



HAL
open science

Variations de nombre de copies de susceptibilité aux troubles neurodéveloppementaux, à pénétrance incomplète et/ou expressivité variable : cas particulier des déséquilibres 16p13.11

Guillaume Garrigues

► **To cite this version:**

Guillaume Garrigues. Variations de nombre de copies de susceptibilité aux troubles neurodéveloppementaux, à pénétrance incomplète et/ou expressivité variable : cas particulier des déséquilibres 16p13.11. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-03958095

HAL Id: dumas-03958095

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03958095v1>

Submitted on 26 Jan 2023

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

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



UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE PHARMACIE

Année : 2022

N°

THESE D'EXERCICE
POUR LE DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
le 20 octobre 2022
par
Guillaume GARRIGUES

**Variations de nombre de copies de susceptibilité aux
troubles neurodéveloppementaux, à pénétrance incomplète
et/ou expressivité variable : Cas particulier des
déséquilibres 16p13.11**

Directrice de thèse : Madame Céline PEBREL-RICHARD, Docteur, CHU de Clermont-Ferrand
Service de Cytogénétique médicale

Présidente du jury : Madame Valérie LIVRELLI, Professeur, UFR de Pharmacie de
Clermont-Ferrand

Membres du jury :

- Madame Isabelle CREVEAUX, Professeur, UFR de Médecine et des professions Paramédicales de Clermont-Ferrand
- Madame Christine FRANCANNET, Docteur, CHU de Clermont-Ferrand, Service de Génétique médicale



UNIVERSITÉ CLERMONT AUVERGNE
UFR DE PHARMACIE

Année : 2022

N°

THESE D'EXERCICE
POUR LE DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
le 20 octobre 2022
par
Guillaume GARRIGUES

**Variations de nombre de copies de susceptibilité aux
troubles neurodéveloppementaux, à pénétrance incomplète
et/ou expressivité variable : Cas particulier des
déséquilibres 16p13.11**

Directrice de thèse : Madame Céline PEBREL-RICHARD, Docteur, CHU de Clermont-Ferrand
Service de Cytogénétique médicale

Présidente du jury : Madame Valérie LIVRELLI, Professeur, UFR de Pharmacie de
Clermont-Ferrand

Membres du jury :

- Madame Isabelle CREVEAUX, Professeur, UFR de Médecine et des professions Paramédicales de Clermont-Ferrand
- Madame Christine FRANCANNET, Docteur, CHU de Clermont-Ferrand, Service de Génétique médicale

PROFESSEURS des UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS(HDR)

Mme SAUTOU Valérie (pharmacien)

M. WALRAND Stéphane

PROFESSEURS des UNIVERSITES (HDR)

Mme ALRIC Monique

Mme BARTHOMEUF Chantal (pharmacien)

M. BEYSSAC Éric (pharmacien)

Mme CALDEFIE-CHEZET Florence (pharmacien)

M. CARDOT Jean-Michel (pharmacien)

M. CHAVIGNON Olivier

M. CHEZAL Jean-Michel

M. COUDERT Pascal (pharmacien)

Mme COURTEIX Christine

Mme FORESTIER Christiane (pharmacien)

M. GAUMET Vincent

Mme GUEIRARD Pascale (pharmacien)

Mme LIVRELLI Valérie (pharmacien)

M. MAUNIT Benoît

Mme RANCHON-COLE Isabelle (pharmacien)

Mme SAUVANT-ROCHAT Marie-Pierre (pharmacien)

Mme TERRAIL Laurence (pharmacien)

Mme VENNAT Brigitte (pharmacien)

MAITRES DE CONFERENCES

Mme ALBA DELGADO Cristina

Mme ARCHIMBAUD Christine (HDR) (pharmacien)

M. AUZELOUX Philippe (pharmacien)

M. BALAYSSAC David (HDR) (pharmacien)

M. BALESTRINO Damien (HDR)

Mme BEGOU Méline (pharmacien)

