence des différentes complications dans notre cohorte de patients atteints de la maladie des exostoses multiples, pour lesquels les données étaient disponibles**

le plus âgé sur les 20 concernés). Néanmoins pour un des patients renseignés, l'évolution était minime après la puberté.

La sévérité de la maladie a été évaluée à l'aide du score proposé par Francannet et al (2001) et 40 des 65 patients ont pu être classés en 2 groupes (les renseignements cliniques étaient insuffisants pour classer les 25 patients restants) : modéré (type M) ou sévère (type S). Parmi ces 40 patients, 26 appartenaient au type M (65%) et 14 au type S (35%) (tableau 4). Tous les patients dont le résultat était négatif appartenaient au type M. 15 (62,5%) et 9 (37,5%) des 24 patients ayant une mutation dans *EXT1* appartenaient respectivement au type M et S (dont 3 IS, 3 IIS, 1 IIIS et 2 IVS). 7 (58%) et 5 (42%) des 12 individus mutés dans *EXT2* étaient respectivement de type M et S (dont 2 IS, 2 IIS et 1 IVS). Des patients ayant développé des chondrosarcomes étaient retrouvés parmi les types M et S.

Il ne semble donc pas y avoir de différence notable en termes de sévérité du phénotype entre les patients ayant des mutations dans *EXT1* ou *EXT2*. Les patients négatifs semblent par contre présenter un phénotype plutôt modéré.

4.2.2. Complications

La taille a été renseignée pour 44 des 65 patients (25 mutés dans *EXT1*, 16 dans *EXT2*, 3 négatifs, 9 ayant moins de 10 ans, 4 entre 10 et 18 ans et 31 ayant plus de 18 ans). 27 de ces 44 patients avaient une taille inférieure au 50ème percentile (61%) dont 4/44 inférieure à -2DS (9%). Parmi ces 44 individus, 76% (19/25) des patients avec un variant identifié dans le gène *EXT1* et 50% (8/16) des patients *EXT2* avaient une taille inférieure au 50ème percentile (tableau 4). Tandis qu'aucun des patients négatifs n'avaient une taille inférieure à la moyenne. Les 4 individus ayant une taille inférieure à -2DS étaient tous des patients mutés dans le gène *EXT1*. Une proportion assez importante de patients adultes ou mutés *EXT1* semblent donc présenter une taille inférieure à la moyenne. En outre, sur les 31 patients de plus de 18 ans pour lesquels

la taille est renseignée, 23 ont une taille inférieure à la moyenne (74,2%) dont les 4 individus ayant une taille inférieure à -2DS alors que 3/9 patients de moins de 10 ans et 1/4 patients ayant entre 10 et 18 ans ont une taille inférieure à la moyenne.

69% des patients se plaignaient de douleurs (40/58 patients où cet item du questionnaire était rempli). Ces douleurs pouvaient être présentes chez l'ensemble des patients quel que soit le gène muté puisque 64,50% (20/31) des patients mutés dans *EXT1*, 73,90% (17/23) des mutés *EXT2* et 3/4 des patients dont l'analyse est revenue négative présentent des douleurs. Ces douleurs étaient sévères dans 7,50% (3/40) des cas, modérées dans 47,5% (19/40) des cas et légères dans 45% des cas (18/40). Les individus mutés pour *EXT1* semblent présenter des douleurs légèrement plus sévères puisque 15% (3/20), 50% (10/20) et 35% (7/20) de ces patients présentent respectivement des douleurs sévères, modérées ou légères. Tandis que 47 % (8/17) des patients mutés dans *EXT2* présentent des douleurs modérées et 53% (9/17) des douleurs légères. Enfin, 2/3 des patients négatifs présentent des douleurs légères et 1/3 des douleurs modérées. Aucun des patients négatifs ou mutés dans *EXT2* ne présentent de douleurs sévères.

57% des patients présentaient une limitation de mobilité articulaire (31/54 patients où cet item a été renseigné. Sur ces 54 patients, 29 avaient un variant dans *EXT1*, 21 dans *EXT2*, 4 étaient négatifs, 36 avaient plus de 18 ans et 18 étaient mineurs). Ces limitations étaient souvent associées à une déformation et étaient plus souvent retrouvées chez les adultes puisque 67% (24/36) des patients de plus de 18 ans étaient concernés contre 39% (7/18) de moins de 18 ans. Une proportion plus importante de patients mutés dans *EXT2* semblait également souffrir de limitation articulaire, car 76% (16/21) de ces patients étaient concernés, contre 52% (15/29) des patients mutés dans *EXT1* et aucun des patients négatifs. La localisation de ces limitations a pu être renseignée pour 29 des 31 patients atteints. Le poignet était le plus souvent touché dans 45% des cas (13/29) avec principalement une limitation pour les mouvements de prono-

supination et plus rarement une limitation de la flexion-extension. Les genoux étaient aussi souvent touchés dans 31% des cas (9/29) avec une gêne au niveau de la flexion du genou. Une limitation de flexion des chevilles était ensuite retrouvée dans 21% (6/29) des cas. La hanche et l'épaule étaient touchées chacune dans 17% (5/29) des cas avec des limitations de flexion, extension et rotation de hanche et d'élévation de l'épaule. Plus rarement, on retrouvait aussi des limitations de mobilisation du coude dans 14% (4/29) des cas ou parfois de la flexion-extension des doigts (2/29 : 7% des cas).

La présence ou non de déformations a été renseignée chez 56 patients (dont 31mutés dans le gène *EXT1*, 21 mutés *EXT2*, 4 négatifs, 19 de moins de 18 ans et 37 de plus de 18 ans). Des déformations ont été retrouvées chez 64% (36/56) des individus atteints, dont 68% (21/31) des mutés dans *EXT1* et 71% (15/21) des patients mutés *EXT2*. Aucun des patients négatifs ne présentaient de déformations. Celles-ci étaient également moins fréquentes chez les enfants, puisque 42% (8/19) des moins de 18 ans avaient des déformations contre 76% (28/37) des adultes. Les avant-bras étaient les régions les plus fréquemment touchés dans 53% des cas (18/34 patients où la localisation était renseignée). Il s'agissait dans la grande majorité des cas de déformation de Madelung ou parfois de raccourcissement des avant-bras. Des limitations de mobilisation du poignet étaient associées dans 62% des cas. Les genoux étaient une autre localisation fréquente dans 29% des cas (10/34) avec principalement des genu valgum, une limitation de mobilisation des genoux n'étant associée que dans 30% des cas. Des déformations au niveau des chevilles et des hanches (à type de coxa valga) étaient présentes chacune dans 9% des cas (3/34). Un hallux valgus était retrouvé dans 12% (4/34) des cas ; et les mains et doigts étaient déformés dans 6% des cas (2/34). Enfin, une scoliose était retrouvée dans 15% des cas (5/34). 4 de ces 5 patients présentaient une inégalité de longueur des membres inférieurs et l'un d'entre eux avait également des exostoses au niveau du rachis.

17% des individus atteints présentaient une brachymétacarpie/tarsie (8/46 où cette donnée était renseignée). La grande majorité d'entre eux étaient des patients mutés dans *EXT1*. En effet, 28% (7/25) des patients mutés *EXT1* contre 6% (1/18) des patients mutés *EXT2* présentaient cette complication. Aucun des patients négatifs n'avait de brachymétacarpie.

