



**HAL**  
open science

# Diagnostic étiologique de la déficience intellectuelle : résultats du séquençage d'exome en trio dans une cohorte de 818 patients

Thomas Courtin

► **To cite this version:**

Thomas Courtin. Diagnostic étiologique de la déficience intellectuelle : résultats du séquençage d'exome en trio dans une cohorte de 818 patients. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-03142494

**HAL Id: dumas-03142494**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03142494>**

Submitted on 16 Feb 2021

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0  
International License

## AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4*

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10*

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES  
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2019

N° 225

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE  
DOCTEUR EN MÉDECINE

Diagnostic étiologique de la déficience intellectuelle :  
résultats du séquençage d'exome en trio  
dans une cohorte de 818 patients

Présentée et soutenue publiquement  
le 17 octobre 2019

Par

**Thomas COURTIN**  
Né le 13 février 1989 à Arras (62)

Dirigée par Mme Le Docteur Delphine Héron, PH

Jury :

M. Le Professeur Arnold Munnich, PU-PH ..... Président

Mme Le Professeur Alexandra Durr, PU-PH

M. Le Professeur Jean-Pierre Siffroi, PU-PH

M. Le Docteur Boris Keren, PH



## Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier le Dr Delphine Héron pour m'avoir encadré au cours de ce travail. Mais je la remercie aussi pour beaucoup d'autres choses. J'ai eu la chance de la rencontrer au tout début de mon internat et elle aura orienté, parfois à son insu, tous les choix professionnels qui ont suivi. Je la remercie pour avoir amplement participé à confirmer mon intérêt pour la génétique, et bien plus.

Cette rencontre a été accompagnée par celle du Pr Alexandra Durr qui aura été tout aussi déterminante dans mon parcours. Je la remercie pour avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse. C'est une chance d'avoir pu rencontrer ces deux personnes dans ma carrière médicale. Par la diversité de leurs points de vue, elles éclairent ma réflexion sur la discipline complexe qu'est la génétique médicale.

Tous mes remerciements au Pr Arnold Munnich d'avoir accepté de présider ce jury de thèse. Je le remercie également pour ses enseignements.

Je remercie le Pr Jean-Pierre Siffroi pour avoir accepté de faire partie de ce jury. Je le remercie aussi pour sa gentillesse et son ouverture. Il aura éveillé en moi une curiosité pour la biologie médicale et pour la cytogénétique.

Merci au Dr Boris Keren avec qui c'est un plaisir de travailler. Je le remercie pour son pragmatisme et sa rigueur, mais surtout pour sa gentillesse. Je suis impatient de poursuivre notre collaboration. Je remercie également le reste de son équipe, Julien, Corinne, Élodie, Valérie, Claude, Sabina, Aurélie et Catherine. C'est un plaisir et une chance de vous avoir rencontré.

Je tenais également à témoigner de mon affection pour toutes les merveilleuses rencontres que j'ai pu faire au cours de mon internat, à tous mes co-internes qui sont, pour une belle partie, devenus des amis. Je pense à mes camarades pédiatres Marianne, Domitille Eugénie, Clothilde, Aïcha Émilie, Clara, Caroline. Je pense également à Geoffroy, Nicolas et Louis neurologues malgré eux. C'est une réelle chance de vous avoir rencontré, d'avoir pu travailler avec vous, et d'être devenu vos amis. Je vous remercie.

Je pense également à toutes celles qui ont guidé ma formation, Isabelle, Anne-Sylvia, Cécile, Maria Del Mar, Julie, Juliette, Anne. Des cheffes merveilleuses, chacune à leur manière.

Merci aux membres des services de génétique de l'hôpital Trousseau et de la Pitié Salpêtrière, Solveig, Cyril, Sandra, Céline, Myrtille, Anne-Claire. Mais Necker n'est pas en reste, Jeanne, Marlène, merci. Ces personnes rendent la génétique encore un peu plus surprenante et intéressante.

Merci au Dr Muriel Holder et au Pr Jeanne Amiel pour m'avoir permis d'exporter l'aventure génétique à Londres pour quelques mois. C'était une expérience inoubliable.

De façon plus intime, je voulais aussi remercier Nneia, qui m'a supporté pendant de longues années. Plus que supporté, elle m'a encouragé et inspiré pour des choix que je n'aurais jamais fait sans elle. Elle aura marqué mon parcours de la meilleure des façons. Je la remercie.

Merci à Laura de penser à moi pour ses projets ambitieux et prometteurs, génétiques ou non. Elle me laisse envisager le présent et peut-être l'avenir avec douceur et sérénité.

Merci à mes amis de toujours, Adrien et Matthieu. J'espère leur témoigner au quotidien de l'affection qu'ils méritent.

Merci à mes sœurs et mon frère. J'ai hâte que la famille s'agrandisse. Merci à mes parents pour leur soutien inconditionnel.

## Liste des abréviations

AAIAD : American Association on Intellectual and Developmental Disabilities

ACPA : Analyse Chromosomique sur Puce à ADN

ADN : Acide Desoxyribo Nucléique

APA : l'American Psychiatric Association

CIM : Classification Internationale des Maladies

CNV : Copy Number Variation

DI : Déficience Intellectuelle

NGS : New Generation Sequencing

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

WES : Whole Exome Sequencing

WGS : Whole Genome Sequencing

## Table des matières

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION</b>	<b>11</b>
1.1	<b>Avant-propos : la déficience intellectuelle parmi les troubles du neurodéveloppement</b>	<b>11</b>
1.2	<b>La DI : définitions</b>	<b>12</b>
1.2.1	Définition de l’OMS	13
1.2.2	Définition de l’AAIDD	13
1.2.3	Définition de l’APA	13
1.2.4	Classification et méthodes d’évaluation	14
1.3	<b>DI et santé publique</b>	<b>17</b>
1.3.1	Aspects épidémiologiques	17
1.3.2	DI et consanguinité	17
1.3.2.1	La consanguinité : Généralités	17
1.3.2.2	Impact	18
1.4	<b>DI et classification étiologique</b>	<b>18</b>
1.4.1	Définition	18
1.4.2	Étiologies acquises	19
1.4.3	Étiologies génétiques	19
1.4.4	Intérêt du diagnostic étiologique dans la DI	20
1.4.4.1	Bénéfices pour les patients, leurs parents et les familles	21
1.4.4.2	Bénéfices pour les praticiens	22
1.5	<b>Génétique de la DI</b>	<b>24</b>
1.5.1	Moyens technologiques	24
1.5.2	Apport de la cytogénétique	24
1.5.2.1	Caryotype conventionnel	24
1.5.2.2	Cytogénétique moléculaire ciblée sur lame et cytogénétique moléculaire ciblée quantitative	24
1.5.2.3	Analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)	25
1.5.3	Apport de la génétique moléculaire	27
1.5.3.1	Examens génétiques ciblés sur un seul gène	27
1.5.3.2	Étude du gène FRAXA (syndrome de l’X fragile)	27
1.5.3.3	Séquençage haut débit (NGS) et Identification de nouveaux gènes	28
1.5.3.4	NGS : utilisation en diagnostic	30
1.5.3.5	Interprétation des variants	30
1.5.4	Questions éthiques : le cas des données secondaires	31
1.6	<b>Recommandations dans l’exploration d’une DI</b>	<b>32</b>
1.6.1	Problématique	32
1.6.2	Historique des recommandations	32
1.6.3	Stratégie actuelle d’exploration génétique de la DI	33
1.7	<b>Objectifs de l’étude</b>	<b>34</b>
<b>2</b>	<b>PATIENTS ET METHODES</b>	<b>35</b>
2.1	<b>Aperçu global</b>	<b>35</b>
2.2	<b>Les patients</b>	<b>35</b>
2.2.1	Recrutement	35
2.2.2	Évaluation clinique	36
2.3	<b>Le séquençage d’exome en trio</b>	<b>36</b>
2.3.1	La technique	36
2.3.2	L’analyse bio-informatique	36
2.3.3	Interprétation des variants	37

<b>3</b>	<b>RESULTATS</b>	<b>39</b>
3.1	Aperçu global de la cohorte et données démographiques	39
3.2	Aspects moléculaires	40
3.3	Aspects cliniques	42
3.3.1	Facteurs cliniques influençant le taux diagnostique	42
3.3.2	Impact de la consanguinité sur le diagnostic moléculaire	43
<b>4</b>	<b>DISCUSSION</b>	<b>45</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES</b>	<b>48</b>



## Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des degrés de DI	16
Tableau 2 : Critères de gravité de la DI d'après le DSM-V	16
Tableau 3 : Classification des étiologies de la DI	19
Tableau 4: Critères de l'ACMG pour l'interprétation des variants génomiques (Richard et al., 2015)	38
Tableau 5 : Résumé des caractéristiques cliniques des patients et des variations du nombre de diagnostic	43
Tableau 6 : Influence de la consanguinité sur le type de variant	44

## Liste des figures

Figure 1 : Étiologie génétique et troubles neurodéveloppementaux (Jensen et al, Genome Medicine, 2017)	11
Figure 2: Répartition du QI théorique en population générale	15
Figure 3 : Étiologies génétiques et évolution technologique, “The Genetics of neurodevelopmental disorders”, Kevin J. Mitchell, 2015,	20
Figure 4 : Évolution des outils diagnostiques	24
Figure 5 : Évolution du nombre de gènes associés à la DI isolée (Vissers et al, 2016)	29
Figure 6 : Évolution du taux diagnostique de la DI (Vissers et al, 2016)	29
Figure 7 : arbre décisionnel de l’exploration étiologique de la DI (Recommandations du CRMR DI)	35
Figure 8 : Protocole d'analyse des données de séquençage haut débit (Broad Institute, GATK)	37
Figure 9 : Mode d'analyse	39
Figure 10 : Distribution des sexes	39
Figure 11 : Distribution des âges	40
Figure 12 : Taux diagnostique	41
Figure 13 : Diagramme du type de variant retrouvé	41
Figure 14 : Nombre d'occurrence pour les 50 gènes les plus fréquemment retrouvés	42

## Résumé en Français

**Introduction :** La déficience intellectuelle (DI) est une affection cliniquement et génétiquement hétérogène qui concerne 1 à 3 % de la population mondiale. Des études récentes estiment qu'une origine génétique pourrait être retrouvée chez 60% des patients atteints, sous forme d'une multitude de causes rares, dont certaines sont encore à identifier. Du fait de cette extrême hétérogénéité génétique, les stratégies diagnostiques sont complexes. Ces dernières années, les avancées technologiques apportées par le séquençage de nouvelle génération (NGS) ont radicalement modifié la prise en charge diagnostique de cette pathologie. Nous présentons ici les caractéristiques cliniques et génétiques d'une cohorte de 818 patients atteints de DI et ayant bénéficié d'un séquençage d'exome en trio.

**Patients et méthodes :** 818 patients ont été inclus à partir de 2016, issus des consultations de génétique médicale et/ou de neuro-pédiatrie du GH PSL et de l'hôpital Trousseau à Paris. La DI était évaluée sur la base d'un bilan neuropsychologique ou une échelle adaptative lorsque disponible. Dans le cas contraire, une évaluation sur des données de développement (scolarité, autonomie, etc.) a été réalisée. L'ensemble des patients a bénéficié, avant séquençage d'exome, d'une Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) ainsi que d'une recherche d'X-fragile. En cas de négativité, un séquençage d'exome en trio était effectué. Les résultats moléculaires ont été systématiquement discutés en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) avant rendu du résultat au patient.

**Résultats :** Le taux diagnostique global de l'étude a été de 41 % (338/818 patients). De plus, 41 variants ont été identifiés dans des gènes candidats de DI, contribuant à leur validation, ce qui a augmenté le taux diagnostique à 47% (379/818 patients). Les variants dans des gènes dominants sont majoritaires (81%) et le plus souvent de novo (95%). Pour les 338 patients, 220 gènes différents sont incriminés. Sur le plan clinique, la sévérité de la DI n'a pas d'impact significatif sur le taux diagnostique (léger ID, 66/180, 37% - modéré à sévère ID, 108/419, 44%, p-value = 0.1997), contrairement à d'autres études. D'autres paramètres, comme l'histoire familiale ou l'épilepsie n'ont pas été identifiés comme potentiels facteurs influençant l'efficacité diagnostique du WES (p-value = 0.132 and 0.516).

**Conclusion :** Cette étude confirme l'hétérogénéité génétique majeure de la DI et l'intérêt d'une approche par séquençage d'exome en trio pour la recherche étiologique, quelle que soit la gravité de la DI et les signes associés.

## Résumé en Anglais

**Introduction:** Intellectual disability (ID) is a clinically and genetically heterogeneous condition that affects 1 to 3% of the population worldwide. Recent improvements of next generation sequencing are giving rise to a drastic change in our medical approach. We present here the clinical and genetical characteristics of a large cohort of patients suffering from ID and which had a trio-based whole exome sequencing (WES).

**Patients and Methods:** 818 patients were recruited through clinical genetic and/or neuro-pediatric consultations. ID was assessed based on neuropsychological tests when available, adaptative scales based on autonomy and education was used otherwise. Prior to WES, DNA micro-array, Fragile-X syndrome testing and targeted-gene analysis in case of high syndromic suspicion were performed. If negative, trio-based WES was proposed. Molecular results were discussed in multidisciplinary team meetings before feed-back to patients.

**Results:** The global diagnostic yield was 41% across all patients (338/818 patients). 41 variants were found in candidate genes and contributed to their validation as “ID genes”, rising the potential diagnostic yield to 47% (379/818 patients). Dominant variants were pre-eminent (81%) and most of them were *de novo* (95%) affecting 224 unique genes. Interestingly, the severity of ID had no significant effect on the diagnostic rate (mild ID, 66/180, 37% - moderate to profound ID, 108/419, 44%, p-value = 0.1997). Epilepsy and family history of ID were not identified neither as cofounding factors (p-value = 0.132 and 0.516).

**Conclusion:** This study emphasizes the considerable genetic heterogeneity of ID and confirms the efficiency of trio-based WES for its exploration.

# 1 Introduction

## 1.1 Avant-propos : la déficience intellectuelle parmi les troubles du neurodéveloppement

La déficience intellectuelle fait partie d'un ensemble plus vaste d'affections regroupées sous le terme troubles du neurodéveloppement (TND) qui regroupe l'ensemble des anomalies de structure ou du fonctionnement cérébral survenant sur un cerveau en développement. Ces affections apparaissent, généralement, tôt dans l'enfance mais peuvent également se manifester plus tard, à l'âge adulte. Ces maladies sont individuellement rares mais elles constituent collectivement un véritable enjeu de santé publique, affectant 5 à 10 % de la population.

Les troubles du neurodéveloppement représentent une part essentielle des consultations de pédiatrie, de neuropédiatrie, de psychiatrie et de génétique clinique. Ils incluent des affections aussi diverses que les troubles de la communication, les troubles du spectre autistique, la schizophrénie, les troubles spécifiques des apprentissages, le trouble déficit de l'attention/hyperactivité, les troubles du mouvement, les troubles neurodéveloppementaux non-spécifiques et enfin les déficiences intellectuelles (DI).

Sur le plan étiologique et de façon prédominante, ces troubles ont une origine génétique, avec certains gènes ou CNV impliqués dans plusieurs de ces affections (figure 1).

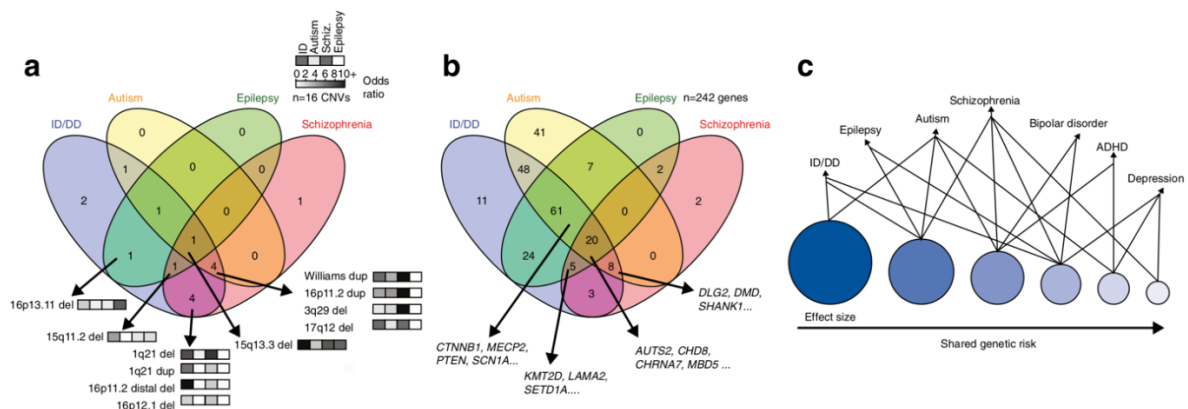


Figure 1 : Étiologie génétique et troubles neurodéveloppementaux (Jensen et al, *Genome Medicine*, 2017)

Sur le plan génétique Ces affections peuvent-être classifiés en trois groupes. Un premier inclue un grand nombre de syndromes rares associés à une origine génétique connue, comme par exemple le syndrome de l'X Fragile, la trisomie 21, le syndrome de Rett, le syndrome d'Angelman ; et bien d'autres. Chacun de ces syndromes est causé par une variation génétique (chromosome surnuméraire, CNV, anomalie de méthylation, variant ponctuel, variant instable ...) et n'affectent

qu'un seul gène. Ils sont caractérisés par une déficience intellectuelle souvent associée, à d'autres symptômes (épilepsie, troubles du spectre autistique, autres troubles neuropsychiatriques. Le deuxième groupe inclue les cas de TND non isolés pour lesquels une origine génétique unique est fortement suspectée. Enfin, le troisième groupe comprend les cas idiopathiques de troubles neurodéveloppementaux. Cependant, dans ce groupe, et malgré l'absence de cause précise identifiée, il existe des indications fortes orientant vers une origine génétique en lien avec une récurrence intrafamiliale relativement élevée et/ou un taux de concordance important entre jumeaux (plus importante chez les jumeaux monozygotes que dizygotes).