Mme BLANQUET-DIOT Stéphanie (HDR)

M. BONNET Jean-Louis

Mme BOYER Anne (pharmacien)

M. CIA David

Mme CIVIALE Marie-Ange (HDR) (pharmacien)

M. CHENNELL Philip (pharmacien)

M. CLUZEL Jacques (HDR)

Mme COLLIN Aurore (pharmacien)

Mme COUDERT Catherine (HDR) (pharmacien)

M. DEBITON Éric

Mme DECOMBAT Caroline (pharmacien)

Mme DELORT Laetitia (HDR)

M. DOLY Stéphane

Mme FARGES Marie-Chantal

Mme FELGINES Catherine (HDR) (pharmacien)

Mme GALMIER Marie-Josèphe (HDR) (pharmacien)

M. GARRAIT Ghislain (HDR)

M. GONCALVES-MENDES Nicolas

Mme HENNEQUIN-ROBIN Claire (pharmacien)

Mme LAINE Emmanuelle

Mme MAISONIAL Aurélie

M. MALLET Christophe

Mme MIQUEL Sylvie

M. MOREAU Emmanuel (HDR)

Mme PEYRODE Caroline (pharmacien)

Mme QUINTANA DA INES Mercedes

M. ROMOND Pierre-Charles (pharmacien)

M. ROSSARY Adrien (HDR) (pharmacien)

M. ROUZAIER Paul (HDR) (pharmacien)

Mme SAPIN Anne-Françoise (pharmacien)

Mme SAVANOVITCH Chantal

M. SENEJOUX François (pharmacien)

M. SION Benoit (pharmacien)

M. TALVAS Jérémie

Mme TY Nancy (pharmacien)

Mme VAREILLE Marjolaine

Mme VIVIER Magali (pharmacien)

Mme WEBER Valérie

M. WERSINGER Éric

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIES

Mme BEDHOMME Sabrina (pharmacien)

Mme BERNARD Lise (pharmacien)

Mme VAN LANDER Axelle (psychologue)

Mme LAFARGE Elodie (pharmacien)

Mme PERETON Bénédicte (pharmacien)



UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

PRESIDENTS HONORAIRES
UNIVERSITE D'AUVERGNE

: **JOYON** Louis
: **DOLY** Michel
: **TURPIN** Dominique
: **VEYRE** Annie
: **DULBECCO** Philippe
: **ESCHALIER** Alain

PRESIDENTS HONORAIRES
UNIVERSITE BLAISE PASCAL

: **CABANES** Pierre
: **FONTAINE** Jacques
: **BOUTIN** Christian
: **MONTEIL** Jean-Marc
: **ODOUARD** Albert
: **LAVIGNOTTE** Nadine

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE et
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE PLENIER
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE RESTREINT
VICE-PRESIDENTE DU CONSEIL D'ADMINISTRATION
VICE-PRESIDENT DE LA COMMISSION DE LA RECHERCHE
VICE PRESIDENTE DE LA COMMISSION DE LA
FORMATION ET DE LA VIE UNIVERSITAIRE
DIRECTEUR GENERAL DES SERVICES

: **BERNARD** Mathias
: **DEQUIEDT** Vianney
: **FOGLI** Anne
: **HENRARD** Pierre
: **PEYRARD** Françoise
: **PAQUIS** François