Une inégalité de longueur a été retrouvée chez 28,6% des patients (14/49 où cette donnée était renseignée). Il s'agissait de 1/3 des patients mutés *EXT1* (9/27) et 28% des patients mutés *EXT2* (5/18). Aucun des patients négatifs n'avait d'inégalité de longueur des membres.

6 des 49 patients où cette donnée était renseignée présentaient une arthrose précoce (12%). 4 de ces patients étaient mutés dans *EXT1* et 2 dans *EXT2*. Le plus jeune de ces patients a débuté une arthrose à 30 ans. Aucun des patients négatifs n'a développé d'arthrose.

Des complications à type de compression nerveuse se manifestant par des paresthésies, hypoesthésies ou douleurs neuropathiques ont été retrouvées chez 10 patients parmi les 51 où cet item était renseigné (20%) (Comprenant 27 patients mutés dans le gène *EXT1*, 20 patients mutés dans *EXT2* et 4 patients négatifs). Sur ces 10 individus atteints, 5 étaient des patients mutés *EXT1* et 5 des patients mutés *EXT2*. Enfin, aucun des patients négatifs ne présentaient de compression nerveuse.

Plus rarement, la présence d'exostoses était responsable de compression vasculaire chez 3 de ces 51 patients (6%) dont 2 patients mutés *EXT1* et 1 muté *EXT2*. Les patients négatifs ne souffraient pas non plus de compression vasculaire.

Aucun des patients de notre cohorte n'a présenté de compression médullaire pouvant survenir suite à la présence d'exostoses rachidiennes intra-canalaires.

Dans cette étude, une transformation maligne d'un ostéochondromes en chondrosarcome est survenue chez 4 des 54 individus où cette donnée était renseignée (7%). 1 de ces patients avait une mutation dans *EXT1*, les 3 autres dans *EXT2*. Ces chondrosarcomes ont été diagnostiqués à l'âge de 20 ans pour le patient muté dans *EXT1* et à 39, 45 et 47 ans

chez les patients mutés dans *EXT2*. Deux des patients mutés dans le gène *EXT2* ont présenté plusieurs récidives. Ces chondrosarcomes étaient localisés au niveau du grill costal, de la scapula, du bassin et du 1/3 inférieur du tibia.

4.2.3. Prise en charge chirurgicale

Une prise en charge chirurgicale a été nécessaire chez 75% des patients (48/64) qu'ils présentent des mutations dans *EXT1*, *EXT2* ou soit négatif. L'âge de la 1ère intervention s'étendait de 2 à 47 ans avec un âge médian de 11 ans. Ces patients ont eu de 1 à 32 interventions chirurgicales, la médiane étant de 3 interventions.

5. Discussion

Nous décrivons dans cette étude le génotype et les caractéristiques cliniques de l'une des rares cohortes de grande taille au niveau international de patients présentant une maladie des exostoses multiples, étudiés au sein du laboratoire de génétique moléculaire du CHU de Clermont-Ferrand entre 2010 et 2019. Pendant cette période, une analyse moléculaire par séquençage Sanger et/ou MLPA des gènes *EXT1* et *EXT2* a été réalisée chez des patients appartenant à 135 familles différentes. Nous avons mis en évidence des variants pathogènes ou probablement pathogènes chez 112 des cas index (84%), ce qui représente un taux de réussite diagnostique similaire aux publications précédentes dans lesquelles cette valeur variait de 70 à 95% (28, 39, 40).

Chez les 112 patients positifs pour un variant dans *EXT1* ou *EXT2*, les mutations dans le gène *EXT1* ont été trouvées environ deux fois plus souvent que les mutations dans *EXT2* (67% vs 33% respectivement), ce qui est également conforme aux données de la littérature (28, 40).

La majorité des mutations décrites dans *EXT1* ou *EXT2* (75-80%) sont des mutations perte de fonction, c'est-à-dire des non-sens, frameshift, mutation affectant l'épissage ou délétion d'un ou plusieurs exons (28, 40). De la même façon, 98 des mutations sur les 112 (87%) détectées dans notre cohorte sont prédites comme entraînant probablement une perte de fonction.

Dans les publications antérieures, les mutations d'*EXT1* sont généralement réparties dans toute la séquence de la protéine, tandis que les variants délétères présent dans *EXT2* se situent au niveau de la première moitié de la protéine (28). Cependant, dans une grande cohorte italienne décrite par Ciavarella et al. (2013) (39), 50,1% de toutes les mutations d'*EXT1* étaient localisées dans les exons 1 et 2, où est localisé le domaine exostosine (cf figure 2). Nos conclusions soutiennent l'hypothèse qu'il pourrait y avoir un excès de mutations dans les deux premiers exons d*'EXT1.* Dans notre cohorte, des variants ont été retrouvés au niveau de l'ensemble du gène *EXT1*. Mais 44% (26/59) des mutations non-sens, frameshift et faux-sens étaient situées dans l'exon 1. De nombreux variants faux-sens étaient aussi localisés dans l'exon 2. En ce qui concerne le gène *EXT2*, un grand nombre des variants étaient situés au niveau de l'exon 2, les autres étant dans les exons 3 à 8 du gène.

Au sein de notre cohorte, les mutations de type frameshift étaient plus fréquemment retrouvées dans le gène *EXT1*, représentant 47% des mutations identifiées dans *EXT1*. Les variants non-sens et affectant l'épissage étaient retrouvés chez 19% et 13% des patients respectivement. Et 13% des patients présentaient des mutations faux-sens. De précédentes publications retrouvaient des fréquences similaires avec 44% de frameshift, 24% de non-sens, 11% de variants affectant l'épissage dans le gène *EXT1* et 42% de frameshift, 22% de non-sens, 13% de mutations touchant l'épissage dans *EXT2* (28).

Les mutations de type non-sens étaient par contre beaucoup plus fréquentes au sein du gène *EXT2* dans notre cohorte, étant retrouvées dans 59% des cas. Les variants frameshift étaient quant à eux retrouvés chez 14% des patients mutés dans *EXT2* et ceux affectant l'épissage chez

11% de ces patients. Enfin 11% des individus atteints étaient porteurs de mutations faux-sens dans *EXT2*

L'analyse par MLPA a permis un diagnostic moléculaire chez 8% des patients *EXT1* et 5% des patients *EXT2* en identifiant 2 délétions touchant un ou plusieurs exons dans *EXT2* et 6 délétions ou duplication dans *EXT1*, ce qui correspond à un rendement diagnostique d'environ 7%. L'une des délétions identifiées dans *EXT1* était en mosaïque. Dans la littérature, ce taux de détection par MLPA s'étend de 7 à 10% pour *EXT1* et de 0 à 8% pour *EXT2* (2). Ceci justifie de compléter systématiquement l'analyse des gènes *EXT1* et *EXT2* par la technique MLPA, lorsque le séquençage ne met en évidence aucun variant clairement pathogène chez un patient atteint d'ostéochondromes multiples.

La MLPA nous a aussi permis de trouver une duplication de grande taille touchant les exons 2 à 7 *d'EXT1*. Il s'agit du second cas décrit dans la littérature. Un premier cas de duplication de 230kb comprenant les exons 2 à 8 du gène *EXT1* avait été décrit pour la première fois par Su et al en 2015 (46). La duplication que nous avons identifiée est une duplication en tandem intragénique. Nous avons réussi à déterminer l'un des points de jonction, démontrant que ce fragment s'est inséré dans le même sens de transcription que le gène natif (cf hypothèses 1 et 3 dans la figure 7). L'autre borne de la duplication reste à déterminer afin de pouvoir trancher entre les 2 hypothèses. Quoiqu'il en soit, l'analyse des conséquences de cette duplication est en faveur d'un effet pathogène, en effet elle entraine un décalage du cadre de lecture, les exons 7 et 2 reliés n'étant pas en phase. Le gène *EXT1* étant exprimé de manière ubiquitaire, l'étude des transcrits du gène pourrait également permettre de mieux caractériser les conséquences de la duplication sur l'expression du gène.