Ce dernier groupe comprend donc un ensemble de pathologies « communes » sans étiologie précise pour lequel l'enjeu médico-scientifique est de déterminer s'il est une simple « collection » de syndrome rares dont la composante génétique est à identifier ou s'il est associé à des paramètres génétiques répondant à une organisation différente (modèle polygénique, épigénétique). La théorie actuelle dominante associe généralement les pathologies idiopathiques, non syndromiques et communes (comme les troubles du spectre autistique, la schizophrénie ou même la DI) à une extrémité d'un spectre de variations possibles comprenant l'ensemble de la population. Ce modèle est basé sur la présence d'un grand nombre de variants ayant chacun un effet phénotypique faible mais qui parfois, peuvent combiner leurs effets provoquant une affection chez certains individus. Cette théorie, appliquée à la DI et aux maladies neurodéveloppementales, est sujette à discussion et fera l'objet d'un paragraphe à la fin de ce travail.

## 1.2 La DI : définitions

Le terme « déficience intellectuelle » fait référence à un déficit de l'intelligence ainsi qu'à un déficit du comportement adaptatif qui y est associé. Le terme « handicap intellectuel » est utilisé pour évoquer le retentissement social de la « déficience intellectuelle ». Le terme « retard mental » ne doit plus être utilisé dans le champ de la médecine, de l'éducation ou de la psychologie pour désigner ce type de troubles selon les recommandations de l'OMS. Dans la suite de ce travail, nous utiliserons l'acronyme DI pour désigner la déficience intellectuelle.

Les définitions de la déficience intellectuelle sont multiples et ont largement évolué au cours du temps. Actuellement, trois organisations reconnues sur le plan international proposent chacune une définition de la DI. Ce sont les définitions de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans sa classification internationale des maladies (CIM-11, 2018), l'American Association on Intellectual and Developmental Disabilities (AAIDD) dans la 11<sup>e</sup> édition de son manuel de définition (2010) et l'American Psychiatric Association (APA) avec le DSM-5 (2013).

### 1.2.1 Définition de l’OMS

Dans la Classification Internationale des Maladies (CIM-11) de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le terme « Troubles du développement intellectuel » est préféré pour désigner la DI. Elle est définie comme « un groupe de maladies d'étiologies diverses apparaissant au cours de la période développementale caractérisées par une capacité significativement réduite du fonctionnement intellectuel et du comportement adaptatif à deux ou plus déviation standard de la moyenne, sur la base de tests normés et standardisés. Lorsque ces tests ne sont pas disponibles, le diagnostic de « trouble du développement intellectuel » peut être effectué cliniquement à partir de l'évaluation d'indicateurs de comportements ».

Les caractéristiques de la DI selon la CIM-11 comprennent :

- Déficience des fonctions cognitives nécessaires au développement de la connaissance, au raisonnement et à l'utilisation de symboles, par rapport aux personnes du même âge ;
- Difficultés de communication verbale, de vitesse d'apprentissage, de mémoire ;
- Difficultés d'apprentissage ;
- Limitations dans les habiletés cognitives, sociales et pratiques ;
- Difficultés à gérer ses comportements ;
- Apparition de problèmes comportementaux et sociaux au cours de la vie.

Cette définition est celle qui est le plus utilisée en France et en Europe.

### 1.2.2 Définition de l'AAIDD

Selon l'AAIDD, la DI est définie par « une incapacité caractérisée par des limitations significatives du fonctionnement intellectuel et du comportement adaptatif, qui se manifeste dans les habiletés conceptuelles, sociales et pratiques. Cette incapacité survient avant l'âge de 18 ans. »

### 1.2.3 Définition de l'APA

La définition de l'American Psychiatric Association (APA), donnée dans le manuel DSM-5 est utilisée aux États-Unis et dans la littérature scientifique. La DI y est définie comme une faiblesse généralisée des capacités mentales avec un impact sur le fonctionnement adaptatif dans 3 domaines différents :

- Le domaine conceptuel qui inclut le langage, la lecture, l'écriture, les mathématiques, le raisonnement, les connaissances, la mémoire, le temps, l'espace, l'argent ;

- Le domaine social qui se réfère à l'empathie, la responsabilité sociale, le jugement social, les compétences de communication interpersonnelle, la méfiance/naïveté appropriée, la capacité à créer et maintenir des relations amicales, la capacité à résoudre les problèmes sociaux ;
- Le domaine pratique qui se focalise sur l'autonomie : hygiène, utilisation de moyens de transport, responsabilités professionnelles, gestion du budget, gestion de l'emploi du temps, organisation du travail, etc.

Il n'y a pas de notion d'âge limite dans la définition du DSM-5, mais les symptômes doivent survenir durant la période du développement.

En conclusion, les critères communs de ces définitions comprennent :

- Le déficit dans les fonctions intellectuelles (raisonnement, résolution de problème, planification ...) ;
- Une limitation significative du comportement adaptatif en général (difficultés dans les habiletés conceptuelles, sociales et pratiques) ;
- L'apparition de ces éléments survient au cours de la période développementale.

#### 1.2.4 Classification et méthodes d'évaluation

La classification de la DI est importante pour la prise en charge médico-sociale des patients. Cette classification fait souvent référence à la sévérité de la DI basée sur le niveau intellectuel mesuré par le Quotient Intellectuel (QI).

Les tests de QI portent généralement sur :

- Le raisonnement ;
- La résolution de problèmes ;
- La pensée abstraite ;
- La faculté de jugement ;
- L'apprentissage théorique (académique) ;
- L'apprentissage par l'expérience.

Les scores de QI sont empiriques et suivent une loi de distribution normale dans une population donnée, dont la moyenne est un score de 100 et la déviation standard (DS) est de 15. Cette loi peut être représentée par une courbe de Gauss (figure 2) :



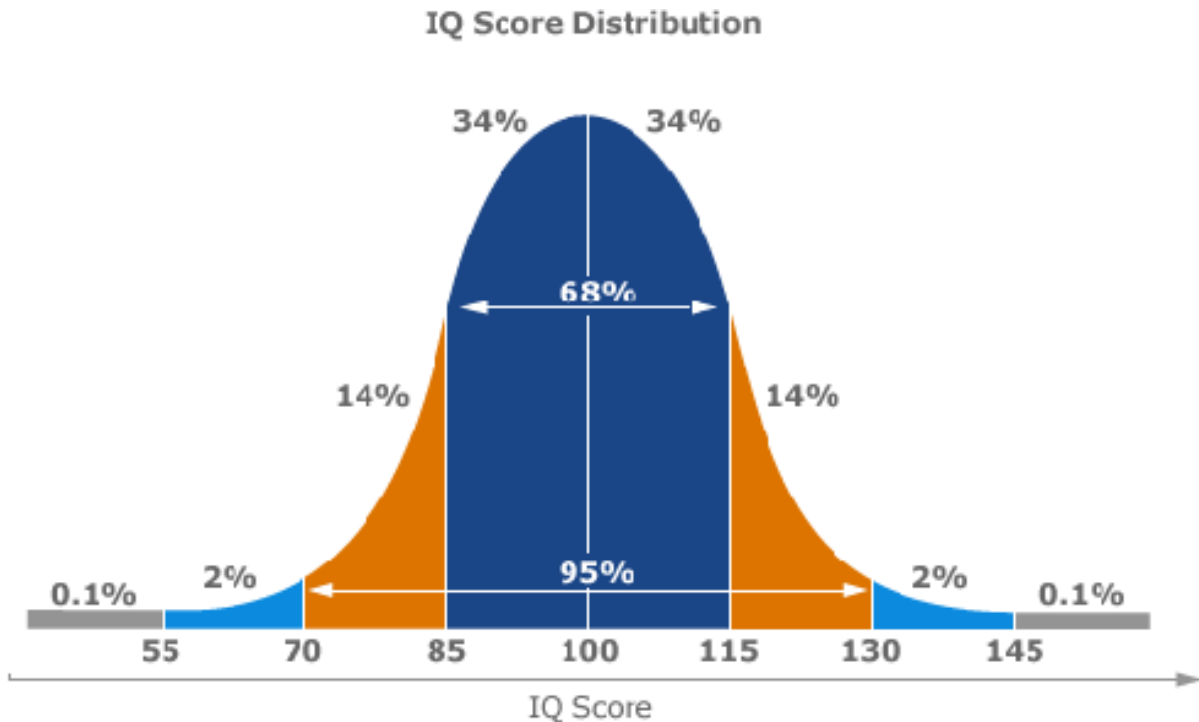


Figure 2: Répartition du QI théorique en population générale

Les tests de QI sont standardisés : l'objectif est de comparer des individus à d'autres individus d'une même population. Par conséquent, ils doivent être utilisés en fonction de l'âge et de la culture de la population dont fait partie l'individu testé. Dans une population donnée, 68,2% des individus ont un QI entre -1 DS et +1 DS, c'est-à-dire entre 85 et 115. Par ailleurs, 95,4% des individus ont un QI entre -2 DS et +2DS, c'est-à-dire entre 70 et 130. Classiquement, les 2,2% d'individus ayant un score de QI inférieur à 70 sont considérés comme ayant une DI, bien qu'officiellement, cette notion de seuil n'existe plus que dans la CIM-11, tandis qu'elle a disparu du DSM-5.

Les tests de QI comprennent 2 volets : l'un est verbal et l'autre porte sur les performances. Les résultats de l'une et l'autre partie peuvent diverger chez un même individu.

De nombreux tests de QI différents existent. Les plus utilisés sont :

- "Wechsler Adult Intelligence Scale" (WAIS) : à partir de 16 ans ;
- "Wechsler Intelligence Scale for Children" (WISC) : entre 6 et 16 ans ;
- "Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence" (WPPSI) : entre 3 et 7ans ;
- Échelle de Stanford-Binet : entre 2 et 23 ans. C'est le test le plus ancien mais il n'est plus celui dont on se sert le plus communément.
- Avant l'âge de 3 à 5 ans, on parle plutôt de quotient de développement (QD) que de QI. Et on dit "retard de développement" plutôt que DI quand le QD est diminué, car le retard de développement peut se normaliser avec l'âge et il n'évolue pas systématiquement vers

une DI. Le QD peut se mesurer par l'échelle de Brunet-Lézine révisée ou on peut aussi se servir de l'échelle de Bayley (BSID) : il est égal au rapport de l'âge mesuré par le test sur l'âge réel. Ces tests s'utilisent également chez des individus plus âgés en cas de DI très profonde.

Niveau de Gravité de la DI	DSM-IV, QI	CIM-11, QI (âge mental)	En général, écarts-types
Léger	50-55 à 70	50 à 69 (9-12 ans)	Entre -2 et -3
Moyen	35-40 à 50-55	35 à 49 (6-9 ans)	Entre -3 et -4
Grave	20-25 à 35-40	20 à 34 (3-6 ans)	Entre -4 et -5
Profond	Inférieur à 20-25	Inférieur à 20 (- 3 ans)	Inférieur à -5

Tableau 1 : Classification des degrés de DI

Actuellement, ces classifications basées sur tests psychométriques sont progressivement remplacées par des classifications se basant sur les besoins de soutien comme le définit le DSM-V (tableau 2).

Niveau de Gravité de la DI	Domaine conceptuel	Domaine social	Domaine pratique
Léger	La personne a une manière plus pragmatique de résoudre des problèmes et de trouver des solutions que ses pairs du même âge...	La personne a une compréhension limitée du risque dans les situations sociales ; a un jugement social immature pour son âge...	La personne occupe souvent un emploi exigeant moins d'habiletés conceptuelles...
Moyen	D'ordinaire, la personne a des compétences académiques de niveau primaire et une intervention est requise pour toute utilisation de ces compétences dans la vie professionnelle et personnelle...	Les amitiés avec les pairs tout-venant souffrent souvent des limitations vécues par la personne au chapitre des communications et des habiletés sociales...	Présence, chez une minorité importante, de comportements inadaptes à l'origine de problèmes de fonctionnement social...
Grave	La personne a généralement une compréhension limitée du langage écrit ou de concepts faisant appel aux nombres, quantités, au temps et à l'argent...	Le langage parlé est relativement limité sur le plan du vocabulaire et de la grammaire...	La personne a besoin d'aide pour toutes les activités de la vie quotidienne, y compris pour prendre ses repas, s'habiller, se laver et utiliser les toilettes...
Profond	La personne peut utiliser quelques objets dans un but précis (prendre soin de soi, se divertir) ... Des problèmes de contrôle de la motricité empêchent souvent un usage fonctionnel...	La personne peut comprendre des instructions et des gestes simples...	La personne dépend des autres pour tous les aspects de ses soins physiques quotidiens, pour sa santé et pour sa sécurité, quoiqu'elle puisse participer à certaines de ces activités...

Tableau 2 : Critères de gravité de la DI d'après le DSM-V

## 1.3 DI et santé publique

### 1.3.1 Aspects épidémiologiques

La prévalence réelle de la DI est difficile à mesurer car elle dépend beaucoup du contexte de l'étude et de la définition utilisée. Si on s'en tient à la définition théorique de l'OMS ( $QI < -2DS$ ), la DI devrait toucher 2,2% des naissances selon la distribution normale. Et en effet, dans la pratique, on constate une prévalence comparable à ce chiffre théorique.

La prévalence de la DI chez les enfants d'âge scolaire est estimée à 3% (1). Bien qu'ancienne, cette revue de la littérature est encore aujourd'hui considérée comme une référence. En regroupant toutes les études de prévalence conduite entre 1960 et 1995, elle montre que des variations importantes sont observables en fonction des cohortes analysées allant de 2/1 000 à 85/1 000, pour toutes les DI confondus, de 4/1 000 à 79/1 000 pour les DI légères et de 3/1 000 à 7/1 000 pour les DI sévères. Ces discordances ont été expliquées par le fait que différentes méthodes d'évaluation du QI ont été utilisées entre les différents centres participants. En ne sélectionnant que les études les plus fiables, l'étude estimait que la prévalence était probablement aux alentours de 3% pour l'ensemble des DI et de 3/1 000 pour les DI sévères, avec un excès d'individus masculins d'environ 20%.

Des études plus récentes (2, 3) confirme ces premiers résultats avec une prévalence estimée 1à 3% des individus à la naissance avec un excès de garçon (30 à 50%). Cet excès étant expliqué en partie par les causes génétiques liées à l'X.

### 1.3.2 DI et consanguinité

#### 1.3.2.1 *La consanguinité : Généralités*

La consanguinité traduit l'union entre deux individus apparentés. On estime qu'environ 10% de la population mondiale vit dans une union entre apparentés (4).

La préservation de l'héritage familial et des valeurs culturelles, la facilité dans les arrangements maritiaux et la réduction des couts de la dot sont autant de facteurs socioéconomiques prédisposant dans la consanguinité. Les unions entre individus apparentés sont particulièrement fréquentes au sein de certains groupes isolés caractérisés par un grand effet fondateur, et ce même dans les pays occidentaux. L'isolement de ces populations peut être d'origine géographique (Canadiens-Français du Lac Saint-Jean, Acadiens des Maritimes), religieuse (Mormons, Huttérites, Juifs Ashkénazes) ou culturelle (Gitans). Le taux de mariages entre apparentés est également élevé dans certains groupes d'immigrants, particulièrement lors de l'établissement de ces populations.