UFR DE MEDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMEDICALES

DOYENS HONORAIRES

: **DETEIX** Patrice
: **HAZAL** Jean

DOYEN
RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

: **CLAVELOU** Pierre
: **ROBERT** Gaëlle

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BACIN Franck - BEGUE René-Jean - BEYTOUT Jean - BOMMELAER Gilles - BOUCHER Daniel - BUSSIERE Jean-Louis - CANO Noël - CASSAGNES Jean - CATILINA Pierre - CHABANNES Jacques - CHAZAL Jean - CHIPPONI Jacques - CHOLLET Philippe - CITRON Bernard - COUDERT Jean - DASTUGUE Bernard - DAUPLAT Jacques - DECHELOTTE Pierre - DEMEOCQ François - DE RIBEROLLES Charles - DETEIX Patrice - ESCANDE Georges - Mme FONCK Yvette - MM. GENTOU Claude - Mme GLANDDIER Phyllis - MM. IRTIUM Bernard - JACQUETIN Bernard - Mme LAVARENNE Jeanine - MM. LAVERAN Henri - LESOURD Bruno - LEVAI Jean-Paul - MAGE Gérard - MARCHEIX Jean-Claude - MICHEL Jean-Luc - MONDIE Jean-Michel - PHILIPPE Pierre - PLAGNE Robert - PLANCHE Roger - PONSONNAILLE Jean - REY Michel - Mme RIGAL Danièle - MM. ROZAN Raymond - SCHOEFLER Pierre - SIROT Jacques - RIBAL Jean-Pierre - SOUTEYRAND Pierre - TANGUY Alain - TERVER Sylvain - THIEBLOT Philippe - TOURNILHAC Michel - VANNEUVILLE Guy - VIALLET Jean-François - Mlle VEYRE Annie

PROFESSEURS EMERITES :

MM. AUMAITRE Olivier - BOITEUX Jean-Paul - CHAMOIX Alain - DUBRAY Claude - ESCHALIER Alain - KEMENY Jean-Louis - LABBE André - Mme LAFEUILLE Hélène - MM. LEMERY Didier - LUSSON Jean-René

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

CLASSE EXCEPTIONNELLE

M.	VAGO Philippe	Histologie-Embryologie Cytogénétique
M.	AVAN Paul	Biophysique et Traitement de l'Image
M.	DURIF Franck	Neurologie
M.	BOIRE Jean-Yves	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M.	BOYER Louis	Radiologie et Imagerie Médicale option Clinique
M.	POULY Jean-Luc	Gynécologie et Obstétrique
M.	CANIS Michel	Gynécologie-Obstétrique
Mme	PENAULT-LLORCA Frédérique	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M.	BAZIN Jean-Etienne	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
M.	BIGNON Yves Jean	Cancérologie option Biologique
M.	BOIRIE Yves	Nutrition Humaine
M.	CLAVELOU Pierre	Neurologie
M.	GILAIN Laurent	O.R.L.
M.	LEMAIRE Jean-Jacques	Neurochirurgie
M.	CAMILLERI Lionel	Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M.	DAPOIGNY Michel	Gastro-Entérologie
M.	LLORCA Pierre-Michel	Psychiatrie d'Adultes

M.	PEZET Denis	Chirurgie Digestive
M.	SOUWEINE Bertrand	Réanimation Médicale
M.	BOISGARD Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
Mme	DUCLOS Martine	Physiologie
M.	SCHMIDT Jeannot	Médecine d'Urgence
M.	BERGER Marc	Hématologie
M.	GARCIER Jean-Marc	Anatomie-Radiologie et Imagerie Médicale
M.	ROSSET Eugénio	Chirurgie Vasculaire
M.	SOUBRIER Martin	Rhumatologie
M.	ABERGEL Armando	Hépatologie
Mlle	BARTHELEMY Isabelle	Chirurgie Maxillo-Faciale
M.	RUIVARD Marc	Médecine Interne