A ce jour, 1248 variants ont été décrits dans la base de données LOVD (828 dans *EXT1* et 420 dans *EXT2*). Parmi les 112 variants identifiés dans notre cohorte, 13 des mutations identifiées (7 *EXT1* et 6 *EXT2)* étaient des mutations récurrentes dans la littérature et les bases

de données (« hotspots de mutation»). Peu de mutations *EXT1* et *EXT2* sont récurrentes. Cependant, certains hotspots sont rapportés dans la littérature. Pour *EXT1*, des mutations faux-sens affectant la position Arg340 (causées par cinq substitutions différentes : c.1018C>A, c.1018C>T, c.1019G>A, c.1019G>C et c.1019G>T) ont été observées chez 12% des patients mutés dans *EXT1* (28) et ont été retrouvées chez 4 de nos familles (2 avec la mutation c.1018C>T et 2 avec c.1019G>A). Il a déjà été confirmé que cet acide aminé est essentiel au bon fonctionnement de la protéine EXT1, car les constructions EXT1 portant une mutation du codon 340 sont complètement inactives *in vitro*. Ces mutations entraînent un défaut de synthèse de l'HS (28). Des mutations frameshift au niveau de la Leucine 490 (provoquées par trois délétions et insertions différentes ; c.1468delC, c.1468dupC et c.1469delT) ont été observées chez 7% des patients mutés dans *EXT1* et retrouvées chez 7 de nos patients (2 pour c.1468dupC et 5 pour c.1469delT). Ces mutations se situent après une région de polycytosine dans l'exon 6 aux positions 1463–1468 du gène. On sait que ces régions de polypyrimidine sont des hotspot avec des mutations localisées dans ou juste après cette région (28).

En ce qui concerne le gène *EXT2*, plusieurs mutations non-sens ont été retrouvées à plusieurs reprises. La mutation non-sens c.67C>T (p.Arg23*) a été observée chez 5% des patients mutés dans *EXT2* et est présente chez 3 de nos patients, cette mutation serait d'origine italienne d'après la littérature (41, 42). La mutation non-sens c.544C>T (p.Arg182*), qui a été observée chez 4% des patients mutés dans *EXT2* dans les bases de donnée, est retrouvée chez 2 de nos patients. La mutation non-sens c.514C>T (p.Gln172*), détectée chez 4% des patients de la littérature, est présente dans 3 de nos familles. La mutation faux-sens c.679G>A (p.Asp227Asn) a été observée chez 3% des patients dans les bases de données et dans une de nos familles. Il a déjà été rapporté que cet acide aminé était peut-être essentiel pour la fonction et / ou la stabilité de la protéine EXT2. Cette mutation faux-sens serait probablement

inactivatrice et interférerait avec la fonction du complexe EXT au niveau de l'appareil de Golgi (28).

Notre étude rapporte 45 nouveaux variants n'ayant jamais été décrits dans la littérature ni les bases de données (35 dans *EXT1* et 10 dans *EXT2*), confirmant la grande diversité des mutations dans ces 2 gènes et la nécessité de les analyser de manière exhaustive. Conformément à la littérature, nous retrouvons une majorité de variations prédites comme entraînant une perte de fonction ou, pour les mutations faux-sens, altérant un acide aminé important pour l'activité de la protéine, ce qui correspond au mécanisme physiopathologique proposé pour expliquer le développement des ostéochondromes.

Enfin, aucun variant n'a été identifié dans les régions analysées chez 10% de nos patients présentant une maladie des exostoses multiples confirmée cliniquement. Ces patients pourraient présenter des mutations dans les régions introniques profondes ou régulatrices des gènes *EXT1* ou *EXT2* non détectables par les techniques utilisées. Une autre hypothèse serait que les patients négatifs soient porteurs d'une mutation en mosaïque non détectable dans les leucocytes sanguins. Les 4 patients négatifs pour lesquels nous disposons de renseignements cliniques sont par ailleurs des cas sporadiques avec des manifestations cliniques très modérées ce qui pourrait être un argument en faveur de cette dernière hypothèse.

Dans notre cohorte de patients, les données cliniques détaillées ont pu être obtenues pour un total de 65 individus atteints.

L'âge de découverte de la maladie des exostoses multiples était variable et s'étendait de la naissance à l'âge de 15 ans avec un âge médian de 3 ans et demi dans notre étude. Cela est en accord avec les précédentes publications rapportant un âge médian au diagnostic de 3 ans (2).

Comme mentionné dans la littérature (43), le nombre d'exostoses variait aussi considérablement chez nos patients, certains individus ayant moins de 10 exostoses alors que

d’autres pouvaient en avoir plus de 50. Malgré cela, la majorité de nos patients avait entre 5 et 25 exostoses.

Classiquement, les exostoses surviennent plus fréquemment dans les régions métaphysaires de l’extrémité distale du fémur (90%), extrémité proximale du tibia (84%), extrémité proximale du péroné (76%), extrémité proximale de l'humérus (72%) et extrémité proximale du fémur (66%) (5). Notre questionnaire ne détaillait pas aussi précisément les différentes localisations, néanmoins, nous avons constaté que les membres supérieurs et inférieurs étaient les principaux sites d'exostoses. Le grill costal (39%), la scapula (34%), le bassin (27%), la clavicule (13%), les mains (45%), les pieds (26%) et le rachis (8%) étaient moins souvent impliqués.

Les ostéochondromes sont connus pour se développer et augmenter de taille dans la première décade de vie et cesser de croître quand les plaques de croissance se ferment à la puberté (2). Pourtant, 20 de nos patients présentaient toujours une pathologie évolutive avec une poursuite de la croissance des exostoses à l’âge adulte, contrairement à ce qui est décrit.

En tant que tumeurs bénignes, les ostéochondromes sont souvent asymptomatiques. Les manifestations cliniques et complications qui lui sont généralement associées incluent des douleurs, déformations, compressions sur les structures adjacentes, limitation du mouvement articulaire et même transformation maligne en chondrosarcome (44). Comme le met en évidence le tableau 4, les complications les plus graves, telles que les compressions vasculaires ou les transformations malignes en chondrosarcomes, sont les plus rares. Les complications les plus fréquentes sont surtout d’ordre fonctionnel avec des douleurs, déformations et limitations de la mobilité articulaire et peuvent avoir un impact important sur la qualité de vie des patients qu’il pourrait également être intéressant d’évaluer.

Dans notre cohorte, 69% des patients présentaient des douleurs, ce qui en fait la complication la plus fréquente. Ces douleurs étaient le plus souvent légères voire modérées.

Dans la littérature, la douleur est en effet retrouvée chez la majorité des patients et mène souvent à une exérèse chirurgicale (7).