### 1.3.2.2 *Impact*

Dans une union entre individus apparentés, il y a concentration du matériel génétique. De fait, des cousins de première génération, partagent environ 1/8 de leur génome, de sorte que leurs enfants sont homozygotes pour 1/16 de leurs allèles (5). Les individus issus d'une union entre apparentés sont donc plus à risques de manifester des traits récessifs rares. La consanguinité est également un facteur prépondérant dans les troubles neuropsychologiques. L'incidence de la DI est élevée dans les mariages entre apparentés, particulièrement dans le cas des formes modérées et sévères de DI. Ces résultats sont confirmés par des études récentes (6). En effet, les individus issus d'unions consanguines héritent plus fréquemment d'haplotypes récessifs que dans la population générale ; ces blocs d'haplotypes sont également plus grands que ceux observés chez des individus non-apparentés (7).

Les familles consanguines sont caractérisées par une forte homogénéité génétique ; de fait, elles se prêtent mieux à l'étude de maladies génétiques impliquant des allèles récessifs. Typiquement dans les unions entre apparentés, il y a davantage de cas familiaux (à l'opposé de cas sporadiques) pour pouvoir mener des études classiques de liaisons ou d'association génétique.

## 1.4 DI et classification étiologique

### 1.4.1 Définition

Bien définir le terme « diagnostic étiologique » permet d'éviter des confusions de langage liées à des pathologies fréquemment associées à la DI (par exemple : DI et autisme, DI et épilepsie), ou à des malformations (par exemple une malformation cérébrale) pour lesquelles il est parfois difficile de distinguer si l'une est la cause de l'autre ou s'il s'agit d'une association possiblement syndromique. Schaefer et Bodensteiner (8) définissent ainsi le diagnostic « spécifique » comme « ce qui peut être traduit en information clinique utile pour la famille, comprenant des informations sur le pronostic, le risque de récurrence et les thérapeutiques disponibles les plus adaptées ». Plus récemment, les publications de Moeschler en 2006 et 2014 (9, 10) reprennent cette définition, et incluent l'étiologie génétique (variant ou anomalie génomique) comme un élément essentiel de la définition du diagnostic étiologique.

Les étiologies de la DI sont extrêmement hétérogènes et plusieurs méthodes sont utilisées pour sa classification. La classification de l'AAIDD (tableau 3) est probablement la classification la plus opérationnelle pour la pratique médicale et paramédicale dans laquelle sont distinguées les causes prénatales, périnatales et postnatales. Ces causes peuvent également être distinguées en causes innées et acquises, c'est cette classification qui sera développée.

Période	Biomédicale	Sociale	Comportementale	Éducationnel
Prénatale	Troubles chromosomiques Troubles génétiques Syndromes Troubles métaboliques Dysgénésie cérébrale Pathologies maternelles Âge parental	Pauvreté Malnutrition maternelle Violence familiale Manque d'accès aux soins prénatals	Abus de drogues par le parent Abus d'alcool par le parent Parent fumeur Immaturité parentale	Incapacité cognitive du parent et absence de soutien Manque de préparation à la parentalité
Périnatale	Prématurité Traumatisme à la naissance Troubles néonataux	Manque d'accès aux soins périnataux	Rejet par le parent de la responsabilité de dispenser des soins à l'enfant Abandon de l'enfant par le parent	Manque de référence médicale pour des services d'intervention
Postnatale	Blessure traumatique cérébrale Malnutrition Méningo-encéphalite Troubles convulsifs Troubles dégénératifs	Incompétence du tuteur de l'enfant Manque de stimulation Pauvreté familiale Maladie chronique dans la famille Institutionnalisation	Agression et négligence envers l'enfant Violence familiale Mesures de sécurité inadéquates Privation sociale Comportement difficile de l'enfant	Habilité parentale déficitaire Diagnostic tardif Services d'intervention précoce inadéquats Services spécialisés inadéquats Soutien familial inadéquat

Tableau 3 : Classification des étiologies de la DI

### 1.4.2 Étiologies acquises

L'exposition à des facteurs environnementaux durant les périodes prénatales, périnatales ou postnatales, peut affecter le développement du cerveau et résulter en une DI. Le syndrome d'alcoolisme fœtal est de loin la cause environnementale la plus fréquente (11, 12). D'autres causes telles que les infections périnatales, l'hypoxie du nouveau-né, les malformations cérébrales, les traumatismes et d'autres affections associées à la prématurité sont fréquemment associés à la DI. L'usage de drogues ou toxiques pendant la grossesse, ainsi que l'exposition à des agents tératogènes sont aussi mis en cause dans la DI (13). Par ailleurs, des facteurs sociodémographiques sous-jacents comme la malnutrition et la consanguinité sont également prépondérants dans la DI (14, 15). Ces facteurs non-génétiques contribuent à environ 20% de l'étiologie de la DI (13). À noter que ces estimations ne tiennent pas compte du fait que certaines causes non génétiques puissent être elles-mêmes secondaires à des lésions génétiques, comme des variants dans des gènes exprimés au cours de l'embryogenèse ou étant requis dans le développement du cerveau du nouveau-né.

### 1.4.3 Étiologies génétiques

Des facteurs génétiques sont mis en cause dans environ 60% des DI. La DI est génétiquement hétérogène ; on dénombre actuellement plus de 1000 gènes connus de DI (1055 selon PanelApp, Genomics England), et il pourrait y en avoir 1500 à 2000 (16). Grâce aux nouvelles technologies l'origine de la DI ne peut actuellement être déterminée que chez 40-50% des patients, particulièrement dans les cas de DI non spécifique, versus 20% précédemment. Ce manuscrit est consacré à ces étiologies génétiques. De façon synthétique, la figure 3 représente l'évolution de la

fraction des causes génétiques connues en fonction du temps. À l'heure actuelle, les causes chromosomiques représentent 5 à 10% des diagnostics, les remaniements génomiques environ 10% et les formes monogéniques 10 à 25%. Cette dernière fraction tend à augmenter ces dernières années.

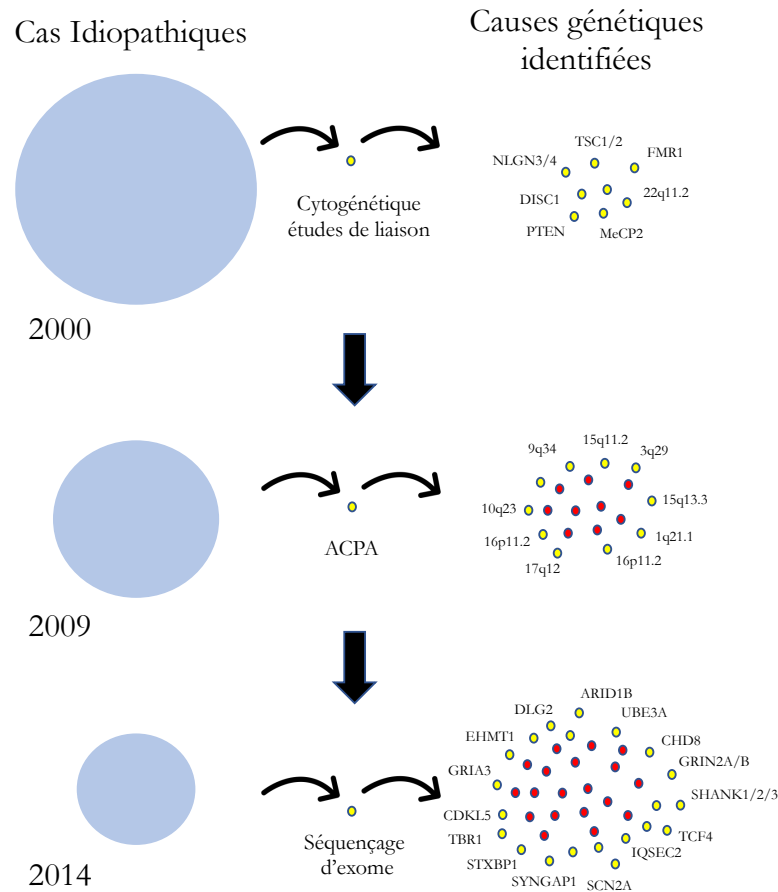


Figure 3 : Étiologies génétiques et évolution technologique, "The Genetics of neurodevelopmental disorders", Kevin J. Mitchell, 2015,

#### 1.4.4 Intérêt du diagnostic étiologique dans la DI

Dans la littérature, il n'y a pas d'études systématiques permettant d'estimer le bénéfice d'une évaluation en génétique médicale pour le patient, ses parents ou sa famille. Une étude récente (17) portant sur 20 familles avec et sans diagnostic étiologique vise à mettre en évidence les attentes des familles d'un diagnostic étiologique. Celles-ci sont les suivantes :

- Validation de la réalité de la maladie, donnant ainsi une crédibilité aux difficultés rencontrées ;
- Information sur celle-ci, favorisant sa prise en charge, et également l'espoir d'une guérison future ;

- Possibilité d'obtenir des aides, en particulier pour la scolarité ; soutien sur le plan émotionnel par la rencontre ou la connaissance d'autres familles concernées par la même anomalie.

De manière intéressante, cette étude souligne deux postures très variables d'une famille à l'autre : le « besoin de savoir » et l'attitude par rapport au diagnostic prénatal. Elle illustre également les ambiguïtés de la définition ou de l'intérêt du diagnostic étiologique. Par exemple, pour certaines familles, le diagnostic d'autisme (qui n'est pas un diagnostic étiologique) est suffisant et même plus informatif que celui d'une anomalie génétique rare. Mais toutes les familles disent qu'elles auraient souhaité un diagnostic étiologique, si celui-ci était possible, au début des symptômes.

Malgré en l'absence d'études systématiques permettant d'en évaluer le bénéfice, la littérature sur le sujet s'accorde à recommander une évaluation dans le but d'établir l'étiologie de la DI pour tous les enfants avec DI, et plusieurs auteurs (13) énumèrent les « bénéfices potentiels » pour les patients, leurs parents et même pour les praticiens.

#### *1.4.4.1 Bénéfices pour les patients, leurs parents et les familles*

Le diagnostic étiologique peut permettre les bénéfices suivants :

- Répondre à la question du « pourquoi », et nommer la maladie, ce qui peut donner le sentiment d'avoir plus de prise sur elle. Les parents d'enfants avec DI font souvent l'expérience d'un sentiment de perte de contrôle et le diagnostic étiologique peut contribuer à donner le sentiment de reprendre le contrôle de la situation. Il peut parfois déculpabiliser les parents, car la cause est « extérieure » (cause génétique), même si ce point est ambigu pour les DI liées au chromosome X lorsque les mères sont conductrices, ou lorsqu'il s'agit d'une intoxication maternelle (syndrome d'alcoolisme fœtal...) ;
- Préciser le pronostic et la trajectoire développementale, en particulier pour le jeune enfant. Il est cependant important de souligner qu'il peut exister une grande variabilité de celle-ci pour un même diagnostic étiologique ;
- Mettre en place un suivi médical approprié, avec une surveillance adaptée et un dépistage systématique des complications associées connues. Même si la question d'un traitement curatif n'est pas aujourd'hui au premier plan dans la DI d'origine génétique (à quelques exceptions près comme la phénylcétonurie, l'hypothyroïdie congénitale...), cela ne signifie surtout pas qu'il n'y a rien à faire. Les exemples ci-dessous plaident également en faveur d'un diagnostic précoce :

- Par ailleurs, certains syndromes nécessitent une prise en charge médicale particulière (syndrome de Williams, micro-délétion 22q11...), et certaines prises en charge médico-sociales précoces ont considérablement amélioré le pronostic de certains syndromes, avant l'apparition de symptômes délétères (obésité morbide dans le syndrome de Prader-Willi...);
- Accéder aux protocoles thérapeutiques ; adapter la prise en charge socio-éducative : envisager des aides et interventions appropriées, un planning éducatif, une guidance prédictive... ;
- Aider au support familial : associations de patients et suivi social, lien entre les familles avec le même diagnostic... ;
- Éviter de nouveaux examens inutiles et potentiellement invasifs ;
- Préciser le conseil génétique et évaluer le risque de récurrence pour les parents : celui-ci n'est possible de façon fiable qu'en cas de certitude du diagnostic étiologique. Mettre en évidence qu'une anomalie génétique est accidentelle permet habituellement de rassurer (même si on ne peut jamais exclure formellement un risque de mosaïque germinale, c'est-à-dire la possibilité que l'anomalie génétique soit présente dans les cellules germinales d'un des 2 parents). À l'inverse, montrer qu'il s'agit d'une anomalie transmise (par exemple liée au chromosome X) peut permettre au couple de prendre des décisions en ce qui concerne leurs choix procréatifs, en particulier celle de recourir ou non à un diagnostic prénatal (et le cas échéant à une interruption médicale de grossesse), ou alors à un diagnostic préimplantatoire, ou à d'autres alternatives ;
- Préciser le conseil génétique dans la famille élargie, en identifiant les personnes à risque de transmettre la maladie, pouvoir proposer un dépistage des transmetteurs en particulier dans la DILX (DI liée au chromosome X), puis potentiellement un conseil prénatal, et/ou un diagnostic pré-natal (ou préimplantatoire) aux couples à risque.

Enfin, à plus long terme, on peut espérer que l'accumulation des connaissances dans la physiopathologie de la DI, permettra d'identifier les voies de signalisation cellulaires altérées et d'envisager potentiellement des cibles thérapeutiques.

#### *1.4.4.2 Bénéfices pour les praticiens*

L'intérêt du diagnostic étiologique est moins bien établi pour les praticiens, si ce n'est l'acquisition progressive d'une certaine expérience sur des pathologies rares : connaissance d'autres patients avec des pathologies identiques,



de leur devenir, des prises en charge possibles, des avancées de la recherche et des programmes de recherche en cours (études fondamentales et protocoles thérapeutiques). Par ailleurs, disposer pour le praticien d'éléments qu'il peut partager avec les parents, permet une collaboration indispensable pour avancer dans la description des symptômes et de l'histoire naturelle de ces affections mal connues à l'âge adulte. C'est bien avec ces objectifs que les Plans Maladies Rares mis en place en France depuis 2005, en lien avec les associations de patients, ont permis la labellisation de Centres de Référence Maladies Rares, dont deux dédiés aux DI de causes rares (Lyon et Paris), puis la labellisation de filières de Santé Maladies Rares, dont la filière « DéfiScience », dédiée à la DI et aux troubles associés (en particulier les troubles moteurs dont le polyhandicap, et les troubles psychiatriques).

## 1.5 Génétique de la DI

### 1.5.1 Moyens technologiques

Depuis l'apparition du caryotype conventionnel en pratique médicale au début des années 1950, de nombreuses techniques cytogénétiques et moléculaires se sont succédées et/ou ont cohabité. La figure 4 montre les différents examens génétiques disponibles et leurs résolutions respectives.

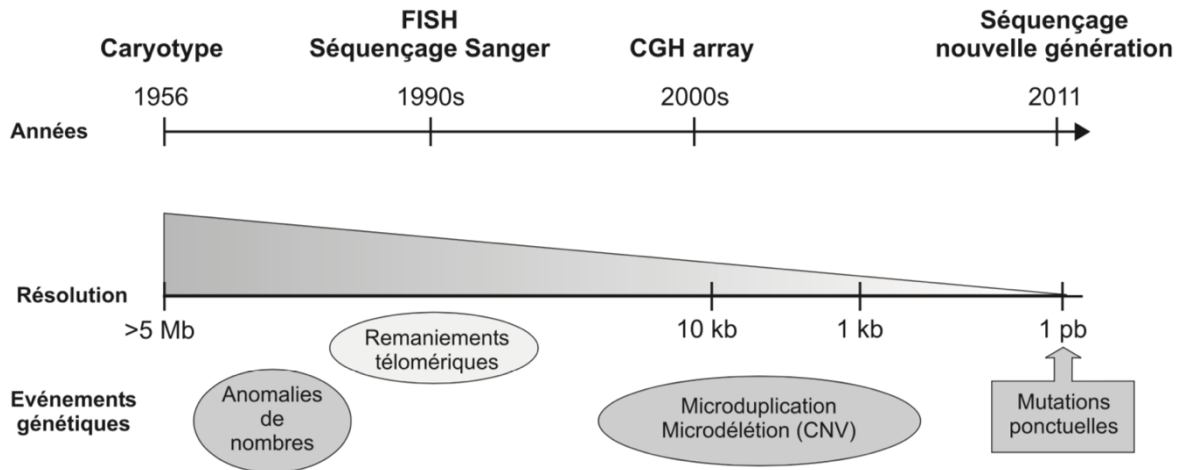


Figure 4 : Évolution des outils diagnostiques

### 1.5.2 Apport de la cytogénétique

#### 1.5.2.1 Caryotype conventionnel

L'analyse des chromosomes par caryotype standard est un examen pangénomique de faible sensibilité. Il permet de mettre en évidence des anomalies de nombre (trisomie 21, 13 ou 18 en particulier) et des anomalies de structure (translocations diverses), correspondant à des syndromes connus ou non. Son rendement diagnostique dans la DI (avec ou sans malformations associées) est autour de 9,5 % (de 5,4 % en milieu scolaire à 13,3 % en milieu institutionnel) et augmente avec la gravité de la DI (18). Cet examen est abandonné en première intention dans la majorité des centres, excepté en présence d'indications ciblées cliniquement identifiables (suspicion clinique de trisomie, ou de maladies associées à des cassures chromosomiques) et dans le cadre d'une enquête familiale (recherche de translocation). Cet examen a été remplacé par l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), dont la rentabilité diagnostique est très supérieure (cf. infra).