1ère CLASSE

M.	CAILLAUD Denis	Pneumo-phtisiologie
M.	VERRELLE Pierre	Radiothérapie option Clinique
M.	D'INCAN Michel	Dermatologie -Vénérologie
Mme	JALENQUES Isabelle	Psychiatrie d'Adultes
M.	GERBAUD Laurent	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
M.	TAUVERON Igor	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
M.	MOM Thierry	Oto-Rhino-Laryngologie
M.	RICHARD Ruddy	Physiologie
M.	SAPIN-DEFOUR Vincent	Biochimie et Biologie Moléculaire
M.	BAY Jacques-Olivier	Cancérologie
M.	COUDEYRE Emmanuel	Médecine Physique et de Réadaptation
Mme	GODFRAIND Catherine	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M.	LAURICHESSE Henri	Maladies Infectieuses et Tropicales
M.	TOURNILHAC Olivier	Hématologie
M.	CHIAMBARETTA Frédéric	Ophthalmologie
M.	FILAIRE Marc	Anatomie – Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M.	GALLOT Denis	Gynécologie-Obstétrique
M.	GUY Laurent	Urologie
M.	TRAORE Ousmane	Hygiène Hospitalière
M.	ANDRE Marc	Médecine Interne
M.	BONNET Richard	Bactériologie, Virologie
M.	CACHIN Florent	Biophysique et Médecine Nucléaire
M.	COSTES Frédéric	Physiologie
M.	FUTIER Emmanuel	Anesthésiologie-Réanimation
Mme	HENG Anne-Elisabeth	Néphrologie
M.	MOTREFF Pascal	Cardiologie
Mme	PICKERING Gisèle	Pharmacologie Clinique
M.	RABISCHONG Benoît	Gynécologie Obstétrique
M.	CHABROT Pascal	Radiologie et Imagerie Médicale
M.	DESCAMPS Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
Mme	HENQUELL Cécile	Bactériologie Virologie
M.	POMEL Christophe	Cancérologie – Chirurgie Générale

2ème CLASSE

Mme CREVEAUX Isabelle	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. FAICT Thierry	Médecine Légale et Droit de la Santé
Mme KANOLD LASTAWIECKA Justyna	Pédiatrie
M. TCHIRKOV Andréï	Cytologie et Histologie
M. CORNELIS François	Génétique
M. LESENS Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. AUTHIER Nicolas	Pharmacologie Médicale
M. BROUSSE Georges	Psychiatrie Adultes/Addictologie
M. BUC Emmanuel	Chirurgie Digestive
M. LAUTRETTE Alexandre	Néphrologie Réanimation Médicale
Mme BRUGNON Florence	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
M. ESCHALIER Romain	Cardiologie
M. MERLIN Etienne	Pédiatrie
Mme TOURNADRE Anne	Rhumatologie
M. DURANDO Xavier	Cancérologie
M. DUTHEIL Frédéric	Médecine et Santé au Travail
Mme FANTINI Maria Livia	Neurologie
M. SAKKA Laurent	Anatomie – Neurochirurgie
M. BOURDEL Nicolas	Gynécologie-Obstétrique
M. GUEZE Romain	Hématologie
M. POINCLOUX Laurent	Gastroentérologie
M. SOUTEYRAND Géraud	Cardiologie
M. EVRARD Bertrand	Immunologie
M. POIRIER Philippe	Parasitologie et Mycologie
Mme PHAM DANG Nathalie	Chirurgie Maxillo-Faciale et Stomatologie
Mme SARRET Catherine	Pédiatrie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

1ère CLASSE

M. CLEMENT Gilles	Médecine Générale
M. VORILHON Philippe	Médecine Générale

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

2ème CLASSE

Mme MALPUECH-BRUGERE Corinne	Nutrition Humaine
------------------------------	-------------------

PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES

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

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

HORS CLASSE

Mme CHAMBON Martine	Bactériologie Virologie
Mme BOUTELOUP Corinne	Nutrition
Mme FOGLI Anne	Biochimie Biologie Moléculaire
Mle GOUAS Laetitia	Cytologie et Histologie, Cytogénétique