Des déformations étaient retrouvées chez 64% de nos patients. Les avant-bras étaient les plus fréquemment touchés dans 53% des cas. Il s'agissait surtout dans la grande majorité des cas de déformation de type Madelung. Les genoux étaient une autre localisation fréquente retrouvée dans 29% des cas avec des déformations à type de genu valgum. Plus rarement (9%), il existait des déformations au niveau des chevilles et des hanches (à type de coxa valga). Une inégalité de longueur des membres inférieurs a été retrouvée chez 28,6% des patients. 17% des individus atteints présentaient une brachymétacarpie/tarsie. Les résultats de précédentes études ont mis en évidence un raccourcissement de l'ulna avec une courbure secondaire du radius chez 39% à 60% des patients atteints, une inégalité de longueur des membres chez 10% à 50%, un genu varus ou valgus chez 8% à 33% et une déformation de la cheville chez 2% à 54% (43 ; 45). Des cas de scoliose associée à la maladie des exostoses multiples sont décrits dans la littérature. Une étude récente rapporte même qu'il s'agit d'un signe fréquent retrouvé chez 70% des patients et lié à la sévérité de la maladie (17). Elle est beaucoup moins fréquente dans notre étude, puisqu'elle n'est retrouvée que dans 15% des cas dans notre cohorte.

57% des patients présentaient une limitation de mobilité articulaire, souvent associée aux déformations retrouvées. Le poignet était notamment le plus souvent touché dans 45% des cas avec principalement une limitation pour les mouvements de prono-supination. Mais on pouvait également souvent retrouver une gêne au niveau de la flexion du genou, une limitation de mouvement des chevilles, des hanches et de l'épaule.

Il a été rapporté précédemment une « taille réduite » chez environ 40% des individus atteints (2, 4), c'est à dire une taille inférieure à la taille cible prédite, même si cette taille est souvent normale. Une autre étude a décrit une diminution de la stature avec l'augmentation de l'âge des patients ainsi qu'une taille plus petite chez les patients mutés dans *EXT1* (6). Nos résultats

semblent aller dans le sens de ces données. En effet, 76% des patients avec un variant identifié dans le gène *EXT1* et 50% des patients mutés dans le gène *EXT2* avaient une taille inférieure au 50ème percentile et 4 patients mutés dans le gène *EXT1* avaient une taille inférieure à moins 2 déviations standards. 74% de nos patients adultes ont une taille inférieure à la moyenne alors que 1/3 des patients de moins de 10 ans et 1/4 patients ayant entre 10 et 18 ans ont une taille inférieure à la moyenne. Cette diminution récurrente de la stature pourrait être liée à une fermeture prématurée des plaques de croissance à l'adolescence (16).

En ce qui concerne les complications moins fréquentes, 12% des individus atteints présentaient une arthrose précoce. D'autre part, 20% de nos patients ont eu des compressions nerveuses par des ostéochondromes se manifestant par des paresthésies ou douleurs neuropathiques. Ce pourcentage est en accord avec les données de la littérature où 22,6% des individus atteints avaient des compressions nerveuses et 11,3% des compressions touchant les vaisseaux (43). Dans notre cohorte, 3 patients (6%) ont présenté une atteinte vasculaire secondaire à une exostose compressive. Aucun des patients de notre cohorte n'a présenté de compression médullaire. Ce type de complication a pourtant été rapporté plusieurs fois dans la littérature (2).

La complication la plus crainte reste la survenue d'un chondrosarcome. Sa fréquence varie selon les publications : elle peut varier de 1% jusqu'à 25%. Dans une large cohorte de plus de 500 individus, ce risque était de 5% (6). Dans notre étude, une transformation maligne d'un ostéochondrome en chondrosarcome est survenue chez 4/54 individus, ce qui représente 7% des patients. Le plus jeune des patients avait 20 ans, les autres entre 39 et 47 ans. Le risque augmente normalement avec l'âge, cette complication survenant souvent au début de la quarantaine (1). Le pelvis, la scapula, le grill costal et le rachis sont les localisations les plus fréquentes (4). Dans notre cohorte, les chondrosarcomes étaient localisés au niveau du grill costal, de la scapula, du bassin et du tibia.

75% de nos patients ont eu recours à une prise en charge chirurgicale. L'âge de la 1ère intervention s'étendait de 2 à 47 ans avec un âge médian de 11 ans. Ces patients ont eu de 1 à 32 interventions chirurgicales, la médiane étant de 3 interventions.

Plusieurs études de corrélation génotype-phénotype ont proposé que les mutations dans le gène *EXT1* seraient associées à un phénotype clinique plus sévère (19, 4, 6). D'autres études n'ont par contre montré aucune différence entre les individus mutés dans *EXT1* ou *EXT2*, mais la population étudiée était de taille limitée (47). De la même façon, dans notre cohorte, il ne semble pas y avoir de différence notable en termes de sévérité du phénotype entre les patients ayant des mutations dans *EXT1* ou *EXT2*. En effet, nous avons évalué la sévérité de la maladie à l'aide d'une classification proposé dans une précédente étude (19) et 37% des patients mutés dans *EXT1* appartenaient au type sévère contre 42% des patients mutés *EXT2*. Cependant, notre nombre d'individus atteints appartenant au type sévère était également limité (14 patients). Une des limitations est le taux de réponse actuellement insuffisant à notre questionnaire (36%) ainsi qu'à des réponses parfois incomplètes. Un plus grand nombre de patients serait nécessaire pour évaluer de façon significative une différence en termes de phénotype entre les patients ayant une mutation dans *EXT1* ou *EXT2*. Une méta-analyse des données précédemment publiées pourrait également être envisagée afin de mieux évaluer le lien entre sévérité de la maladie et génétique.

CONCLUSION

L'ensemble de ce travail a permis de mieux caractériser le génotype et le phénotype des patients présentant une maladie des exostoses multiples en France.

Nous décrivons 112 mutations identifiées dans 135 familles de patients atteints étudiés au sein du laboratoire de génétique moléculaire de Clermont-Ferrand, en rapportant notamment plusieurs mutations récurrentes et d'autres n'ayant jamais été décrites, dont un second cas de large duplication au sein du gène *EXT1* ce qui permet d'étendre le spectre mutationnel associé à la maladie des exostoses multiples. La grande majorité de ces mutations sont responsables d'une perte de fonction ce qui est en accord avec les données de la littérature.

De plus, nous décrivons aussi ici les caractéristiques cliniques de certains patients atteints en insistant notamment sur la survenue des complications dont les plus fréquentes sont principalement les douleurs , les déformations et limitations de mobilité articulaire, ce qui permet de mieux comprendre l'histoire et l'évolution de cette pathologie parfois très sévère.

L'identification de ces mutations dans les familles atteintes est particulièrement importante car elle peut faciliter le conseil génétique, permettant un dépistage intrafamilial voire la possibilité d'un diagnostic prénatal rarement demandé, cela en parallèle du suivi et de la surveillance des complications chez les patients.

Pierre CLAVELOU
Doyen-Directeur

Le doyen de l'UFR de Médecine,

Le président du Jury,

Professeur Isabelle CREVEAUX
Laboratoire de Biochimie Médicale
Biologie Moléculaire
Faculté de Médecine
28 Place Henri Dunant B.P. 38
630001 CLERMONT FERRAND CEDEX 1

6. Références

1. Beltrami G, Ristori G, Scoccianti G, Tamburini A, Capanna R. Hereditary Multiple Exostoses: a review of clinical appearance and metabolic pattern. Clin Cases Miner Bone Metab. 2016 Aug;13(2):110–8.

2. Wuyts W, Schmale GA, Chansky HA, Raskind WH. Hereditary Multiple Osteochondromas. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1235/

3. Clement ND, Porter DE. Hereditary multiple exostoses: anatomical distribution and burden of exostoses is dependent upon genotype and gender. Scott Med J. 2014 Feb;59(1):35–44.