#### 1.5.2.2 Cytogénétique moléculaire ciblée sur lame et cytogénétique moléculaire ciblée quantitative

Les techniques de cytogénétique moléculaire ciblée sur lame ou FISH (Fluorescent In Situ Hybridization), apparues à la fin des années 1980, permettent d'identifier des remaniements génomiques de petite taille avec une résolution 20 à 40 fois supérieure à celle du caryotype standard.

La technique de FISH ne permet pas une analyse pangénomique, mais cible des loci spécifiques de certains syndromes (Williams, Di-George, Smith-Magenis...), ou plus largement de certains phénotypes particuliers, comme l'autisme pour lequel ont été décrites certaines microdélétions ou (plus rarement) microduplications (délétions 22q13 et 16p11.2, duplication 15q11...) récurrentes. La fréquence de ces remaniements interstitiels est de l'ordre de 2 à 3 %. Cette technique permet également d'étudier l'ensemble des régions subtélomériques qui sont le siège de nombreux remaniements. Des anomalies subtélomériques sont ainsi détectées chez 2,5 % à 5 % des patients avec DI présentant un caryotype normal (19). Le pourcentage d'anomalies détectées serait variable selon la sévérité de la déficience intellectuelle : 1 % dans les DI légères, de l'ordre de 6 % dans les DI modérées à sévères, mais cette corrélation a été ensuite controversée.

Jusqu'en 2007, un caryotype standard et l'étude des régions subtélomériques étaient le « gold standard » des examens génétiques dans la DI. Mais l'ACPA et les techniques de génétique moléculaire quantitatives ont actuellement largement remplacé la technique de FISH pour la recherche de remaniements déséquilibrés (20) même si seules les techniques de cytogénétique conventionnelle et de FISH permettent d'identifier un remaniement équilibré (translocation, inversion), ou de localiser la position d'un segment dupliqué.

Les indications de l'examen en FISH et/ou MLPA sont donc limitées à la confirmation d'une suspicion syndromique clinique (syndromes microdélétionnels cliniquement identifiables comme les syndromes de Williams, DiGeorge, Smith-Magenis...) ou des anomalies mises en évidence en ACPA.

#### 1.5.2.3 *Analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA)*

Les techniques d'hybridation de masse sur un support solide (« puce à ADN ») apparues au début des années 2000, ont connu rapidement un développement extraordinaire permettant la détection de remaniements génomiques et chromosomiques de façon pangénomique, avec une résolution de très loin supérieure à celle du caryotype et de la technique de FISH. On dénombre deux principales techniques : l'hybridation génomique comparative (CGH : Comparative Genomic Hybridization) et le SNP-array. La CGH-array repose sur un principe simple : l'ADN d'un patient et celui d'un témoin, découpés en petits fragments puis marqués par deux fluorochromes distincts sont hybridés avec des fragments d'ADN normal, jouant le rôle de sonde, déposés en rangées sur un support solide. La mesure, à l'aide d'un scanner, du rapport des intensités de coloration fluorescente après hybridation permet de détecter délétions et duplications dans le génome du patient. La puissance de la technique vient de sa capacité à analyser un très grand nombre de loci en une seule manipulation (21). Bien que très différentes dans leur conception, les SNP-arrays utilisent le même principe général d'hybridation massive en parallèle de

fragments d'ADN humain sur des sondes oligonucléotidiques déposées en réseau sur un substrat (22) représentent la plus importante source de variabilité dans le génome : 1 nucléotide sur 60 est l'objet d'un polymorphisme. La particularité des SNP-arrays est que chaque sonde est localisée au niveau d'un SNP. Elles étudient donc, non seulement le nombre de copies génomiques de l'ADN testé comme la CGH-array, mais également le génotype de chaque SNP étudié par la puce. Les puces utilisées couramment, hybridées avec l'ADN fragmenté d'un patient, permettent de génotyper en parallèle de 10 000 à 5 000 000 SNP. Outre le génotypage (dont les données peuvent être exploitées pour des études de liaison génétique), les SNP-arrays permettent d'identifier des disomies uniparentales.

Les résultats d'ACPA sont généralement classés en 3 catégories :

- Anomalie pathogène (large remaniement, syndrome connu et résultat en rapport, caractère de novo) ;
- Variant considéré comme plutôt bénin (simple polymorphisme) ;
- Variant de signification inconnue (VOUS).

Par principe, toute anomalie détectée sur une puce doit être confirmée par une seconde méthode (FISH, PCR quantitative...). En présence d'un CNV non répertorié, la comparaison des données obtenues chez l'enfant avec celles des parents est nécessaire. La base de données Decipher (23) compile les données sur les microremaniements pathogènes.

La puissance d'analyse apportée par ces puces est importante (24). Selon une méta-analyse incluant 19 études et concernant 13 926 sujets atteints de DI avec malformations congénitales (25), des remaniements génomiques expliquant la pathologie ont été retrouvés chez 6 à 35 % des patients (qui avaient tous un caryotype normal), avec une moyenne de 10 %. Dans la déficience intellectuelle isolée, une revue de 29 études montre un taux d'anomalies pathogènes de 19 % (26). Des recommandations pour la réalisation de cet examen en première intention dans les indications de DD/DI isolés, de malformations congénitales et de troubles du spectre autistique sont émises en 2010 (20), puisque cet examen est le test diagnostique le plus rentable. Et même si l'abandon du caryotype en première intention rend indétectable les translocations apparemment équilibrées qui, au sens strict, ne devraient pas s'associer à une perte de matériel chromosomique, il a été montré que près de la moitié des translocations de ce type comportent un réarrangement infra microscopique permettant leur détection par les puces.

Sur le plan éthique, outre l'interprétation des variants de signification inconnue, une des questions que pose cette technique pangénomique, est la découverte fortuite de résultats non

sollicités, c'est-à-dire des anomalies sans rapport avec l'indication initiale, comme, par exemple, des anomalies dans un gène de prédisposition au cancer ou à une cardiopathie grave (avec par exemple un risque de mort subite) chez un patient avec DI, voire ensuite chez un de ses parents et par extension chez d'autres membres de sa famille. De ce fait, la prescription de ces examens nécessite une collaboration étroite entre le prescripteur (a fortiori s'il n'est pas généticien), le généticien clinicien et le laboratoire, pour l'interprétation des résultats et le rendu aux familles, particulièrement lorsqu'un variant de signification inconnu est identifié, et plus encore en cas de résultat non sollicité.

### 1.5.3 Apport de la génétique moléculaire

#### 1.5.3.1 Examens génétiques ciblés sur un seul gène

Ils sont utiles pour affirmer ou infirmer un diagnostic cliniquement suspecté. Ils sont également utiles dans le cadre d'un diagnostic syndromique cliniquement certain, en particulier pour le conseil génétique. Néanmoins, l'étude ciblée d'un seul gène (selon la méthode de Sanger) est actuellement discutée en raison du rapport coût/efficacité. En effet, il importe d'évaluer la probabilité de trouver ou non un variant dans le gène considéré (conviction clinique), à mettre en perspective avec l'étude de panels de gènes.

#### 1.5.3.2 Étude du gène FRAXA (syndrome de l'X fragile)

Le syndrome de l'X fragile est la cause la plus fréquente des DI héréditaires, affectant environ 1/5 000 garçons et 1/8 000 filles. Il est lié à l'expansion anormale de triplets CGG (> 200, appelé « mutation complète ») au locus FRAXA dans le gène FMR1, sur le chromosome X. FMR1 est le gène responsable de DI le plus connu et le plus fréquent (bien que la prévalence de l'ensemble des autres gènes du chromosome X impliqués dans la DI soit supérieure au syndrome de l'X fragile seul). Dans la population des personnes avec DI, le syndrome de l'X fragile (par mutation complète du gène FRAXA) est observé chez 1 à 2 % des garçons et moins de 1 % des filles. En présence d'une histoire familiale ou d'un profil comportemental évocateurs, la probabilité de l'identifier est supérieure (jusqu'à environ 8 %) (27). En raison de cette fréquence, de la difficulté du diagnostic clinique (souvent très peu spécifique chez le jeune garçon, et encore plus chez la fille), mais surtout des conséquences en termes de conseil génétique et d'information familiale (tout patient muté a obligatoirement une mère conductrice), un test moléculaire pour la recherche d'une mutation complète doit être réalisé chez tous les patients (garçons et filles) ayant une déficience intellectuelle de cause inconnue, avec ou sans histoire familiale. La présence d'une microcéphalie ou d'un contexte polymalformatif rend néanmoins ce diagnostic peu probable.

### 1.5.3.3 Séquençage haut débit (NGS) et Identification de nouveaux gènes

Jusqu'à l'avènement des nouvelles techniques de séquençage haut débit, la majorité des gènes connus responsables de DI non syndromique était localisée sur le chromosome X (du fait de la possibilité de les identifier par des études de liaison sur de larges familles de DI liées à l'X ou DILX). Depuis l'apparition des nouvelles techniques de séquençage (Next Generation Sequencing, NGS), notamment le séquençage d'exome (WES), de très nombreux nouveaux gènes responsables de DI, avec ou sans autisme (28) ont été identifiés, non seulement sur l'X, mais également sur les autosomes (jusqu'alors très peu nombreux). En particulier, il a été mis en évidence une forte fréquence de gènes dominants, par néo-variations.

Les stratégies d'étude pour identifier de nouveaux gènes varient selon le mode de transmission envisagé :

- Recherche de gènes récessifs dans des familles consanguines (29) ;
- Recherche de gènes sur le chromosome X dans des familles pour lesquelles une liaison au chromosome X est suspectée, ainsi que chez celles incluses dans le cadre du consortium européen pour lesquelles aucun diagnostic n'avait été identifié jusqu'alors (30) ;
- Enfin, les études ont été nombreuses dans la DI sporadique suite à la publication princeps d'exome en trio (31), c'est-à-dire une approche qui repose sur le séquençage d'exome du trio (enfant DD/DI et ses 2 parents) pour tester l'hypothèse d'un variant responsable de la pathologie. Cette approche a montré que les variants de novo peuvent compenser la perte d'allèles due à la réduction importante de fécondité dans les maladies neurodéveloppementales ou neuropsychiatriques, expliquant ainsi un paradoxe majeur dans la théorie de l'évolution génétique. Cette première étude (31) a été réalisée en trio à partir de 10 individus avec déficience intellectuelle inexplicée. Depuis cette étude princeps, des projets d'envergure ont été menés afin d'évaluer l'intérêt du séquençage d'exome dans un cadre diagnostique. En particulier, le projet « Deciphering Developmental Disorders » (DDD) a montré sa pertinence à la fois médicale et scientifique (32, 33).

De nombreuses études ont fait le point sur le nombre de gènes connus dans la DI comme celle de Vissers en 2016 (34). La figure 5 montre cette évolution avec la ligne verticale rouge montrant l'introduction de l'ACPA et en orange l'introduction du NGS. À l'heure actuelle, ce sont plus de 1000 gènes qui sont associés à la DI (panelApp, Genomics England). L'identification de ces nouveaux gènes de DI est associée à une augmentation du taux diagnostique de la DI (figure 6, DI modérée à sévère) avec les outils NGS. Cette figure montre ainsi un taux diagnostique de 3 à 6% grâce au caryotype, puis de 6 à 10% avec le séquençage Sanger et la FISH. L'ACPA a augmenté

significativement ce taux à partir des années 2000 (15-23%). Le séquençage d'exome, à partir des années 2010 a ajouté 24 à 33% de diagnostics supplémentaires. Enfin dans des études impliquant le séquençage de génome entier (35), ce taux est augmenté de plus 25%. Au total, le taux diagnostic cumulé de ces différentes techniques pourrait atteindre 55 à 70%.

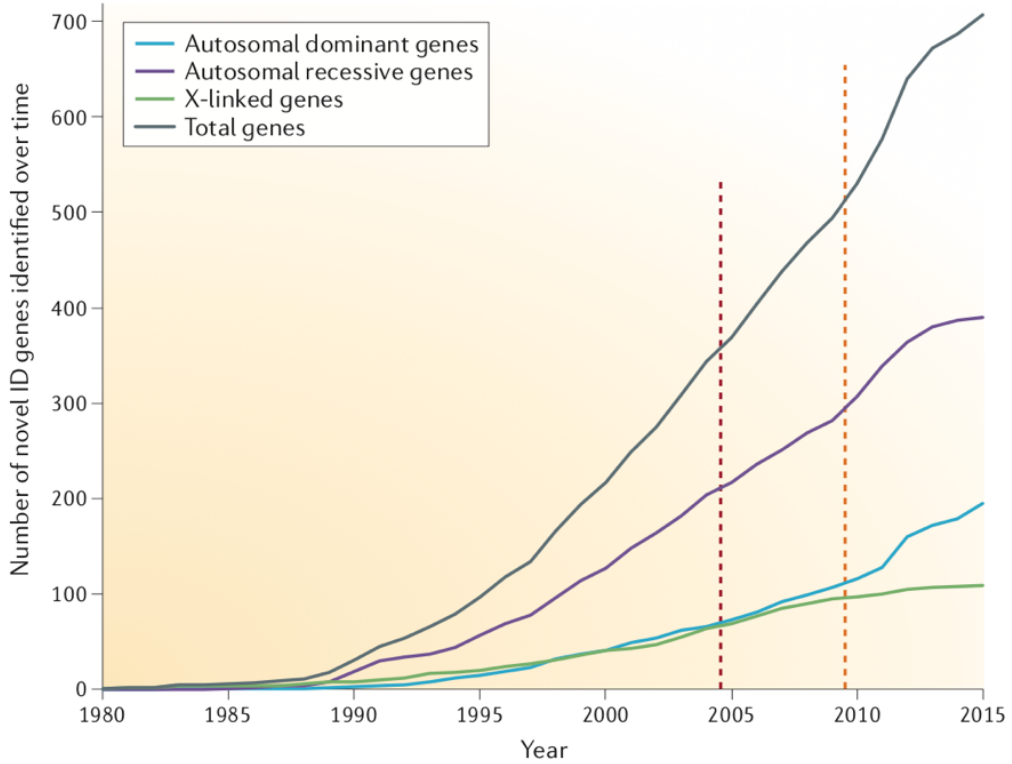


Figure 5 : Évolution du nombre de gènes associés à la DI isolée (Vissers et al, 2016)

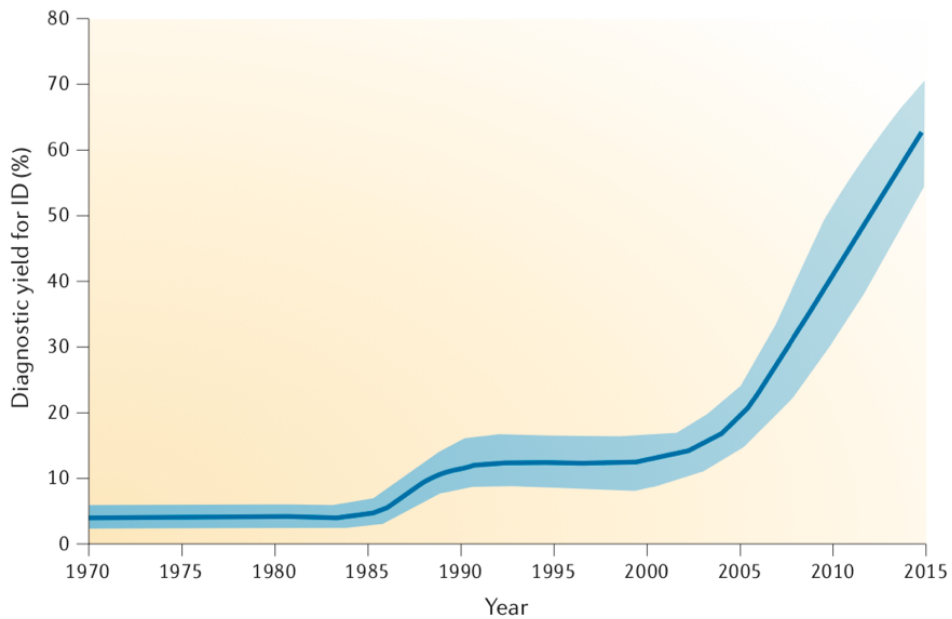


Figure 6 : Évolution du taux diagnostique de la DI (Vissers et al, 2016)

#### 1.5.3.4 NGS : utilisation en diagnostic

Ces techniques de séquençage haut débit, initialement utilisées dans un cadre de recherche, ont été mises en place dans plusieurs pays pour le diagnostic de DD/DI. Deux (voire trois) approches principales peuvent être envisagées :

- Soit par des panels de gènes connus de DI, fabriqués « sur mesure » ;
- Soit par la technique de séquençage d'exome entier (WES) ;
- Une troisième approche dite « exome clinique » repose sur un kit commercialisé comprenant plus de 4 000 gènes.