1ère CLASSE

M. MORVAN Daniel	Biophysique et Traitement de l'Image
Mle GOUMY Carole	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
M. MARCEAU Geoffroy	Biochimie Biologie Moléculaire
Mme MINET-QUINARD Régine	Biochimie Biologie Moléculaire
M. ROBIN Frédéric	Bactériologie
Mle VERONESE Lauren	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
M. DELMAS Julien	Bactériologie
Mle MIRAND Audrey	Bactériologie Virologie
M. OUCHCHANE Lemlih	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M. LIBERT Frédéric	Pharmacologie Médicale
Mle COSTE Karen	Pédiatrie
Mle AUMERAN Claire	Hygiène Hospitalière
Mme CASSAGNES Lucie	Radiologie et Imagerie Médicale
M. LEBRETON Aurélien	Hématologie
M. BUISSON Anthony	Gastroentérologie
M. BOUVIER Damien	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. MAQDASY Salwan	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques
Mme NOURRISSON Céline	Parasitologie - Mycologie
Mme PONS Hanaë	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction

2ème CLASSE

M. JABAUDON-GANDET Matthieu	Anesthésiologie – Réanimation Chirurgicale
M. COLL Guillaume	Neurochirurgie
M. GODET Thomas	Anesthésiologie-Réanimation et Médecine Péri-Opératoire
M. LACHAL Jonathan	Pédopsychiatrie
M. MOUSTAFA Farès	Médecine d'Urgence

**MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES
DE MEDECINE GENERALE**

1ère CLASSE

Mme VAILLANT-ROUSSEL Hélène	Médecine Générale
-----------------------------	-------------------

2ème CLASSE

Mme LAPORTE Catherine	Médecine Générale
-----------------------	-------------------

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

HORS CLASSE

M. BLANCHON Loïc	Biochimie Biologie Moléculaire
M. MARCHAND Fabien	Pharmacologie Médicale
Mme VAURS-BARRIERE Catherine	Biochimie Biologie Moléculaire

CLASSE NORMALE

M. BAILLY Jean-Luc	Bactériologie Virologie
Mle AUBEL Corinne	Oncologie Moléculaire
Mle GUILLET Christelle	Nutrition Humaine
M. BIDEY Yannick	Oncogénétique
M. DALMASSO Guillaume	Bactériologie
M. PIZON Frank	Santé Publique
M. SOLER Cédric	Biochimie Biologie Moléculaire
M. GIRAUDET Fabrice	Biophysique et Traitement de l'Image
M. LOLIGNIER Stéphane	Neurosciences – Neuropharmacologie

Mme MARTEIL Gaëlle
M. PINEL Alexandre

Biologie de la Reproduction
Nutrition Humaine

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES

M. BERNARD Pierre
Mme ESCHALIER Bénédicte
Mme RICHARD Amélie
M. TESSIERES Frédéric
Mme ROUGE Laure

Médecine Générale
Médecine Générale
Médecine Générale
Médecine Générale
Médecine Générale

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

A Madame le Professeur Valérie LIVRELLI, Présidente du jury

Je vous remercie sincèrement de me faire l'honneur de présider ce jury et de bien vouloir juger ce travail.

A Madame le Professeur Isabelle CREVEAUX

Je vous remercie de faire partie de ce jury et d'évaluer cette thèse. Je vous remercie également pour tout le travail que vous accomplissez pour nous les internes, en tant que coordonnatrice du DES de biologie médicale.

A Madame le Docteur Christine FRANCANNET

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury et d'y apporter votre regard de clinicienne. Je vous remercie également pour ce semestre passé dans votre service, qui restera pour moi un moment extrêmement riche et épanouissant, tant sur le plan de la connaissance que sur le plan humain.

A Madame le Docteur Céline PEBREL-RICHARD, Directrice de thèse

Je te remercie de m'avoir fait confiance et d'avoir accepté de superviser ce travail. Je n'y serai pas arrivé sans toi et tous tes précieux conseils. J'ai énormément appris et je ressors de cette expérience grandi.

Aux collègues de tous les jours,

A toutes les personnes du laboratoire de cytogénétique du CHU

Merci pour votre gentillesse, votre implication dans ma formation et surtout, pour tous ces gâteaux que nous avons partagés. J'ai hâte de revenir.

A toutes les personnes du laboratoire de génétique de GenBio

Merci à tous pour votre accueil et pour l'aide que vous m'avez apporté au quotidien durant ce semestre hors du CHU.