4. Porter DE, Lonie L, Fraser M, Dobson-Stone C, Porter JR, Monaco AP, et al. Severity of disease and risk of malignant change in hereditary multiple exostoses. A genotype-phenotype study. J Bone Joint Surg Br. 2004 Sep;86(7):1041–6.

5. Hennekam RC. Hereditary multiple exostoses. J Med Genet. 1991 Apr;28(4):262–6.

6. Pedrini E, Jennes I, Tremosini M, Milanesi A, Mordenti M, Parra A, et al. Genotype-phenotype correlation study in 529 patients with multiple hereditary exostoses: identification of “protective” and “risk” factors. J Bone Joint Surg Am. 2011 Dec 21;93(24):2294–302.

7. Darilek S, Wicklund C, Novy D, Scott A, Gambello M, Johnston D, et al. Hereditary multiple exostosis and pain. J Pediatr Orthop. 2005 Jun;25(3):369–76.

8. Ali S, Kaplan S, Kaufman T, Fenerty S, Kozin S, Zlotolow DA. Madelung deformity and Madelung-type deformities: a review of the clinical and radiological characteristics. Pediatr Radiol. 2015 Nov;45(12):1856–63.

9. Woodside JC, Ganey T, Gaston RG. Multiple osteochondroma of the hand: initial and long-term follow-up study. Hand (N Y). 2015 Dec;10(4):616–20.

10. Wang Y-Z, Park K-W, Oh C-S, Ahn Y-S, Kang Q-L, Jung S-T, et al. Developmental pattern of the hip in patients with hereditary multiple exostoses. BMC Musculoskelet Disord. 2015 Mar 15;16:54.

11. Clement ND, Porter DE. Can deformity of the knee and longitudinal growth of the leg be predicted in patients with hereditary multiple exostoses? A cross-sectional study. Knee. 2014 Jan;21(1):299–303.

12. Hattori H, Asagai Y, Yamamoto K. Sudden onset of saphenous neuropathy associated with hereditary multiple exostoses. J Orthop Sci. 2006 Jul;11(4):405–8.

13. Sciubba DM, Macki M, Bydon M, Germscheid NM, Wolinsky J-P, Boriani S, et al. Long-term outcomes in primary spinal osteochondroma: a multicenter study of 27 patients. J Neurosurg Spine. 2015 Jun;22(6):582–8.

14. Nasr B, Albert B, David CH, Marques da Fonseca P, Badra A, Gouny P. Exostoses and vascular complications in the lower limbs: two case reports and review of the literature. Ann Vasc Surg. 2015 Aug;29(6):1315.e7–1315.e14.

15. Abdullah F, Kanard R, Femino D, Ford H, Stein J. Osteochondroma causing diaphragmatic rupture and bowel obstruction in a 14-year-old boy. Pediatr Surg Int. 2006 Apr;22(4):401–3.

16. Staal HM, Goud AL, van der Woude H-J, Witlox MA, Ham SJ, Robben SGF, et al. Skeletal maturity of children with multiple osteochondromas: is diminished stature due to a systemic influence? J Child Orthop. 2015 Oct;9(5):397–402.

17. Matsumoto Y, Matsumoto K, Harimaya K, Okada S, Doi T, Iwamoto Y. Scoliosis in patients with multiple hereditary exostoses. Eur Spine J. 2015 Jul;24(7):1568–73.

18. Wicklund CL, Pauli RM, Johnston D, Hecht JT. Natural history study of hereditary multiple exostoses. Am J Med Genet. 1995 Jan 2;55(1):43–6.

19. Francannet C, Cohen-Tanugi A, Le Merrer M, Munnich A, Bonaventure J, Legeai-Mallet L. Genotype-phenotype correlation in hereditary multiple exostoses. J Med Genet. 2001 Jul;38(7):430–4.

20. Alvarez C, Tredwell S, De Vera M, Hayden M. The genotype-phenotype correlation of hereditary multiple exostoses. Clin Genet. 2006 Aug;70(2):122–30.

21. Ahn J, Lüdecke HJ, Lindow S, Horton WA, Lee B, Wagner MJ, et al. Cloning of the putative tumour suppressor gene for hereditary multiple exostoses (EXT1). Nat Genet. 1995 Oct;11(2):137–43.

22. Stickens D, Clines G, Burbee D, Ramos P, Thomas S, Hogue D, et al. The EXT2 multiple exostoses gene defines a family of putative tumour suppressor genes. Nat Genet. 1996 Sep;14(1):25–32.

23. Pacifici M. The pathogenic roles of heparan sulfate deficiency in hereditary multiple exostoses. Matrix Biol. 2018;71-72:28–39.

24. Jones KB, Pacifici M, Hilton MJ. Multiple hereditary exostoses (MHE): elucidating the pathogenesis of a rare skeletal disorder through interdisciplinary research. Connect Tissue Res. 2014 Apr;55(2):80–8.

25. Jones KB, Piombo V, Searby C, Kurriger G, Yang B, Grabellus F, et al. A mouse model of osteochondromagenesis from clonal inactivation of Ext1 in chondrocytes. Proc Natl Acad Sci USA. 2010 Feb 2;107(5):2054–9.

26. Matsumoto K, Irie F, Mackem S, Yamaguchi Y. A mouse model of chondrocyte-specific somatic mutation reveals a role for Ext1 loss of heterozygosity in multiple hereditary exostoses. Proc Natl Acad Sci USA. 2010 Jun 15;107(24):10932–7.

27. Malghem J, Vande Berg B, Noël H, Maldague B. Benign osteochondromas and exostotic chondrosarcomas: evaluation of cartilage cap thickness by ultrasound. Skeletal Radiol. 1992;21(1):33–7.

28. Jennes I, Pedrini E, Zuntini M, Mordenti M, Balkassmi S, Asteggiano CG, et al. Multiple osteochondromas: mutation update and description of the multiple osteochondromas mutation database (MOdb). Hum Mutat. 2009 Dec;30(12):1620–7.

29. MRC-Holland - Start Page [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: http://www.mlpa.com/WebForms/WebFormMain.aspx?Tag=_fNPBLedDVp38p-CxU2h0mQ..

30. MutationTaster [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: http://www.mutationtaster.org/

31. SIFT - Predict effects of nonsynonmous / missense variants [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: https://sift.bii.a-star.edu.sg/

32. PolyPhen-2: prediction of functional effects of human nsSNPs [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/

33. Human Splicing Finder - Version 3.1 [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: http://www.umd.be/HSF/

34. ExAC Browser [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: http://exac.broadinstitute.org/

35. gnomAD [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: https://gnomad.broadinstitute.org/

36. LOVD - An Open Source DNA variation database system [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: https://www.lovd.nl/

37. ClinVar [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/

38. ANPGM • Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire [Internet]. [cited 2019 Sep 17]. Available from: https://anpgm.fr/

39. Ciavarella M, Coco M, Baorda F, Stanziale P, Chetta M, Bisceglia L, et al. 20 novel point mutations and one large deletion in EXT1 and EXT2 genes: report of diagnostic screening in a large Italian cohort of patients affected by hereditary multiple exostosis. Gene. 2013 Feb 25;515(2):339–48.

40. Jamsheer A, Socha M, Sowińska-Seidler A, Telega K, Trzeciak T, Latos-Bieleńska A. Mutational screening of EXT1 and EXT2 genes in Polish patients with hereditary multiple exostoses. J Appl Genet. 2014 May;55(2):183–8.