Le séquençage de génome entier (WGS) est encore réservé à la recherche, même si les publications pour le diagnostic de la DI se multiplient. Des discussions méthodologiques ont également porté sur l'usage de ces examens (WES, WGS) en solo ou en trio. Des études récentes montrent que l'approche en trio est plus efficace car elle simplifie l'interprétation des variants en identifiant ceux survenus de novo (36).

#### 1.5.3.5 Interprétation des variants

Quelle que soit l'approche utilisée, l'interprétation des données pose des difficultés, y compris celle à partir d'un panel de gènes connus : d'une part, l'étude d'un très grand nombre de gènes rend probable la découverte de plusieurs SNV (*Single Nucleotide Variant*) d'intérêt chez un individu donné, dont il faudra déterminer lequel est causal (dans l'hypothèse monogénique) ; d'autre part, la situation où un variant a priori pathogène dans un gène connu est identifié, alors que le phénotype n'était pas évocateur ou atypique n'est pas rare, ce qui signifie que :

- Certains patients ne présentent pas le phénotype habituellement associé au gène en question ;
- Le phénotype n'a pas toujours été reconnu par le clinicien (même si tous les patients ont été sélectionnés après examen clinique soigneux par un médecin expert) ;
- Certains gènes dits « syndromiques » sont associés à des formes non spécifiques de DI, donc non identifiables cliniquement.

Ce qui amène à évoquer la notion de « phénotype reverse » (déjà un peu expérimentée par la CGH-*array*) avec une approche allant non seulement du clinicien au laboratoire, mais également en retour du laboratoire au clinicien (« du génotype au phénotype »), pour l'interprétation et la validation des données. Ceci ne remet pas l'expertise clinique en question, mais au contraire la renforce, car l'avis du clinicien expert sur le phénotype clinique du patient est essentiel pour l'interprétation des données générées par le NGS. Les interactions entre biologistes et cliniciens doivent donc être très étroites. En effet, la première étape sera toujours de confronter le ou les variant(s) identifié(s) au phénotype du patient pour valider les données du NGS. Si un variant



présupposé pathogène et le phénotype sont congruents, la situation est relativement simple. Dans d'autres cas, par contre, la situation peut être beaucoup plus complexe :

- Variant de signification incertaine (« VOUS ») dans un gène de DI syndromique : la cohérence moléculaire/clinique, éventuellement épaulée par l'approfondissement de la clinique en utilisant des outils communs (biologiques, radiologiques), peut se révéler cruciale pour confirmer le diagnostic moléculaire ;
- « VOUS » dans un gène de DI non spécifique : l'indétermination persistera pour autant que d'autres éléments ne permettent pas de trancher (étude de ségrégation familiale, données fonctionnelles...) et tant que le « VOUS » restera un cas unique ;
- Variant possiblement pathogène dans un contexte clinique ne correspondant pas au phénotype connu : s'agit-il d'une variation du phénotype (« nouveau phénotype ») ou d'un polymorphisme bénin ?
- Plusieurs variants possiblement pathogènes découverts chez un même individu ayant une DI : effet synergique ? Comment établir un conseil génétique dans ce cas ?

#### 1.5.4 Questions éthiques : le cas des données secondaires

La question des données secondaires, plus présente dans les études de NGS que pour l'ACPA, peut se décliner en deux composantes :

- Les données secondaires à proprement parler, ce sont des altérations observées sur des gènes sans rapport avec la pathologie pour laquelle l'étude moléculaire est demandée, qui sont connues et peuvent être recherchées par le médecin biologiste. Les pathologies associées à ces altérations peuvent faire l'objet d'un conseil prénatal ou de la mise en place d'une prise en charge spécifique ;
- Les données incidentales (incidental findings) qui correspondent à des variants pathogènes dans des gènes d'intérêt, mais sans rapport avec l'indication initiale, retrouvées via des recherches selon les recommandations de l'ACMG (*American College of Medical Genetics*).

Ces types de données secondaires doivent être expliquées et anticipées avec le patient lors de la prescription de l'examen génétique.

Les données secondaires peuvent être recherchées spécifiquement si le patient en a le souhait. Alors que les données incidentales surviennent, par définition, sans sollicitations. Une étude est actuellement en cours sur ce sujet en France (projet FIND).

## 1.6 Recommandations dans l'exploration d'une DI

### 1.6.1 Problématique

Les causes génétiques de DI sont actuellement considérées comme les plus fréquentes, mais sont souvent seulement suspectées. Selon les séries, le pourcentage de diagnostic étiologique d'enfants avec DD/DI varie de 40 et 60 % (37). Cette large variation résulte de plusieurs facteurs qui diffèrent selon les études, tels que les caractéristiques des populations étudiées, la sévérité de la DI, le type d'investigations réalisées et la prise en compte des avancées technologiques au moment où elles sont réalisées... Globalement, la moitié des patients n'ont pas de diagnostic étiologique, en particulier lorsque la DI est légère et sans signes associés. En effet, faire le diagnostic étiologique génétique d'une DD/DI est éminemment complexe du fait du très grand nombre de gènes impliqués, et du caractère non spécifique de la majorité d'entre eux. Jusqu'à une époque récente, la démarche étiologique était d'abord pangénomique (par un caryotype puis récemment l'ACPA), et/ou ciblée gène par gène (par argument de fréquence comme X fragile, ou sur une suspicion clinique). L'arrivée du séquençage haut débit en diagnostic a permis de modifier complètement l'approche diagnostique.

### 1.6.2 Historique des recommandations

Il existe peu de recommandations concernant la conduite du bilan paraclinique devant une DI dans la littérature jusqu'au début des années 2000. Plusieurs types d'explorations sont disponibles (bilan métabolique, bilan endocrinien, imagerie cérébrale...) dont l'efficacité diagnostique est débattue.

Le premier arbre décisionnel pour l'exploration de la DI issu d'une revue de la littérature est fourni par van Karnebeek en 2005 (38). Ainsi, il est recommandé devant chaque enfant présentant une DI d'effectuer :

- Un arbre généalogique, une histoire clinique détaillée, un examen physique en insistant sur l'examen neurologique et morphologique. C'est la première étape essentielle.
- Des examens cytogénétiques standards (caryotype), quelque soit la gravité de la DI ou les signes associés.
- Une analyse des réarrangements subtélomériques par FISH.
- D'autres points sont discutés en fonction du sexe du patient (X fragile), d'éléments permettant d'orienter le diagnostic vers une cause précise (analyse ciblée, bilan métabolique). Les examens neuroradiologiques ont la particularité de mettre en évidence un grand nombre d'anomalies cérébrales qui n'orientent que faiblement vers le diagnostic

étiologique (39). Cette étude se conclue par deux remarques, 1) si des recommandations précises devaient être élaborées, elles devraient probablement être modulées par la sévérité de la DI 2) les examens diagnostics envisagés doivent être mis en regard des bénéfices attendus pour le patient et du niveau de leur désavantages (stress, inconfort, coût ...).

### 1.6.3 Stratégie actuelle d'exploration génétique de la DI

A l'heure actuelle, la prise en charge diagnostique a été modifiée par l'accessibilité de plus en plus importante des examens de type NGS (panel de gènes, « exome clinique », WES et bientôt, WGS) dans la pratique clinique courante. La figure 7 représente l'arbre décisionnel pour la prise en charge étiologique d'un patient présentant une DI. On note 1) une part importante laissée à la clinique qui permet d'une part une éventuelle orientation étiologique de première intention (diagnostic de quasi-certitude) et d'autre part la confrontation clinico-biologique nécessaire à l'interprétation optimale des variants issus du NGS 2) une place plus importante laissée aux examens de type NGS (panel, WES en fonction des disponibilités).

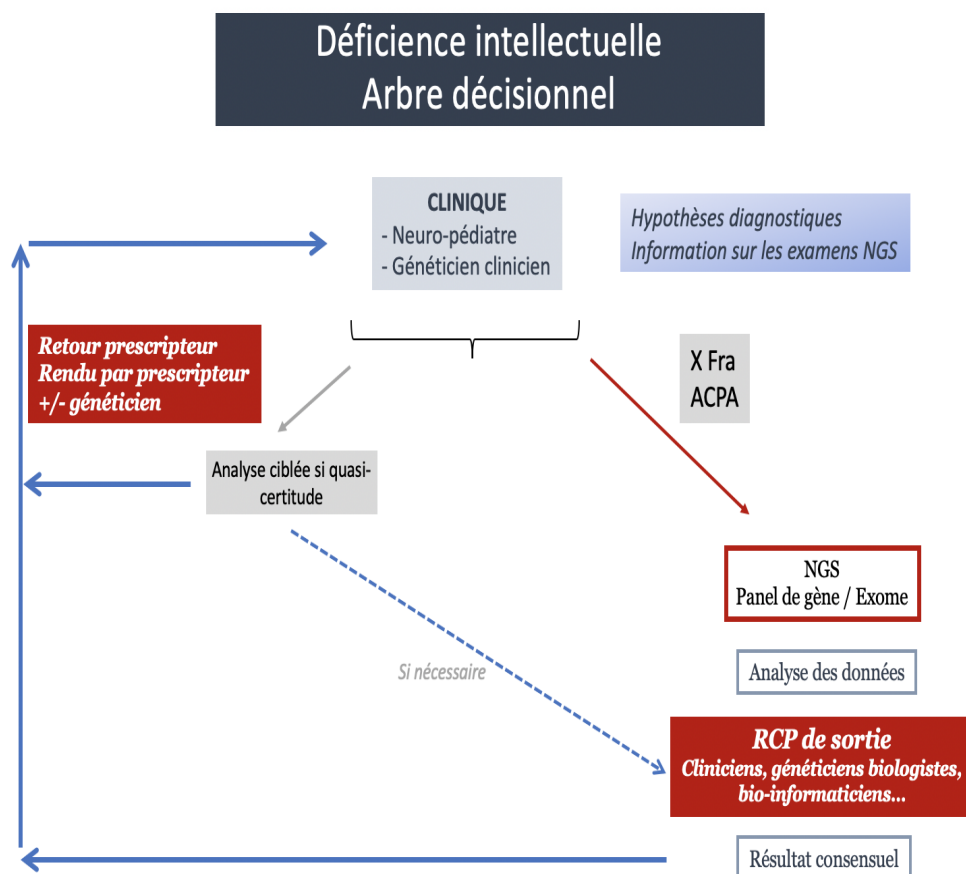


Figure 7 : arbre décisionnel de l'exploration étiologique de la DI (Recommandations du CRMR DI)

## 1.7 Objectifs de l'étude

L'objectif de ce travail est double : il s'agit 1) d'effectuer un bilan d'activité, en rapport avec l'introduction d'une nouvelle méthode diagnostique, le séquençage d'exome en trio dans un centre unique (UF génomique du développement, Hôpital Pitié-Salpêtrière) et 2) d'identifier, après analyse des dossiers des patients, les paramètres anamnestiques ou cliniques influençant l'efficacité diagnostique du séquençage d'exome dans la DI.

## 2 Patients et méthodes

### 2.1 Aperçu global

Le WGS dans la DI a débuté en 2015 au sein de l'Unité Fonctionnelle « Génomique du développement », sous la responsabilité du Dr Boris KEREN située dans le Département de Génétique du Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière (Pr SOUBRIER puis LE GUERN).

Les patients recrutés pour ce projet sont issus des consultations de génétique clinique de l'hôpital Pitié-Salpêtrière et Trousseau (Dr Delphine Héron) et des consultations de neuropédiatrie de l'hôpital Armand Trousseau (Pr Billette), dans le cadre du CRMR « déficiences intellectuelles de causes rares ». Ce recrutement suit un arbre décisionnel partagé par les deux hôpitaux participants et répondant à la démarche étiologique recommandée (figure 7). En particulier, l'ensemble des patients a bénéficié au préalable d'une ACPA et d'une recherche d'X-fragile. Une analyse ciblée (séquençage Sanger ou NGS par panel de gènes) est privilégiée en cas de forte suspicion diagnostique pour un syndrome spécifique. Dans le cas contraire, un séquençage d'exome en trio était proposé. Une information claire loyale et appropriée était délivrée au patient et à ses parents ou tuteurs avant signature du consentement.

Les résultats du séquençage d'exome ont ensuite été analysés et interprétés après traitement bio-informatique (Julien BURATTI). Puis, après identification de potentiels variants d'intérêts, l'ensemble des résultats a été discuté en réunion de concertation pluridisciplinaire comprenant les médecins prescripteurs de l'équipe de génétique clinique, un neuropédiatre, un biologiste médical, un conseiller en génétique, un psychologue et le prescripteur de l'analyse.

Une fois un résultat consensuel obtenu, un retour au patient a été fait en consultation par le prescripteur. Le délai de l'ensemble du processus était de 9 mois en moyenne (de 6 mois à 14 mois). Une procédure d'urgence a été également mise en place en cas de nécessité de résultat rapide (grossesse en cours), dans ce cas ce délai pouvait être ramené à 3 semaines.

### 2.2 Les patients

#### 2.2.1 Recrutement

Le critère principal de recrutement était la présence d'une déficience intellectuelle ou d'un retard de développement (RD) pour les patients de moins de 6ans sans diagnostic étiologique connu. Cette DI pouvait être isolée ou associée à d'autres anomalies cliniques (autisme, épilepsie, autres signes neurologiques, malformation, dysmorphie faciale). Adultes et enfants répondant à ces critères ont été inclus.

Afin de simplifier l'interprétation bio-informatique, il était demandé aux cliniciens de prélever dans le même temps les parents du cas index afin qu'ils soient inclus dans l'analyse. L'analyse en trio était un prérequis pour l'inclusion.

Lors de la prescription du séquençage d'exome, le médecin expliquait au patient les enjeux de cette analyse et les différents types de résultats possible (dont VOUS). Les données secondaires non pas été analysées en dehors de projets spécifiques (projet FIND, Pr Laurence FAIVRE, CHU de DIJON). Un consentement écrit était signé à l'issue de la consultation (cf. annexe 1).

Afin de compléter la demande, des renseignements cliniques sommaires étaient également demandés (consanguinité (jusqu'à 2 générations), antécédent familiaux, grossesse, croissance, signes neurologiques associés, anomalies morphologiques, cf. annexe 2).

### 2.2.2 Évaluation clinique

Les informations cliniques incluses associent les informations données dans la feuille de demande (cf. annexe 1) ainsi qu'un examen des dossiers médicaux. Ont ainsi pu être évalués : les évènements périnataux, la sévérité de la déficience intellectuelle, la présence de troubles du spectre autistique, d'épilepsie, de malformations, de troubles neurologiques associés.

La sévérité de la DI a été évaluée grâce à plusieurs paramètres. Pour ceux qui ayant eu un bilan neuropsychologique, les mesures de QI étaient recueillies. Pour ceux n'ayant pas eu de bilan neuropsychologique, d'autres éléments ont été recueillis comme les étapes majeures du développement (tenue assise, marche, premiers mots), le parcours scolaire, le degré d'autonomie au quotidien (autonomie aux transports, repas, toilette) ainsi que la sévérité évaluée clinique par le clinicien. La sévérité était donc établie par potentiellement 3 indicateurs (tests neuropsychologiques, histoire clinique et avis du clinicien).

## 2.3 Le séquençage d'exome en trio

### 2.3.1 La technique

Le kit MedExome de Roche a été utilisé pour le séquençage d'exome. Le séquençage a proprement parler a été effectué sur un séquenceur NextSeq 500 d'Illumina. Le détail du protocole de laboratoire est disponible en annexe (annexe 3).

Le temps total pour chaque projet (12 échantillons par projet) était de 3 jours. Deux projets ont été effectués par semaine en moyenne.

### 2.3.2 L'analyse bio-informatique

L'ensemble l'analyse bio-informatique a été effectuée sur place via un pipe-line créé par le bio-informaticien en charge des analyses génétiques.

Ce pipeline répond aux recommandations habituelles d'analyses d'exome et utilise des outils bio-informatiques en open access (BWA, GATK, PicardTools...) afin de procéder à l'alignement des fragments sur le génome de référence (hg19) et à l'extraction des variants. Plus en détail, il suit le protocole proposé par le Broad Institute pour l'analyse des données de séquençage haut débit (figure 2).