A Monsieur le Docteur Stephan KEMENY

Un grand merci pour ce stage à GenBio où j'ai énormément appris. C'est avec toi que j'ai interprété mes premiers caryotypes. Merci également d'avoir été aussi compréhensif et de m'avoir laissé du temps pour finaliser ce travail.

A Laura, Clémence, Laurine et Antoine

Merci pour votre accueil et votre disponibilité. Je me souviendrai de ces pauses repas. J'ai trouvé en vous un peu plus que des collègues de travail. Je vous souhaite le meilleur pour la suite.

Aux proches,

A mes parents

Je vous remercie pour tout. Si je suis la personne que je suis aujourd'hui c'est grâce à vous. Vous m'avez donné sans concession et avez toujours cru en moi, et ce même dans les moments difficiles. La seule chose que j'espère c'est de pouvoir un jour apporter à mes enfants, autant que ce que vous m'avez apporté. On dit qu'on ne choisit pas sa famille mais s'il fallait le faire, je vous choiserais sans hésiter.

A ma sœur

Je suis content d'avoir, il y a déjà 27 ans, pu choisir d'avoir une sœur. Car l'histoire a montré que « oui » on pouvait choisir. Je te remercie également de souvent jouer le rôle de la grande sœur, en m'écoutant et me conseillant, car contrairement à moi, tu sais faire des choix. Je repense à tous ces moments que nous avons passés étant enfant, et j'espère qu'il y en aura pleins d'autres. Je me languis le 18 novembre où nous pourrons entamer en duo des aventures dans la région de Paldea.

A mes grands-parents

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi depuis que je suis petit. Pour votre soutien, votre bienveillance et tous ces moments passés en famille.

A Sindy

Merci pour tout ce que tu m'as apporté depuis 9 ans. J'ai trouvé en toi bien plus qu'une compagne. Tu es ma confidente, mon soutien dans les moments difficiles, tu sais me tempérer quand je râle ou quand je m'énerve et tu es même capable de m'écouter parler de longues heures de sujets plus ou moins intéressants... J'ai énormément évolué depuis que l'on s'est rencontré et si je suis l'homme que je suis aujourd'hui c'est en partie grâce à toi. Tu es une des meilleures choses qui me soit arrivée dans la vie et j'ai hâte de commencer notre nouvelle vie à quatre (oui je compte Eve !).

Au bureau des princesses de la FNSIP-BM 2019-2020

A Lucas, Aurélie, Nina, Gaëlle, Clémence, Anaïs, Antoine, Maxence, Laïly, Hugo, Alicia et Audrey. Une équipe de choc pour ce mandat à rallonge. Ça a été un plaisir d'avoir travaillé avec vous. Je me souviendrai longtemps de ces soirées passées à vos côtés et de cette AG parisienne incroyable qui nous a valu ce magnifique surnom de « bureau des princesses ». Merci pour tout.

A Charlette et Vincent

Vous êtes tous les deux des personnes extraordinaires. J'ai apprécié chacun des moments passés en votre compagnie. J'espère qu'un jour nous pourrons réaliser ce voyage que nous n'avons malheureusement pas pu faire à cause de la pandémie.