41. Gigante M, Matera MG, Seripa D, Izzo AM, Venanzi R, Giannotti A, et al. Ext-mutation analysis in Italian sporadic and hereditary osteochondromas. Int J Cancer. 2001 Nov 20;95(6):378–83.

42. Signori E, Massi E, Matera MG, Poscente M, Gravina C, Falcone G, et al. A combined analytical approach reveals novel EXT1/2 gene mutations in a large cohort of Italian multiple osteochondromas patients. Genes Chromosomes Cancer. 2007 May;46(5):470–7.

43. Bovée JV. Multiple osteochondromas. Orphanet Journal of Rare Diseases. 2008 Feb 13;3(1):3.

44. Saglik Y, Altay M, Unal VS, Basarir K, Yildiz Y. Manifestations and management of osteochondromas: a retrospective analysis of 382 patients. Acta Orthop Belg. 2006 Dec;72(6):748–55.

45. Guo X-L, Deng Y, Liu H-G. Clinical characteristics of hereditary multiple exostoses: a retrospective study of mainland chinese cases in recent 23 years. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci. 2014 Feb;34(1):42–50.

46. Su P, Wang Y, Cooper DN, Zhu W, Huang D, Férec C, et al. Disclosing the Hidden Structure and Underlying Mutational Mechanism of a Novel Type of Duplication CNV Responsible for Hereditary Multiple Osteochondromas. Hum Mutat. 2015 Aug;36(8):758–63.

47. Jennes I, Entius MM, Van Hul E, Parra A, Sangiorgi L, Wuyts W. Mutation screening of EXT1 and EXT2 by denaturing high-performance liquid chromatography, direct sequencing analysis, fluorescence in situ hybridization, and a new multiplex ligation-dependent probe amplification probe set in patients with multiple osteochondromas. J Mol Diagn. 2008 Jan;10(1):85–92.

***Tableau 2* : Liste des mutations identifiées chez les cas index dans le gène EXT1 (NM_000127.2).**
*Toutes les mutations ont été décrites selon la nomenclature HGVS. nr: non renseigné. *dans la colonne changement nucléotidique :mutations récurrentes.*

Numéro de famille	Exon/intron	Changement nucléotidique	Changement protéique	Type de mutation	Classification NGS-Diag	Histoire familiale	Références
M155	1	c.129delG	p.Asn44Metfs*92	Frameshift	5	non	Étude actuelle
M091	1	c.204G>A	p.Trp68*	Non-sens	5	non	Wuyts et al. (1998)
M174	1	c.247dupC	p.Arg83Profs*106	Frameshift	5	non	Jennes et al. (2008); Wells et al. (1997)
M262	1	c.287_290delAGAA	p.Lys96Serfs*39	Frameshift	5	oui	Étude actuelle
M021	1	c.301G>T	p.Glu101*	Non sens	5	oui	Étude actuelle
M044	1	c.351dupC	p.Val118Argfs*71	Frameshift	5	oui	Francannet et al (2001)
M227	1	c.398dupA	p.Asn133Lysfs*56	Frameshift	4	non	Étude actuelle
M182	1	c.461_462delTT	p.Phe154Cys*34	Frameshift	4	oui	Dobson-Stone et al. (2000); Francannet et al. (2001)
M237	1	c.500C>G	p.Ser167*	Non sens	5	non	Étude actuelle
M256	1	c.505C>T	p.Gln169*	Non sens	5	non	Étude actuelle
M214	1	c.531delA	p.Val178Cysfs*14	Frameshift	5	non	Sfar et al. (2009)
M056	1	c.538_539delAG	p.Leu181Profs*7	Frameshift	5	oui	Jennes et al. (2008)
M043	1	c.593G>T	p.Gly198Val	Faux-sens	3	non	Étude actuelle
M153	1	c.596delC	p.Thr199Ilefs*53	Frameshift	5	oui	Étude actuelle
M028	1	c.620dupT	p.Phe209Valfs*2	Frameshift	5	oui	Étude actuelle
M265	1	c.637C>T	p.Gln213*	Non sens	5	nr	LOVD
M152	1	c.679C>T	p.Arg227*	Non sens	5	nr	Seki et al. (2001)
M205	1	c.691G>A	p.Asp231Asn	Faux-sens	3	non	Étude actuelle
M005	1	c.726dupC	p.Arg243Glnfs*46	Frameshift	5	nr	Étude actuelle
M029	1	c.790delC	p.Leu264Trpfs*9	Frameshift	5	oui	Étude actuelle
M211	1	c.797T>C	p.Phe266Ser	Faux sens	4	oui	Étude actuelle
M022	1	c.802G>A	p.Gly268Arg	Faux-sens	4	nr	Jennes (2009) Hum Mutat 30, 1620
M264	1	c.803G>A	p.Gly268Glu	Faux-sens	4	oui	Étude actuelle
M020	1	c.804delG	p.Lys269Argfs*4	Frameshift	5	non	Jennes (2009) Hum Mutat 30, 1620
M225	1	c.839G>T	p.Arg280Met	Faux-sens	3	oui	LOVD
M150	1	c.851_852dupAT	p.His285Ilefs*75	Frameshift	5	oui	LOVD
M081	1	c.874_880delGTTGTGC	p.Val292Serfs*65	Frameshift	4	oui	Étude actuelle
M009	1	c.881T>G	p.Leu294Arg	Faux-sens	3	oui	Étude actuelle
M159	1	c.902delG	p.Gly301Alafs*58	Frameshift	5	oui	Jennes et al. (2009)
M036	1	c.954delG	p.Glu318Aspfs*41	Frameshift	5	non	Étude actuelle
M075	1	délétion exon 1	?	Délétion	5	non	White et al (2004); Signori et al. (2007)
M207	1	délétion exon 1	?	Délétion	5	non	White et al. (2004) ; Signori et al. (2007)
M212	intron1	c.963-2A>G*	?	Epissage	5	non	Vink et al.(2005)
M271	intron1	c.963-2A>G *	?	Epissage	5	oui	Vink et al. (2005) ; Jennes et al.(2009)