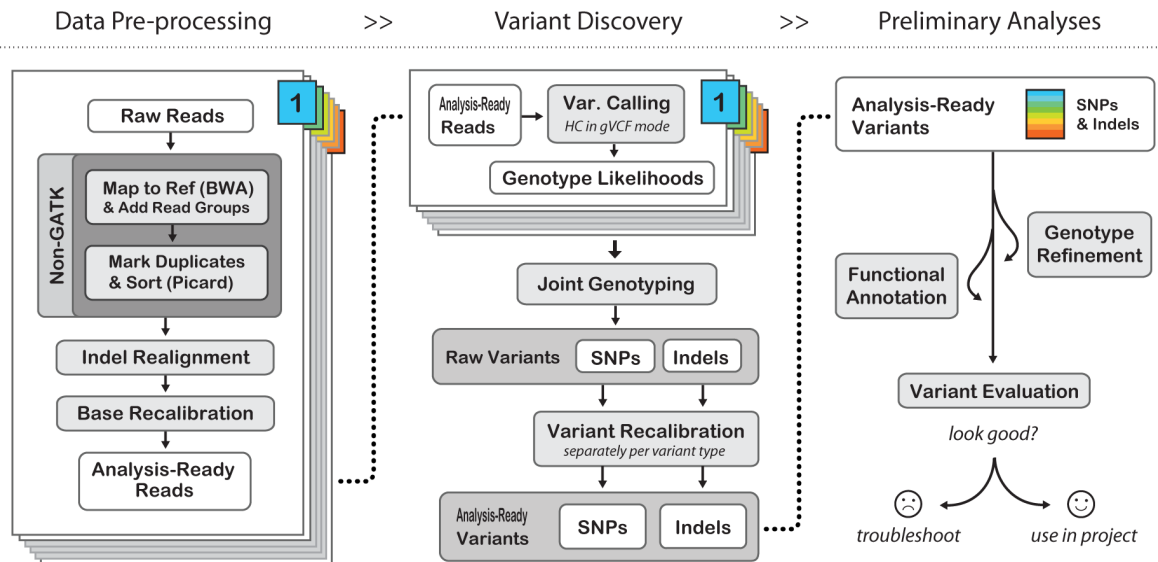


Figure 8 : Protocole d'analyse des données de séquençage haut débit (Broad Institute, GATK)

Les variants extraits sont ensuite annotés via Variant Effect Predictor (VEP) et des annotations spécifiques : coordonnées génomiques, allèles de référence et alternative, ClinVar, HGMD, SysID, occurrence dans GnomAD, score de prédiction *in silico* (SIFT, CADD, REVEL, dbscnv), indicateurs de contrôles qualité.

A la suite de cette étape, un fichier Excel est constitué avec en colonnes les éléments mentionnés précédemment et en ligne les différents variants.

### 2.3.3 Interprétation des variants

L'interprétation des variants est effectuée sur la base des critères de l'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG, tableau 5).

L'interprétation est ainsi guidée par entre autres, le mode de transmission (de novo, homozygote, hétérozygote composite, récessif lié à l'X), les données populationnelles (présence ou nom de la variant dans une base de données de sujets sains), les données scientifiques (variants connu ?), le type de variant, sa présence dans une base de données cliniques (ClinVar, HGMD), l'impact protéique attendu et les scores de prédiction. À partir de ces éléments, les variants sont cotés de 1 à 5 de bénin à pathogène.


		BENIGN CRITERIA		PATHOGENIC CRITERIA				
Strength of evidence		Strong	Supporting	Supporting	Moderate	Strong	Very Strong	
Odds of Pathogenicity*		-18.7	-2.08	2.08	4.33	18.7	350.0	
Evidence Category and Corresponding ACMG/AMP Codes	Population Data	BA1* BS1 BS2			PM2	PS4		
	Allelic Evidence & Cosegregation Data	BS4	BP2 BP5	PP1 		PM3 PM6	PS2	
	Computation & Predictive Data		BP1 BP3 BP4 BP7	PP2 PP3	PM1 PM4 PM5	PS1	PVS1	
	Functional Data	BS3				PS3		
	Other		BP6	PP4 PP5				

Tableau 4: Critères de l'ACMG pour l'interprétation des variants génomiques (Richard et al., 2015)

En cas d'identification de variant associé à une haute probabilité de pathogénicité mais situé dans un gène non connu comme associé à la DI une soumission « GeneMatcher » était effectuée. Ce site internet permet de connecter des professionnels de santé qui partagent un intérêt particulier pour un gène précis. Le partage des phénotypes permet ensuite d'établir un lien de pathogénicité entre le gène d'intérêt et la maladie(40) par le biais de collaboration (série de cas, études fonctionnelles).



## 3 Résultats

### 3.1 Aperçu global de la cohorte et données démographiques

Le recrutement des patients a duré sur une période d'environ 39 mois (décembre 2015 à avril 2019 début), et 818 séquençages d'exome sur cas index ont été effectués avec pour indication la déficience intellectuelle. La grande majorité des séquençages (627/818 76%) ont été effectués en trio (cas index + parents, N = 627, figure 9). On note également 56 duos (parent + cas). 45 cas index ont été analysés en quatuor ou en quintet (respectivement 39 et 6) en raison de formes multiples. Une proportion légèrement plus importante d'individus masculins a été inclus au cours de l'étude (340 vs 425, figure 10).

L'âge médian des cas est situé à 16 ans (figure 11). On note une majorité de patients mineurs, en lien avec le recrutement exclusivement pédiatrique de l'hôpital Trousseau et le recrutement mixte de l'hôpital Pitié Salpêtrière. La plupart des cas ont un âge supérieur à 6 ans (86%) permettant de statuer sur le diagnostic de DI pour ces cas et d'évaluer leur sévérité.

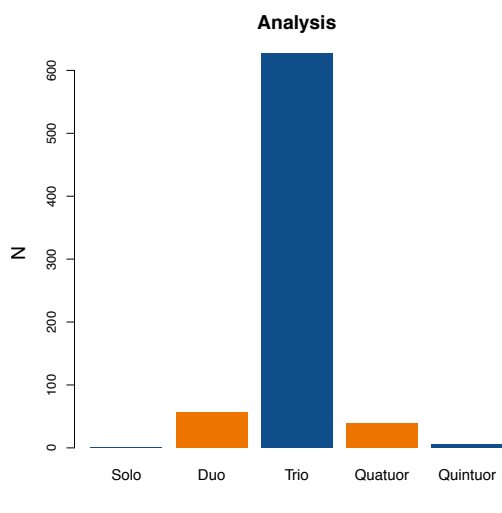


Figure 9 : Mode d'analyse

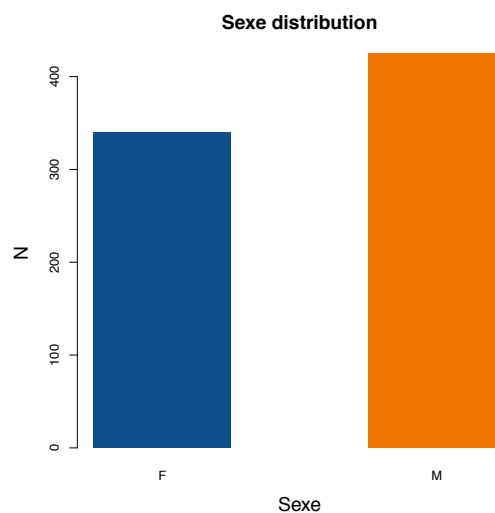


Figure 10 : Distribution des sexes

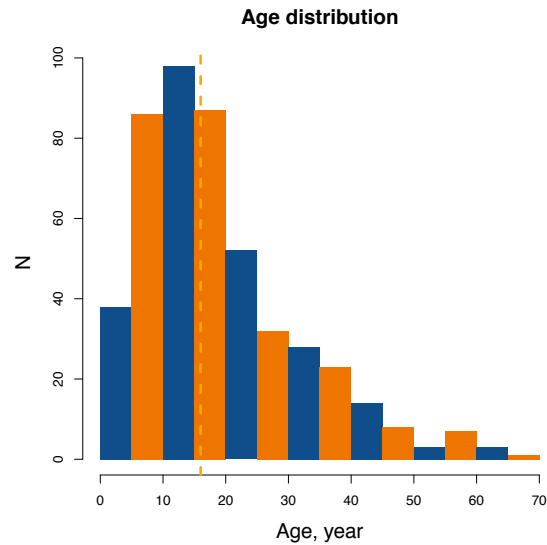


Figure 11 : Distribution des âges

## 3.2 Aspects moléculaires

Au total, un diagnostic étiologique a été effectué chez 338 des 818 patients analysés (41%, variant de classe 4 ou 5, figure 7). Ce taux diagnostique est globalement un peu plus élevé que le taux habituellement retrouvé dans la littérature, (32). Dans 71 cas (9%), un variant de signification inconnu a été retrouvé sans qu'une suite immédiate puisse être donnée. Dans 41 cas (5%), un variant d'intérêt dans un gène candidat non validé dans la DI a été identifié. Ces variants ont été soumis dans GeneMatcher et une collaboration a été initiée, aboutissant à la validation de nouveaux gènes de DI dans 14 cas (pour les autres gènes soumis, les études de validations sont encore en cours).

Parmi les variants identifiés, 70% sont survenus *de novo* (235/338, figure 8). 16,8% sont des variants dans des gènes récessifs (20 hétérozygotes composites et 37 homozygotes) et seulement 10% (34/338) sur le chromosome X. Enfin, 11 variants sont transmis par un parent ?

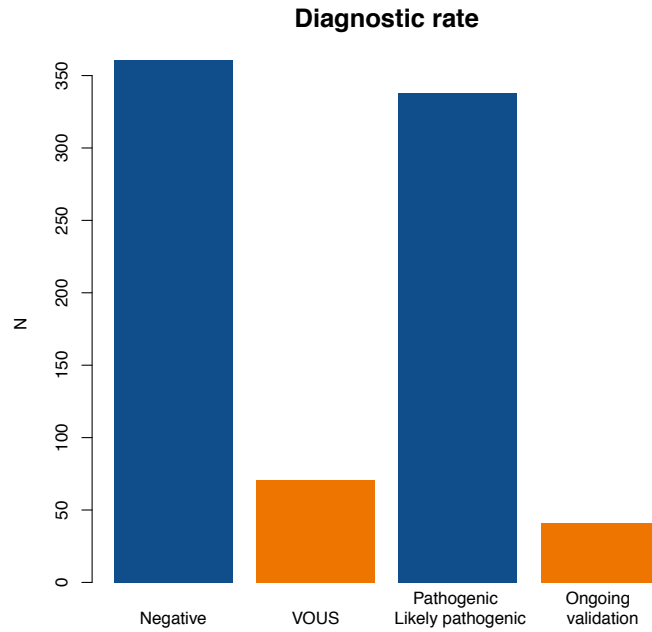


Figure 12 : Taux diagnostique

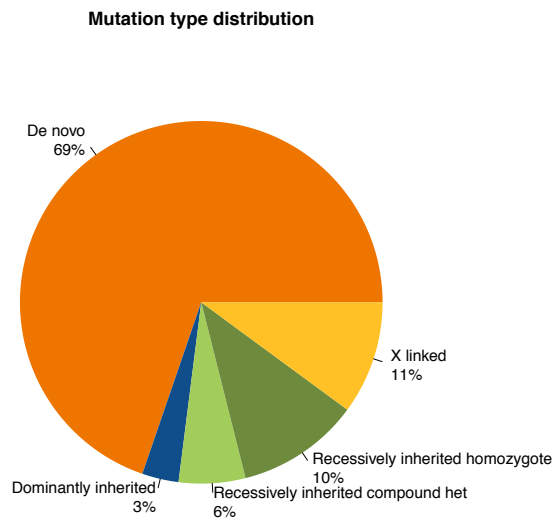


Figure 13 : Diagramme du type de variant retrouvé

La figure 14 présente les 50 gènes les plus fréquemment retrouvés. Le gène le plus fréquemment retrouvé est *KMT2A* (9 occurrences), suivi de *DDX3X*, de *TCF20* et de *MED13L* (respectivement 7, 6 et 6 occurrences). Ces gènes sont parmi les plus fréquemment retrouvés habituellement dans les autres grandes séries de séquençage d'exome dans la DI. On note par

ailleurs que pour 36% (123/338) des diagnostics, le gène incriminé n'apparaît qu'une seule fois dans la série.

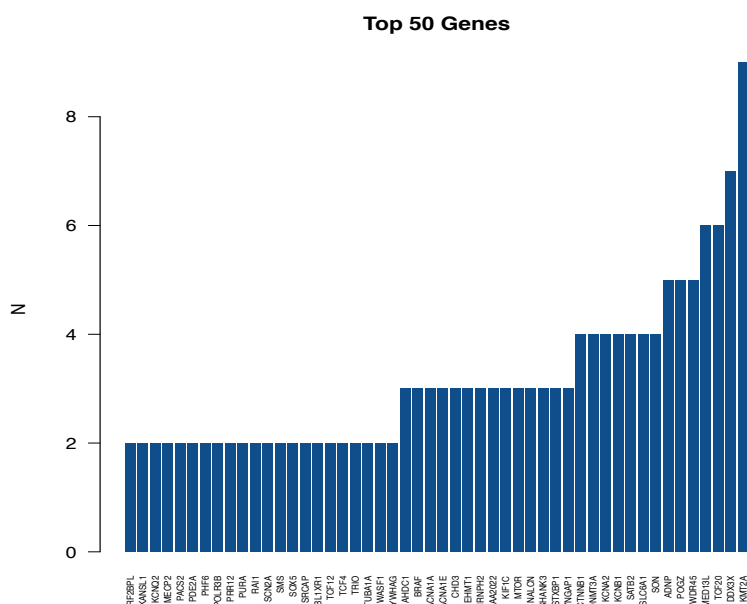


Figure 14 : Nombre d'occurrence pour les 50 gènes les plus fréquemment retrouvés

### 3.3 Aspects cliniques

#### 3.3.1 Facteurs cliniques influençant le taux diagnostique

Le deuxième objectif principal du travail a été d'évaluer l'impact de certaines caractéristiques des patients sur le taux diagnostique. Le tableau 5 regroupe l'ensemble des paramètres cliniques étudiés (le sexe, la consanguinité, le degré de DI, les antécédents familiaux).

Pour tous ces paramètres, aucune différence significative n'a été relevée en termes de taux diagnostique, à l'exception du sexe.

Par ailleurs, 1) il ne semble pas y avoir de corrélation significative entre le taux diagnostique et la consanguinité ( $p$ -value = 0.1945, test du  $\chi^2$ ) 2) La sévérité de la DI a été évaluée selon les modalités mentionnées précédemment. Ainsi, 112 bilans neuropsychologiques ont pu être utilisés, ils concernaient principalement les patients atteints de déficience légère et modérée ( $n = 86$ ). Parmi cette population, nous n'avons pas trouvé de corrélation significative entre la sévérité de la DI et un taux diagnostique plus élevé ( $p$ -value = 0.1997, test du  $\chi^2$ ). Différentes comparaisons ont été effectuées, en prenant le groupe des DI légères contre l'ensemble des autres types de DI ou en comparant entre les différents groupes de DI ( $p$ -value = 0.1499). On note cependant une progression du nombre de diagnostics en fonction de la sévérité de la DI. De même, les antécédents

d'épilepsie ou les antécédents familiaux de DI ne sont pas des facteurs influençant le taux diagnostique du séquençage d'exome.

	Négatif	VOUS	Positif	En validation	
<b>Féminin</b>	134	29	158 (46%)	19	P-value = 0.0164
<b>Masculin</b>	203	38	162 (38%)	22	
<b>Consanguinité +</b>	50	16	35 (37%)	3	P-value = 0.1945
<b>Consanguinité -</b>	311	55	303 (43%)	38	
<b>DI Légère</b>	84	13	66 (37%)	17	P-value = 0.1997
<b>DI Modéré</b>	112	21	108 (43%)	11	
<b>DI Sévère/Profonde</b>	69	14	78 (47%)	6	
<b>ATCD familiaux +</b>	34	12	41 (46%)	2	P-value = 0.516
<b>ATCD familiaux -</b>	168	31	166 (43%)	17	
<b>Épilepsie +</b>	114	30	126 (45%)	11	P-value = 0.132
<b>Épilepsie -</b>	247	41	212 (40%)	30	

Tableau 5 : Résumé des caractéristiques cliniques des patients et des variations du nombre de diagnostic

### 3.3.2 Impact de la consanguinité sur le diagnostic moléculaire

Dans un contexte de consanguinité, il est attendu qu'un nombre augmenté de pathologies de transmission récessive. Le tableau 6 regroupe le type de variants retrouvés en fonction du caractère apparenté ou non des parents du cas index. Naturellement, sur les 52 diagnostics effectués dans un contexte de consanguinité, 32 impliquaient une transmission récessive homozygote (61%). Ce taux est significativement supérieur à celui retrouvé hors contexte de consanguinité (p-value =  $1.925 \times 10^{-14}$ , test du  $\chi^2$ ). On note cependant qu'une part non négligeable de diagnostics (30%) concernait des variants de novo malgré le contexte de consanguinité.