M217	2	c.1010C>G	p.Pro337Arg	Faux-sens	4	oui	Sarrion et al.(2013)
M089	2	c.1016G>A	p.Gly339Asp	Faux-sens	4	oui	Philippe et al. (1997)
M234	2	c.1018C>T *	p.Arg340Cys	Faux-sens	5	non	Philippe et al.(1997)
M251	2	c.1018C>T *	p.Arg340Cys	Faux-sens	5	nr	Philippe et al. (1997)
M235	2	c.1019G>A *	p.Arg340His	Faux-sens	4	nr	Raskind et al.(1998) ; Sarrion et al.(2013)
M259	2	c.1019G>A *	p.Arg340His	Faux-sens	4	oui	Raskind et al.(1998); Sarrion et al.(2013)
M031	2	c.1023G>C	p.Arg341Ser	Faux-sens	4	nr	Kang et al. (2012)
M185	2	c.1045G>T	p.Glu349*	Non sens	5	oui	Étude actuelle
M162	2	délétion partielle exon 2	?	Délétion	4	oui	Étude actuelle
M175	exons 2-7	duplication exons 2-7	?	Duplication		oui	Étude actuelle
M109	exons 2-11	mosaïque délétion exons 2-11	?	Délétion (mosaique)	4	non	Jennes et al (2011)
M034	Intron 2	c.1057-2A>G	?	Epissage	5	non	Raskind et al (1998)
M105	3	c.1155_1157delGTT	p.Leu387del	Délétion en phase	3	oui	Étude actuelle
M071	3	c.1160delT	p.Leu387Tyrfs*16	Frameshift	5	non	LOVD
M169	3	c.1162C>T *	p.Gln388*	Non sens	5	oui	Wuyts et al. (2005)
M218	intron 3	c.1165-1G>A	?	Epissage	5	oui	Étude actuelle
M220	intron 3	c.1165-1G>A	?	Epissage	5	oui	Étude actuelle
M206	4	1167dupT	p.Pro390Serfs*11	Frameshift	5	oui	Étude actuelle
M232	4	c.1188delT	p.His397Ilefs*6	Frameshift	5	non	Étude actuelle
M046	4	c.1237G>T	p.Glu413*	Non sens	5	non	Étude actuelle
M193	4	c.1271delT	p.Leu424*	Non sens	4	non	Étude actuelle
M108	4	c.1280T>C	p.Leu427Pro	Faux-sens	3	non	Étude actuelle
M024	Intron 4	c.1284+2T>G	?	Epissage	5	non	Lonie (2006) Hum Mutat 27, 1160
M221	intron 4	c.1285-2A>G	?	Epissage	5	oui	Étude actuelle
M049	5	c.1313dupT	p.Ser439Ilefs*3	Frameshift	4	nr	Étude actuelle
M090	5	c.1369C>T	p.Gln457*	Non sens	5	nr	Étude actuelle
M076	exons 5-6	délétion partielle exon 5 et 6	?	Délétion	5	oui	Étude actuelle
M084	intron 5	c.1417+1G>T	?	Epissage	5	nr	Jennes et al. (2009)
M243	intron 5	c.1418-2A>G *	?	Epissage	5	nr	Dobson-Stone et al.(2000)
M204	6	c.1431delC	p.Ser478Profs*10	Frameshift	5	oui	Jennes et al.(2008)
M051	6	c.1468dupC *	p.Leu490Profs*31	Frameshift	5	nr	Vink et al. (2005); Seki et al (2001)
M272	6	c.1468dupC *	p.Leu490Profs*31	Frameshift	5	oui	Vink et al. (2005)
M202	6	c.1469delT *	p.Leu490Argfs*9	Frameshift	5	oui	Francannet et al. (2001)
M027	6	c.1469delT *	p.Leu490Argfs*9	Frameshift	5	oui	Jamsheer, A. et al. (2014) J. Appl. Genet.
M101	6	c.1469delT *	p.Leu490Argfs*9	Frameshift	5	nr	Jamsheer et al. (2014); Francannet et al. (2001)

M275	6	c.1469delT *	p.Leu490Argfs*9	Frameshift	5	non	Francannet et al. (2001) ; Wuyts et al.(1998)
M281	6	c.1469delT *	p.Leu490Argfs*9	Frameshift	5	oui	Francannet et al. (2001) ; Wuyts et al. (1998)
M083	7	c.1596delT	p.Ala533Leufs*14	Frameshift	5	nr	Étude actuelle
M177	7	c.1618G>T	p.Glu540*	Non sens	5	oui	Étude actuelle
M040	Intron 7	c.1632+1G>C	?	Epissage	5	nr	Étude actuelle
M017	8	c.1678dupG	p.Ala560Glyfs*6	Frameshift	5	oui	Étude actuelle
M074	8	c.1687_1690dupAGCC	p.Leu564Glnfs*3	Frameshift	4	oui	Étude actuelle
M163	9	c.1835G>A	p.Trp612*	Non sens	5	oui	LOVD
M030	9	c.1848_1854dup	p.Val619Leufs*37	Frameshift	4	oui	Étude actuelle
M186	9	c.1879_1881delCAC	pHis627del	Délétion en phase	3	nr	Étude actuelle
M033	10	c.1905_1908delCCAT	p.His636Thrfs*6	Frameshift	4	non	Étude actuelle
M236	10	c.1942C>T	p.Gln648*	Non sens	5	oui	Vink et al.(2005)
M067	11	c.2065delG	p.Ala689Leufs*17	Frameshift	5	non	Étude actuelle

***Tableau 3* : Liste des mutations identifiées chez les cas index dans le gène EXT2 (NM_207122.1).** *Toutes les mutations ont été décrites selon la nomenclature HGVS. nr: non renseigné. * dans la colonne changement nucléotidique : mutations récurrentes*

Numéro de famille	Exon/intron	Changement nucléotidique	Changement protéique	Type de mutation	Classification NGS-Diag	Histoire familiale	Références
M183	2	c.67C>T *	p.Arg23*	Non sens	5	nr	Kang et al. (2012)
M219	2	c.67C>T *	p.Arg23*	Non sens	5	nr	Wuyts et al.(1998)
M249	2	c.67C>T *	p.Arg23*	Non sens	5	nr	Wuyts et al.(1998)
M222	2	c.244dupG	p.Asp82Glyfs*11	Frameshift	5	oui	Jennes et al.(2009) ; Vining et al.(2012)
M273	2	c.327T>G	p.Tyr109*	Non sens	5	oui	étude actuelle
M011	2	c.429C>A	p.Tyr143*	Non sens	5	non	étude actuelle
M263	2	c.455T>C	p.Leu152Pro	Faux-sens	4	non	étude actuelle
M187	2	c.514C>T *	p.Gln172*	Non sens	5	non	Wuyts et al. (1996)
M261	2	c.514C>T *	p.Gln172*	Non sens	5	oui	Wuyts et al.(1998)
M149	2	c.514C>T *	p.Gln172*	Non sens	5	non	Wuyts et al (1996)
M178	2	c.526C>T	p.Gln176*	Non sens	5	oui	LOVD
M226	exons 2-7	délétions des exons 2 à 7	?	Délétions	4	oui	étude actuelle
M269	intron 2	c.537-1G>A	?	Epissage	5	nr	Seki et al.(2001)
M025	3	c.539G>A	p.Trp180*	Non sens	5	oui	Sarrión et al (2013)
M037	3	c.544C>T *	p.Arg182*	Non sens	5	nr	Dobson-Stone et al (2000)
M050	3	c.544C>T *	p.Arg182*	Non sens	5	oui	Dobson-Stone et al (2000)
M196	3	c.548delG	p.Gly183Valfs*87	Frameshift	5	nr	étude actuelle
M002	3	c.580G>T	p.Gly194*	Non sens	5	oui	Chen et al. (2006)
M248	intron 3	c.626+1G>A	?	Epissage	5	non	Vink et al.(2005)
M023	4	c.668G>C *	p.Arg223Pro	Faux-sens	4	oui	Shi et al. (2000)
M085	4	c.679G>A *	p.Asp227Asn	Faux-sens	4	nr	Philippe et al (1997)
M055	4	c.728delC	p.Pro243Glnfs*27	Frameshift	5	oui	étude actuelle
M047	5	c.764T>C	p.Leu255Pro	Faux-sens	4	nr	Vink et al. (2005)
M039	6	c.1022delC	p.Pro341Argfs*95	Frameshift	5	oui	étude actuelle
M223	6	c.1074G>A	p.Trp358*	Non sens	5	oui	étude actuelle
M246	6	c.1074G>A	p.Trp358*	Non sens	5	oui	étude actuelle
M063	exons 6-7	délétion des exons 6 et 7	?	Délétion	4	oui	Jennes et al (2009)
M224	intron 6	c.1079+1G>A	?	Epissage	5	oui	Jennes et al.(2009)
M042	7	c.1132C>T *	p.Gln378*	Non sens	5	nr	Wuyts et al. (2000)
M260	7	c.1132C>T *	p.Gln378*	Non sens	5	non	Wuyts et al.(2000)
M103	7	c.1132C>T *	p.Gln378*	Non sens	5	non	Wuyts et al. (2000)
M110	7	c.1132C>T *	p.Gln378*	Non sens	5	oui	Wuyts et al. (2000)
M102	7	c.1144delC	p.Gln382Lysfs*54	Frameshift	5	oui	LOVD
M099	7	c.1150C>T	p.Gln384*	Non sens	5	oui	étude actuelle
M107	intron7	c.1173+1G>C	?	Epissage	5	nr	Jennes et al (2009)
M068	8	c.1201C>T	p.Gln401*	Non sens	5	nr	Philippe et al (1997)
M252	8	c.1250G>C	p.Arg417Pro	Faux-sens	3	oui	LOVD
M191	8	c.1262dupA	p.Tyr421*	Non sens	5	nr	Pei et al (2010)

Annexe I : Questionnaire Maladie des Exostoses Multiples

Caractéristiques du patient :

Nom :

Prénom :

Date de naissance:

Sexe : ☐ Féminin ☐ Masculin

Taille :

ATCD personnels notables (cancer,etc) :

ATCD familiaux d'ostéochondromes (exostoses) multiples : ☐Oui ☐Non

Date des dernières nouvelles :

Présentation clinique :

Age de début :

Mode de découverte :

Nombre d'exostoses : ☐ <5 ☐ 5-10 ☐10-15 ☐15-25 ☐ 25-50 ☐ >50

Localisations :

☐Membres supérieurs ☐Membres inférieurs ☐ Bassin ☐ Scapula

☐Rachis ☐Mains ☐Pieds ☐Grill costal

☐Bilatérales ☐Autres (préciser) :

Poursuite de l'évolution (développement d'exostoses) après la puberté :

☐Oui ☐ Non ☐ Sans objet

Si oui, préciser jusqu'à quel âge :

Complications :

Douleur : ☐Aucune ☐Légère ☐Modérée ☐Sévère

Limitations mobilité articulaire : ☐ Oui ☐ Non

Si oui, préciser la/les localisation(s) :

Déformations (des membres, scoliose,…) : ☐Oui ☐ Non

Si oui, préciser le type de déformation et la/les localisation(s) :

Brachymetacarpie : ☐Oui ☐Non

Inégalité de longueur des membres : ☐Oui ☐Non

Retard de croissance statural : ☐Oui ☐Non

Arthrose précoce (<50 ans): ☐Oui ☐ Non

Si oui, préciser l'âge :

Compression(s) :

☐Vasculaire ☐Nerveuse ☐Médullaire ☐ Aucune

Si oui, préciser la/les localisation(s) :

Transformations malignes en chrondrosarcomes : ☐Oui ☐ Non

Si oui, préciser :

- Âge de découverte :
- Localisation(s) précise(s) :

Autres complications :

<u>Prise en charge chirurgicales</u> : ☐Oui ☐ Non

Si oui, préciser :

- Age de la 1ere intervention :
- Nombre d'interventions :
- Localisation(s) :

Annexe II : Classification Sévérité

1) Évaluation de la sévérité du phénotype

	Âge de début (an)	Nombre d'exostoses	Localisation vertébrale	Taille (percentile)	Évaluation fonctionnelle
Sévère*	3	10	+	10	Passable
Modérée	>3	<10	-	>10	Bonne

* au moins 3 facteurs requis

2) Évaluation fonctionnelle

	Douleur	brachymetacarpie	Raccourcissement avant- bras (cm)	genu varus/valgus (degrés)	Raccourcissement des membres inférieurs (cm)
Bonne	Aucune/légère	-	non/<1	non	non/1
Passable	Modérée/sévère	+	>2	> 10	> 2

* au moins 1 facteur requis

3) Sous-groupes du type S

	Nombre d'exostoses	Localisation vertébrale	taille (percentile)	Évaluation fonctionnelle
Type IS	10 à 25	-	10	passable
Type IIS	> 25	-	10	passable
Type IIIS	10	+	10	passable
Type IVS	10	-	<3	passable

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) 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(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) 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.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette FACULTE et de mes chers CONDISCIPLES, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'Honneur et de la Probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes MAÎTRES, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les HOMMES m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'OPPROBRE et méprisé de mes confrères si j'y manque.

MAGRY Virginie

« La Maladie des Exostoses Multiples : Analyse du génotype et phénotype d'une cohorte de 135 familles »

RESUME :

Contexte : La maladie des exostoses multiples est une pathologie génétique autosomique dominante rare caractérisée par le développement de nombreuses excroissances osseuses entourées de cartilage (ostéochondromes) au niveau des os longs. Des mutations dans les gènes *EXT1* et *EXT2* sont trouvées dans près de 90 % des patients.

Objectif : L'objectif de ce travail est d'analyser les mutations identifiées et les caractéristiques cliniques de la cohorte nationale de patients atteints de cette pathologie, étudiés au sein du laboratoire de génétique moléculaire de Clermont-Ferrand.

Méthode : L'analyse moléculaire par séquençage Sanger ou MLPA des gènes *EXT1* et *EXT2* a été réalisée chez 135 familles (comprenant 180 individus atteints dont 168 ont été testés sur le plan génétique) au sein du laboratoire de génétique moléculaire de Clermont-Ferrand et les données cliniques ont été complétées rétrospectivement.

Résultats : Parmi les 135 familles analysées, 112 variants pathogènes ou probablement pathogènes ont été retrouvés dont 45 n'ayant jamais été décrits dans la littérature ou les bases de données. 75 variants ont été identifiés dans *EXT1* : 35 frameshift, 14 non-sens, 10 faux-sens, 10 mutations affectant l'épissage, 5 grandes délétions dont 1 délétion en mosaïque et 1 duplication. Il s'agit du 2e cas de duplication décrit dans *EXT1* jusqu'à maintenant. 37 variants ont d'autre part été identifiés dans *EXT2* : 5 frameshift, 22 non-sens, 4 faux sens, 4 affectants l'épissage et 2 délétions de grande taille. Parmi les familles restantes, 8 variations de signification indéterminée (VOUS) ont été retrouvées dans *EXT1* (7/8) ou *EXT2* (1/8). Enfin, aucun variant n'a été identifié dans les régions analysées chez 15 patients présentant une maladie des exostoses multiples confirmée cliniquement. Les données cliniques ont pu être obtenues pour 65 patients atteints appartenant à ces familles et comprenant 36 femmes et 29 hommes âgés de 4 à 69 ans.

Conclusion : Ce travail constitue l'une des rares cohortes de grande taille au niveau international et permet donc de mieux caractériser le spectre mutationnel et phénotypique associé à la maladie des exostoses multiples. Nous décrivons notamment ici le second cas de duplication dans le gène *EXT1*.

MOTS-CLES :

Exostoses multiples, EXT1, EXT2, Osteochondrome, Chondrosarcome, Mutations

JURY :

Président : Mme CREVEAUX Isabelle, Professeure

Membres :

Mr GARCIER Jean-Marc, Professeur
Mr CORNELIS François, Professeur
Mme FRANCANNET Christine, Docteur,
Mme NACHURY-JANEL Caroline. Docteur

DATE DE LA SOUTENANCE : le 23 septembre 2019