	<b>Apparentés</b>	<b>Non Apparentés</b>	
<b>de novo</b>	16	292	P-value = 1.925e-14
<b>hmz/htz c transmis</b>	32/0	0/57	
<b>Lié à l'X</b>	4	47	
<b>Total patients</b>	104	707	

*Tableau 6 : Influence de la consanguinité sur le type de variant*

## 4 Discussion

**Aspects moléculaires** Cette étude nous a permis de faire un bilan global sur 3 ans d'activité de séquençage d'exome en trio dans le cadre de la déficience intellectuelle. Au total, un diagnostic définitif était apporté dans 41% des cas, ce qui dépasse de loin le taux diagnostique des techniques cytogénétique (estimé à 15-20 %). Ce taux dépasse également le taux habituellement retrouvé pour les autres grandes séries de séquençage d'exome (27% pour la série DDD, Deciphering Developmental Disorders, également en trio). Ceci peut être expliqué en partie par le caractère mono-centrique de l'étude et une concentration sur un même site des ressources cliniques et technologiques ainsi que par une collaboration étroite entre médecin biologiste et cliniciens. On peut également citer l'homogénéité du recrutement (DI isolée ou non, avérée). Le facteur temps est également à prendre en compte, 4 ans séparent les publications liées à l'étude DDD et notre étude, de nombreux nouveaux gènes de DI ont été découverts dans l'intervalle.

Concernant les variations dans des gènes non connus en pathologie humaine soumises à GeneMatcher, des suites ont été données au cours des 3 ans. Ainsi, parmi ces 41 appels à collaboration, 14 gènes sont maintenant inclus dans la liste des 1055 gènes de DI. Ces validations font suite à la publication de séries de cas et de validations fonctionnelles. Ce taux diagnostique devra encore être modulé par la relecture des exomes déjà effectués. Il s'agit là d'un avantage majeur du séquençage d'exome. Ainsi, une étude récente de relecture (33) a montré que cet effort de ré-analyse pouvait augmenter de près de 15 % le taux diagnostique (passage de 27 à 41%). Cette augmentation est bien-sûr à temporiser par le fait que la première étude (41) a été publiée en 2015 et que nous disposons lors de notre travail d'une liste plus exhaustive des gènes de DI. Une ré-analyse des exomes n'a pas encore été réalisé au sein du département et il s'agit d'un projet programmé à court terme.

Les 20 gènes les plus fréquemment en cause représentent 28% des diagnostics, mais seulement de 3 à 7 occurrences. Ceci illustre la grande hétérogénéité génétique de la DI et les difficultés attendues par les stratégies diagnostiques impliquant des analyses ciblées ou orientées. Ainsi, parmi ces 20 gènes, 12 n'étaient pas présent sur la DI 44 (le panel diagnostique de première intention en France)

**Aspects cliniques** Cette étude n'a pas permis de mettre en évidence de facteurs cliniques ayant une influence significative sur le taux diagnostique à l'exception du sexe (plus de filles diagnostiquées que de garçons). Plusieurs explications sont possibles, en particulier, une grande partie des causes liées à l'X ont été diagnostiquées auparavant par d'autres tests. On peut également citer les difficultés liées à l'interprétation des variants rares situés sur l'X. Concernant l'épilepsie, il

existe également un biais de sélection. De nombreux syndromes épileptiques ont probablement pu bénéficier d'un diagnostic moléculaire via un panel dédié. Ces causes moléculaires auraient elles aussi pu être identifiées par séquençage d'exome.

La DI sévère est plus fréquemment associée à une cause monogénique que la DI légère, plus volontiers multifactorielle, sont intriqués des facteurs environnementaux. Une étude récente (44) montre qu'en cas de déficience profonde ou sévère, le QI moyen du reste de la fratrie est comparable à celui de la population générale. Dans le cas d'une déficience légère, le QI moyen de la fratrie est plus bas que celui de la population générale. Ceci est en faveur du fait que 1) la DI profonde ou sévère sont des entités cliniques à part entière distinctes de la DI légère et 2) que la DI légère est probablement polygénique. Dans notre cas, il existe bien une tendance montrant que plus de diagnostics sont effectués chez les patients plus sévères, mais la comparaison de groupe n'a pas montré de différence significative. Il peut exister un manque de puissance. Une autre explication est lié aux études ciblées sur des phénotypes reconnaissables, ou gp de pathologies (EE) Cependant, le taux diagnostique chez les patients atteints de DI légère reste élevé (37%), montrant que l'indication du séquençage d'exome en trio dans ce cadre reste justifiée et que la part des causes monogéniques est importante Ceci va à l'encontre de certaines grandes études génomiques actuelles (ex : Genomics England, 100 000 genomes project) pour lesquelles la DI légère n'a même pas été retenue comme une indication à l'inclusion. Néanmoins, l'évaluation de la sévérité de la DI n'est jamais facile. Dans notre étude, les bilans neuropsychologiques n'étaient disponibles que pour 15 % des patients. Ces bilans avaient une importance particulière pour la distinction des patients DI modérés des patients légers qui est difficile à effectuer cliniquement. Cependant, en utilisant des critères cliniques objectifs (autonomie, scolarité, développement psychomoteur) inspirés par les nouvelles recommandations du DSM-V et en associant ces informations à l'avis du clinicien prescripteur qui suit généralement le patient depuis plusieurs années, nous pensons avoir classifié chaque patient au plus proche de sa sévérité réelle. A noter enfin que l'ensemble des patients atteints de DI légère avec diagnostic moléculaire ont été revu par le clinicien afin de confirmer la sévérité de la déficience.

Nos données concernant la consanguinité corroborent celles de la littérature (29). Dans une étude de 2011 (32), 100 familles consanguines ont bénéficié du séquençage d'exome en trio, 61 diagnostics ont été effectués avec un variant de novo dans 28% des cas. Notre étude va également dans ce sens. Chiffres La consanguinité augmenterait ainsi le risque de DI de 3,6. Il est à noter cependant que dans 1/3 des cas, la DI du cas index n'est pas en lien avec le caractère apparenté des parents.



**Aspects théoriques.** Comme nous le rappelions au début de cette étude, les étiologies génétiques de la DI sont généralement scindées en 3 groupes, un premier comprenant l'ensemble des syndromes rares connus, un deuxième comprenant les DI syndromiques pour lesquelles une altération génétique unique est fortement suspectée mais encore à identifier et un troisième comprenant les cas où une origine génétique est hautement probable mais associée à des mécanismes moléculaires plus complexes (modèle polygénique). L'application au domaine médical et sur un grand nombre de patient des techniques de « microarray » et de séquençage haut débit ont permis d'identifier de nombreuses et nouvelles variations génétiques associées à des syndromes rares mais également à des DI isolées et légères. Ceci renforce le modèle d'une grande hétérogénéité génétique dans ces maladies pour lesquelles la catégorisation clinique n'implique pas une explication biologique commune.

De plus, la plupart des variants identifiées sont associées à une grande variabilité d'expression et de pénétrance complexifiant les frontières établies cliniquement entre les différents troubles du neurodéveloppement. Ces données sont corroborées par des études épidémiologiques de grande envergure qui montrent un risque partagé entre ces différents troubles (42). En d'autres termes, si les catégories diagnostiques actuelles reflètent des entités cliniques distinctes, elles ne distinguent pas les étiologies.

## 5 Conclusions et perspectives

Cette étude souligne la grande efficacité diagnostique du séquençage d'exome en trio dans la déficience intellectuelle. La DI apparaît comme une indication privilégiée du fait de son hétérogénéité génétique et par le peu d'éléments d'orientation clinique auquel elle est généralement associée. Dans ce contexte, une approche « gene-first » semble relativement souvent adaptée, en particulier dans les formes isolées de DI. Mais le succès de cette technique est également lié à l'étroite collaboration entre biologistes et cliniciens qui permettent de valider ou invalider des VOUS et de guider l'identification des gènes d'intérêt ainsi que la description de nouveaux syndromes avec DI.

Les progrès en cours sur le séquençage de génome, avec en particulier la possibilité de détecter les CNV et peut-être même les variants dynamiques (18, 43), feront certainement de cet examen, un examen de choix en première intention pour l'exploration de la DI en remplaçant l'ACPA et la recherche d'X-fragile préalables, puisque ces données devraient pouvoir être analysés sur le génome. Par ailleurs, les données de transcriptome laissent supposer que la définition des bornes exoniques soient inexactes pour certains gènes, en particulier pour ceux ayant une expression neurologique (44). Cette ré-annotation exonique laisse envisager de nouveaux diagnostics possibles.

Au-delà des perspectives bio-informatiques, de nouvelles perspectives technologiques disponibles en routine comme le séquençage d'ARN ou le profilage de méthylation, en combinaison du séquençage d'exome permettront probablement d'accélérer la validation de nouveaux gènes de DI et de faciliter l'interprétation de la pathogénicité de certains variants.

## Annexes

## Annexe 1 : consentement aux analyses génétiques



Hôpitaux Universitaires La Pitié-Salpêtrière – Charles Foix  
47/83 bd de l'Hôpital  
75651 Paris Cedex 13

Consultation de Génétique  
Tél : 01 42 16 13 46 / Fax : 01 42 16 13 64  
Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique  
Tél : 01 42 17 76 47 / Fax : 01 42 17 76 18

### CONSENTEMENT POUR L'EXAMEN DES CARACTÉRISTIQUES GÉNÉTIQUES À DES FINS MÉDICALES

Loi N°2004-800 du 6 août 2004- Code de la santé publique

(établi en 3 exemplaires : 1 pour l'intéressé,  
1 pour le laboratoire, 1 pour le dossier médical)

<b>IDENTIFICATION DU PATIENT</b> NOM : Prénom : NOM de jeune fille : Date de Naissance :  <input type="checkbox"/> mineur <input type="checkbox"/> majeur	<b>IDENTITÉ du(des) TITULAIRE(S) de L'AUTORITÉ PARENTALE pour un MINEUR ou du TUTEUR LÉGAL (mineur ou majeur)*</b>  Père (nom, prénom) ..... , né le ..... Mère (nom, prénom)..... , née le ..... Autre (nom, prénom) ..... , né le ..... Lien de parenté :
---	--

- Je(nous) soussigné(e)(s) certifie(certifions) avoir reçu du Dr ..... une information compréhensible concernant l'examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales qui sera réalisé par des actes de cytogénétique et/ou génétique moléculaire (ci-après désignés par "analyse") à partir du(des) prélèvement(s) effectué(s) chez moi / chez mon enfant mineur/ chez .....\*, dans le cadre de :

#### À remplir par le médecin prescripteur (Senior obligatoire)

Contexte pathologique :

Cette analyse est effectuée dans le but de (une seule case à cocher) :

- rechercher une origine génétique à la maladie (diagnostic étiologique)
- proposer un diagnostic prédictif (gène/mutation : .....)
- rechercher une hétérozygotie pour une maladie récessive ou liée à l'X (gène/mutation : .....)
- Autre : .....

- Je(nous) donne(donnons) mon(notre) consentement pour ce prélèvement et cette analyse ; j'ai compris que cette analyse a pour but de déterminer si un (ou plusieurs) de mes gènes ou de mes chromosomes présente(nt) une (ou plusieurs) anomalie(s) en rapport avec la pathologie citée ci-dessus. Conformément aux articles R1131-4 et R1131-5 du Code de la santé publique, je reconnais avoir reçu l'ensemble des informations permettant la compréhension de cette analyse et sa finalité. J'ai eu la possibilité de poser toutes les questions que je souhaitais et je pourrai obtenir toute information complémentaire auprès du médecin désigné ci-dessus.
- Je peux à tout moment décider de ne pas poursuivre cette démarche. Les données génétiques et le matériel biologique me concernant pourront être détruits à ma demande. Dans ce cas, j'en informerai par écrit le médecin désigné ci-dessus. Cette décision ne modifiera en rien ma prise en charge médicale.
- Les résultats de cette analyse, commentés et signés par un praticien responsable agréé conformément à l'article R1131-19 du code de la santé publique, me seront transmis par le médecin prescripteur au cours d'une consultation. Ils resteront confidentiels et ne pourront être communiqués qu'au(x) médecin(s) que je désignerai.
- Au cas où cette analyse pourrait révéler d'autres affections que celle recherchée, je n'en serai informé(e) que si cela comporte un bénéfice direct pour moi, en l'état actuel des connaissances à ce jour.
- J'ai compris que les résultats de l'analyse pourront amener à préconiser un bilan au sein de ma famille, et que les modalités d'information de la famille devront être précisées à l'issue de la consultation de rendu de résultat (Article L1131-1 du code de la santé publique).
- J'accepte que mes résultats soient utilisés pour faciliter la réalisation de tests génétiques chez les membres de ma famille qui en feraient la demande.  
Si vous refusez, cochez ici :  NON
- J'accepte que mes échantillons biologiques soient conservés et utilisés à des fins de recherche médicale, dans le cadre de ma pathologie, de même que la saisie de données médicales anonymisées, dans les conditions fixées par la loi.  
Si vous refusez, cochez ici :  NON

Fait à ....., le .....

Signature du patient/ des titulaires de l'autorité parentale/ du tuteur \*  
\* Rayer la(les) mention(s) inutile(s)

Signature du médecin (Senior obligatoire)

#### ATTESTATION DU MÉDECIN PRESCRIPTEUR (Senior obligatoire)

Je soussigné (e) ..... Docteur en Médecine, certifie avoir informé le(les) personne(s) sus-nommée(s) des caractéristiques de la maladie recherchée, des moyens de la détecter, du degré de fiabilité des analyses, des possibilités de prévention et de traitement, des modalités de transmission génétique et leurs possibles conséquences chez d'autres membres de sa famille et avoir recueilli son(leur) consentement dans les conditions du code de la santé publique (articles n°R1131-4 et 5) et de l'article 16-10 du Code Civil.

Signature :

Cachet :

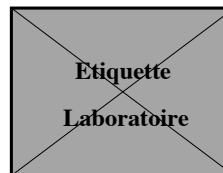
PXH-EN-034 version 01

Nous vous rappelons que les données vous concernant peuvent faire l'objet d'un traitement informatique et sont protégées par les dispositions de la loi «informatique et libertés » (Loi n°78-17 du Janvier 1978, modifiée). Vous disposez à tout moment d'un droit d'accès et de rectification. Le médecin prescripteur doit conserver le consentement écrit, les doubles de la prescription et de l'attestation, et les comptes rendus d'analyses de biologie médicale commentés et signés (Art. R1131-5).

Annexe 2 : Feuille de demande de séquençage d'exome



**HOPITAUX UNIVERSITAIRES LA PITIE SALPETRIERE-CHARLES FOIX**  
 47/83 Bd de l'Hôpital – 75651 PARIS Cedex 13  
 Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, bâtiment Pharmacie  
 Département de Génétique - UF de Génomique du Développement  
 Dr B. KEREN - Dr C. NAVA  
 Bâtiment Pharmacie, 2 Rue de l'infirmierie générale, 3eme étage  
 Tél. : 01 42 17 78 92 - 01 42 17 78 87 / Fax : 01 42 17 76 00 Site Internet : [www.cgmc-psl.fr](http://www.cgmc-psl.fr)



**DEMANDE D'ANALYSE GENETIQUE POUR MALADIE DU DEVELOPPEMENT**

Etiquette GILDA Patient Nom : ..... Prénom : ..... Date de Naissance : ..... Sexe : M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	Etiquette UF (origine prescription)	PRESCRIPTEUR Nom : ..... Prénom : ..... Identifiant APH : ..... Email : ..... N° de poste : .....	PRELEVEUR Nom : ..... Date : ..... Heure : ..... N° de poste : .....
---	-------------------------------------	--	--

<b>Examen demandé</b> <input type="checkbox"/> Puce ADN <input type="checkbox"/> Exome en <u>TRIO</u> avec parents sinon <u>JUSTIFIER</u> : <input type="checkbox"/> Contrôle d'anomalie <b>DEMANDE URGENTE. JUSTIFIER :</b>	<b>Conditions de prélèvement</b> - <b>2 tubes de sang EDTA (2 tubes bouchon violet)</b> doivent être acheminés au laboratoire le jour du prélèvement et conservés à température ambiante en attendant. - Pour les prélèvements autres que sanguin (exemple : biopsie cutanée), <b>rdv obligatoire et discussion des modalités</b> avant le prélèvement avec le laboratoire.
--	---

**Renseignements cliniques indispensables :**

<u>Origine géographique :</u> Analyses génétiques réalisées (gènes, panels...) : Gènes suspectés :	<u>Antécédents familiaux :</u> <input type="checkbox"/> normaux <input type="checkbox"/> parents apparentés <input type="checkbox"/> pathologies dans la famille, préciser lesquelles et le lien de parenté :	<u>Grossesse :</u> <input type="checkbox"/> normale <input type="checkbox"/> RCIU <input type="checkbox"/> Nuque épaisse <input type="checkbox"/> Hydramnios <input type="checkbox"/> Autres, préciser :
<u>Développement :</u> <input type="checkbox"/> Retard moteur <input type="checkbox"/> DI absente <input type="checkbox"/> DI légère <input type="checkbox"/> DI modérée <input type="checkbox"/> DI sévère <input type="checkbox"/> trouble du spectre autistique	<u>Croissance postnatale :</u> <input type="checkbox"/> normale <input type="checkbox"/> microcéphalie : <input type="checkbox"/> macrocéphalie : <input type="checkbox"/> retard statural : <input type="checkbox"/> avance staturale : <input type="checkbox"/> surpoids	<u>Signes neurologiques :</u> <input type="checkbox"/> cérébelleux <input type="checkbox"/> épilepsie <input type="checkbox"/> pyramidaux <input type="checkbox"/> extrapyramidaux <input type="checkbox"/> autre :
<u>Anomalies morphologiques :</u> <input type="checkbox"/> aucune anomalie morphologique <input type="checkbox"/> anomalies morphologiques, préciser :	<u>Malformations :</u> <input type="checkbox"/> pas de malformation <input type="checkbox"/> bilan malformatif incomplet <input type="checkbox"/> malformations, préciser :	<u>Autres symptômes :</u>

**ATTESTATION DE CONSEIL GÉNÉTIQUE ET DE RECUEIL DE CONSENTEMENT**

Je soussigné, Dr....., certifie que, conformément au Code Civil (Art. 16-10) et au Code de la Santé Publique (Art. L1131-1, R145-15-4), je suis en possession du consentement éclairé signé par le sujet dans le cadre de l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne pour les analyses demandées ci-dessous  
 Date:..... Signature et cachet du médecin : .....

**JOINDRE OBLIGATOIREMENT**

- un consentement ou une attestation de recueil de consentement
- pour les prescriptions d'exomes : un compte-rendu médical détaillé incluant l'histoire de la maladie, l'examen clinique et les résultats d'examen et des photos du patient (imprimées ou par mail à [genetiq.chromosomiq.psl@aphp.fr](mailto:genetiq.chromosomiq.psl@aphp.fr))

Prérequis : - DI avérée

- analyse chromosomique sur puce à ADN et recherche du syndrome d' l'X-fragile négatives
- Cette analyse n'est pas destinée aux patients présentant des troubles du spectre autistique au premier plan

## Annexe 3 : protocole de préparation des échantillons pour le séquençage d'exome

## Document d'instructions techniques concernant la préparation des librairies et la capture NimbleGen pour séquençage sur séquenceur NextSeq.

Nom du kit de Capture utilisé :	MedExome
Nombre d'ADN capturé(s) :	12

## 1- Préparation des ADN et Fragmentation

## Sortir les réactifs TapeStation

► Préparation de tubes Bioruptor avec 27 µl d'ADN à 40 ng/µl

► Bioruptor : 6 puis 5 cycles: 30sec time ON - 30sec time OFF

centrifuger les tubes entre chaque session

1	2
---	---

► Passage TapeStation (taille comprise en 180 et 220 pb)

1			7		
2			8		
3			9		
4			10		
5			11		
6			12		

## Sortir kit KAPA

lot KAPA :

## Glace pilée

## Sortir billes Ampure Pré

lot :

## Thermocycleur incubation 20°C

## Ethanol 80% (40+10)

lot :

► Dilution en plaque des ADN fragmentés : 25µl ATE + 25µl ADN frag.

lot ATE :

## 2- End Repair et A-Tailing

Thermo :

► Préparation End Repair A-Tailing Master Mix en pièce PréPCR :

KAPA End Repair A-Tailing Buffer	96,6
KAPA End Repair A-Tailing Enzyme	41,4

► Dans une plaque PCR :

End Repair A-Tailing Master Mix	10
ADN fragmenté à 20ng/µl	50

► Placer dans un thermocycleur, avec le programme incubation kapa-hyper prep :

20°C	30 min
65°C	30 min
Hold 4°C	infini

## 3- Adapter Ligation

Thermo :

► Préparation Ligation Master Mix en pièce PréPCR :

KAPA Ligation Buffer	414
KAPA DNA Ligase	138
H2O	69

## Bibliographie

1. Roeleveld N, Zielhuis GA, Gabreels F. The prevalence of mental retardation: a critical review of recent literature. *Dev Med Child Neurol.* 1997;39(2):125-32.
2. Leonard H, Wen X. The epidemiology of mental retardation: challenges and opportunities in the new millennium. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2002;8(3):117-34.
3. Maulik PK, Mascarenhas MN, Mathers CD, Dua T, Saxena S. Prevalence of intellectual disability: a meta-analysis of population-based studies. *Res Dev Disabil.* 2011;32(2):419-36.
4. Bittles AH, Black ML. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Consanguinity, human evolution, and complex diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107 Suppl 1:1779-86.
5. Hamamy H. Consanguineous marriages : Preconception consultation in primary health care settings. *J Community Genet.* 2012;3(3):185-92.
6. Madhavan T, Narayan J. Consanguinity and mental retardation. *J Ment Defic Res.* 1991;35 ( Pt 2):133-9.
7. Kirin M, McQuillan R, Franklin CS, Campbell H, McKeigue PM, Wilson JF. Genomic runs of homozygosity record population history and consanguinity. *PLoS One.* 2010;5(11):e13996.
8. Schaefer GB, Bodensteiner JB. Radiological findings in developmental delay. *Semin Pediatr Neurol.* 1998;5(1):33-8.
9. Moeschler JB, Shevell M, American Academy of Pediatrics Committee on G. Clinical genetic evaluation of the child with mental retardation or developmental delays. *Pediatrics.* 2006;117(6):2304-16.
10. Moeschler JB, Shevell M, Committee on G. Comprehensive evaluation of the child with intellectual disability or global developmental delays. *Pediatrics.* 2014;134(3):e903-18.
11. May PA, Gossage JP. Estimating the prevalence of fetal alcohol syndrome. A summary. *Alcohol Res Health.* 2001;25(3):159-67.
12. Niccols A. Fetal alcohol syndrome and the developing socio-emotional brain. *Brain Cogn.* 2007;65(1):135-42.
13. Majnemer A, Shevell MI. Diagnostic yield of the neurologic assessment of the developmentally delayed child. *J Pediatr.* 1995;127(2):193-9.
14. Seidman LJ, Buka SL, Goldstein JM, Horton NJ, Rieder RO, Tsuang MT. The relationship of prenatal and perinatal complications to cognitive functioning at age 7 in the New England Cohorts of the National Collaborative Perinatal Project. *Schizophr Bull.* 2000;26(2):309-21.
15. Musante L, Ropers HH. Genetics of recessive cognitive disorders. *Trends Genet.* 2014;30(1):32-9.
16. Chiurazzi P, Pirozzi F. Advances in understanding - genetic basis of intellectual disability. *F1000Res.* 2016;5.
17. Makela NL, Birch PH, Friedman JM, Marra CA. Parental perceived value of a diagnosis for intellectual disability (ID): a qualitative comparison of families with and without a diagnosis for their child's ID. *Am J Med Genet A.* 2009;149A(11):2393-402.
18. Dolzhenko E, van Vugt J, Shaw RJ, Bekritsky MA, van Blitterswijk M, Narzisi G, et al. Detection of long repeat expansions from PCR-free whole-genome sequence data. *Genome Res.* 2017;27(11):1895-903.
19. Ravnán JB, Tepperberg JH, Papenhausen P, Lamb AN, Hedrick J, Eash D, et al. Subtelomere FISH analysis of 11 688 cases: an evaluation of the frequency and pattern of subtelomere rearrangements in individuals with developmental disabilities. *J Med Genet.* 2006;43(6):478-89.

20. Manning M, Hudgins L, Professional P, Guidelines C. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med.* 2010;12(11):742-5.
21. Edelmann L, Hirschhorn K. Clinical utility of array CGH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1151:157-66.
22. Bernardini L, Alesi V, Loddo S, Novelli A, Bottillo I, Battaglia A, et al. High-resolution SNP arrays in mental retardation diagnostics: how much do we gain? *Eur J Hum Genet.* 2010;18(2):178-85.
23. Deciphering Developmental Disorders S. Prevalence and architecture of de novo mutations in developmental disorders. *Nature.* 2017;542(7642):433-8.
24. Stankiewicz P, Beaudet AL. Use of array CGH in the evaluation of dysmorphism, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Curr Opin Genet Dev.* 2007;17(3):182-92.
25. Sagoo GS, Butterworth AS, Sanderson S, Shaw-Smith C, Higgins JP, Burton H. Array CGH in patients with learning disability (mental retardation) and congenital anomalies: updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects. *Genet Med.* 2009;11(3):139-46.
26. Hochstenbach R, van Binsbergen E, Engelen J, Nieuwint A, Polstra A, Poddighe P, et al. Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. *Eur J Med Genet.* 2009;52(4):161-9.
27. de Ligt J, Willemsen MH, van Bon BW, Kleefstra T, Yntema HG, Kroes T, et al. Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. *N Engl J Med.* 2012;367(20):1921-9.
28. Athanasakis E, Licastro D, Faletra F, Fabretto A, Dipresa S, Vozzi D, et al. Next generation sequencing in nonsyndromic intellectual disability: from a negative molecular karyotype to a possible causative mutation detection. *Am J Med Genet A.* 2014;164A(1):170-6.
29. Kahrizi K, Hu H, Hosseini M, Kalscheuer VM, Fattahi Z, Beheshtian M, et al. Effect of inbreeding on intellectual disability revisited by trio sequencing. *Clin Genet.* 2019;95(1):151-9.
30. Hu H, Haas SA, Chelly J, Van Esch H, Raynaud M, de Brouwer AP, et al. X-exome sequencing of 405 unresolved families identifies seven novel intellectual disability genes. *Mol Psychiatry.* 2016;21(1):133-48.
31. Vissers LE, de Ligt J, Gilissen C, Janssen I, Steehouwer M, de Vries P, et al. A de novo paradigm for mental retardation. *Nat Genet.* 2010;42(12):1109-12.
32. Firth HV, Wright CF, Study DDD. The Deciphering Developmental Disorders (DDD) study. *Dev Med Child Neurol.* 2011;53(8):702-3.
33. Wright CF, McRae JF, Clayton S, Gallone G, Aitken S, FitzGerald TW, et al. Making new genetic diagnoses with old data: iterative reanalysis and reporting from genome-wide data in 1,133 families with developmental disorders. *Genet Med.* 2018.
34. Vissers LE, Gilissen C, Veltman JA. Genetic studies in intellectual disability and related disorders. *Nat Rev Genet.* 2016;17(1):9-18.
35. Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, van de Vorst M, van Bon BW, Willemsen MH, et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature.* 2014;511(7509):344-7.
36. Sawyer SL, Hartley T, Dymont DA, Beaulieu CL, Schwartzentruber J, Smith A, et al. Utility of whole-exome sequencing for those near the end of the diagnostic odyssey: time to address gaps in care. *Clin Genet.* 2016;89(3):275-84.
37. Rauch A, Wiczorek D, Graf E, Wieland T, Ende S, Schwarzmayr T, et al. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. *Lancet.* 2012;380(9854):1674-82.

38. van Karnebeek CD, Jansweijer MC, Leenders AG, Offringa M, Hennekam RC. Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. *Eur J Hum Genet.* 2005;13(1):6-25.
39. Murias K, Moir A, Myers KA, Liu I, Wei XC. Systematic review of MRI findings in children with developmental delay or cognitive impairment. *Brain Dev.* 2017;39(8):644-55.
40. Sobreira N, Schiettecatte F, Valle D, Hamosh A. GeneMatcher: a matching tool for connecting investigators with an interest in the same gene. *Hum Mutat.* 2015;36(10):928-30.
41. Wright CF, Fitzgerald TW, Jones WD, Clayton S, McRae JF, van Kogelenberg M, et al. Genetic diagnosis of developmental disorders in the DDD study: a scalable analysis of genome-wide research data. *Lancet.* 2015;385(9975):1305-14.
42. Jensen M, Girirajan S. Mapping a shared genetic basis for neurodevelopmental disorders. *Genome Med.* 2017;9(1):109.
43. Pounraja VK, Jayakar G, Jensen M, Kelkar N, Girirajan S. A machine-learning approach for accurate detection of copy number variants from exome sequencing. *Genome Res.* 2019;29(7):1134-43.
44. David Zhang SG, Sonia Garcia Ruiz, Beatrice Costa, Regina H. Reynolds, Karishma D'Sa, Wenfei Liu, Thomas Courtin, Amy Peterson, View ORCID Profile Andrew E. Jaffe, John Hardy, Juan Botia, Leonardo Collado-Torres, Mina Ryten. Incomplete annotation of disease-associated genes is limiting our understanding of Mendelian and complex neurogenetic disorders *bioRxiv.* 2019.



## Ouvrages de référence :

- “The Genetics of neurodevelopmental disorders”, Kevin J. Mitchell, Wiley Blackwell, 2015  
“Déficiences intellectuelles, Expertise Collective”, Instituts thématiques, INSERM, 2016

Titre :

Diagnostic étiologique de la déficience intellectuelle : résultats du séquençage d'exome en trio dans une cohorte de 818 patients

Résumé :

**Introduction :** La déficience intellectuelle (DI) est une affection cliniquement et génétiquement hétérogène qui concerne 1 à 3 % de la population mondiale. Des études récentes estiment qu'une origine génétique pourrait être retrouvée dans près de 60% de ces patients. Nous présentons ici les caractéristiques cliniques et génétiques d'une cohorte de patients atteints de DI et ayant bénéficié d'un séquençage d'exome en trio.

**Patients et méthodes :** 818 patients ont été inclus à partir de 2016 par le biais de consultations de génétique médicale et/ou neuro-pédiatrique. La DI était évaluée sur la base d'un bilan neuropsychologique ou une échelle adaptative lorsque disponible. L'ensemble des patients ont bénéficié, avant séquençage d'exome, d'une Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) ainsi que d'une recherche d'X-fragile.

**Résultats :** Le taux diagnostique global de l'étude a été de 41 % (338/818 patients). 41 variants ont été identifiés dans des gènes candidats de DI et ont contribué à leur validation en tant que gène de DI augmentant le taux diagnostique à 47% (379/818 patients). De façon surprenante, la sévérité de la DI n'a pas eu d'impact significatif sur le taux diagnostique (léger ID, 66/180, 37% - modéré à sévère ID, 108/419, 44%, p-value = 0.1997). D'autres paramètres, comme l'histoire familiale, l'épilepsie non pas été identifiés non plus comme potentiels facteurs influençant l'efficacité diagnostique du WES (p-value = 0.132 and 0.516).

**Conclusion :** Cette étude souligne l'hétérogénéité génétique majeure de la DI et confirme l'intérêt d'une approche par séquençage d'exome en trio dans le cadre de prise en charge étiologique.

Mots clés (français) :

Déficience intellectuelle, séquençage d'exome, génétique, diagnostic étiologique

Titre en anglais :

Genetic diagnosis of intellectual disability: results of trio-based whole exome sequencing in a cohort of 818 patients

Abstract :

**Introduction:** Intellectual disability (ID) is a clinically and genetically heterogeneous condition that affects 1 to 3% of the population worldwide. Recent improvements of next generation sequencing are giving rise to a drastic change in our medical approach. We present here the clinical and genetical characteristics of a large cohort of patients suffering from ID and which had a trio-based whole exome sequencing (WES).

**Patients and Methods:** 818 patients were recruited through clinical genetic and/or neuro-pediatric consultations. ID was assessed based on neuropsychological tests when available, DSM-5 classification was used otherwise. Prior to WES, DNA micro-array, Fragile-X syndrome testing and targeted-gene analysis in case of high syndromic suspicion were performed. If negative, trio-based WES was proposed. Molecular results were discussed in multidisciplinary team meetings before feed-back to patients.

**Results:** The global diagnostic yield was 41% across all patients (338/818 patients). 41 variants were found in candidate genes and contributed to their validation as "ID genes", rising the potential diagnostic yield to 47% (379/818 patients). Dominant variants were pre-eminent (81%) and most of them were *de novo* (95%) affecting 224 unique genes. Interestingly, the severity of ID had no significant effect on the diagnostic rate (mild ID, 66/180, 37% - moderate to profound ID, 108/419, 44%, p-value = 0.1997). Epilepsy and family history of ID were not identified neither as confounding factors (p-value = 0.132 and 0.516).

**Conclusion:** This study emphasizes the considerable genetic heterogeneity of ID and confirms the efficiency of trio-based WES for its exploration.

Keywords :

Intellectual Disability, exome sequencing, genetics

Université Paris Descartes  
Faculté de Médecine Paris Descartes  
15, rue de l'École de Médecine  
75270 Paris cedex 06