A tous les cointernes de biologie médicale

L'internat est un moment à part dans la vie. C'est un moment dans lequel on est enfin mis en situation, où on apprend chaque jour, et où l'on se forme à devenir le praticien que l'on sera demain. Mais c'est aussi un moment de convivialité, de rencontre et de partage. Je vous remercie pour tous ces moments passés ensemble, que ce soit en stage, au babyfoot, en soirée, au CrossFit ou ailleurs.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	20
1. Définition CNV :	21
2. Interprétation des CNV :	22
2.1 Critères d'interprétation :	22
2.1.1 Les données épidémiologiques :	22
2.1.2 Les données de ségrégation :	23
2.1.3 Les données structurales :	24
2.2 Recommandations internationales pour l'interprétation des CNV :	24
2.3 Classement des CNV selon l'ACMG :	26
2.3.1 Classe 1 : CNV bénin	30
2.3.2 Classe 2 : CNV probablement bénin.....	30
2.3.3 Classe 3 : VOUS (Variants Of Uncertain Significance)	30
2.3.4 Classe 4 : CNV probablement pathogène	31
2.3.5 Classe 5 : CNV pathogène.....	31
2.4. Vers une classe de CNV supplémentaire ? :	31
2.4.1 Définitions de la pénétrance incomplète et de l'expressivité variable :	31
2.4.2 Prévalence des PIEV :	33
2.4.3 Pénétrance incomplète des PIEV :	33
2.4.4 Expressivité variable des PIEV :	35
2.5 Les PIEV en France :	36
2.6 Les PIEV à l'étranger :	37
2.6.1 Les recommandations Belges en prénatal :	37
2.6.2 Les recommandations Canadiennes en prénatal :	38
2.6.3 Les recommandations Britanniques en prénatal :	39

3. Mécanismes impliqués dans la pénétrance incomplète et l'expressivité variable :.....	40
3.1 Les variations causales :.....	41
3.1.1 Localisations et conséquences des variants :.....	41
3.1.2 Nombre de répétitions d'un triplet de nucléotides :	42
3.2 L'expression des gènes :	43
3.2.1 Balance allélique :.....	43
3.2.2 L'épissage alternatif :	43
3.2.3 Les éléments régulateurs :	44
3.2.4 Le mosaïcisme :	44
3.2.5 L'épigénétique :.....	45
3.3 Les modifications globales :.....	45
3.3.1 Le « two-hit model » :	45
3.3.2 Modèle du « other-hits » :	47
3.3.3 Le background familial :	49
3.3.4 Le phénotype parental :	50
3.3.5 Effet de genre :.....	50
3.3.6 Effet de l'âge :.....	51
3.3.7 Effet de l'environnement :	52
4. Autour d'un exemple :.....	53
4.1 Les CNV récurrents de la région 16p13.11 :	53
4.2 Les microdélétions 16p13.11 :.....	56
4.3 Les microduplications 16p13.1 :	57
5. Objectifs :.....	58
MATERIELS ET METHODES	60
1. Techniques de cytogénétique :.....	61
1.1 Analyse Chromosomique sur Puce à ADN :.....	61

1.2 Confirmation par FISH :.....	65
1.3 Confirmation par QMF-PCR :	66
RESULTATS	68
1. Données cliniques et épidémiologiques :.....	69
1.1 Les délétions 16p13.11 :	69
1.2 Les duplications 16p13.11 :.....	69
2. Caractéristiques cytogénétiques et transmission parentale :.....	70
2.1 Les délétions 16p13.11 :	70
2.1 Les duplications 16p13.11 :.....	71
DISCUSSION	72
CONCLUSION	79
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	82

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

TABLEAUX :

Tableau I. Système de scoring fourni dans le guide de l'ACMG 2020 pour les délétions (38)	27
Tableau II. Pénétrances estimées des PIEV selon Rosenfeld et al. (54).....	34
Tableau III. Listes des CNV considérés comme PIEV par le réseau français AchroPuce (43)...	36
Tableau IV. Liste des CNV « susceptibility » à reporter ou non sur le compte-rendu en prénatal selon le BEMAPRE (52)	38
Tableau V. Liste des « neuro-susceptibility loci » à reporter ou non sur le compte-rendu en prénatal selon le JCGM (60)	39
Tableau VI. Résumé et fréquences des caractéristiques cliniques présentent chez les porteurs d'une délétion 16p13.11 selon Tropeano et al. (146).....	57
Tableau VII. Résumé et fréquences des caractéristiques cliniques chez les porteurs d'une duplication 16p13.11 selon Allach El Khattabi et al. (149)	58
Tableau VIII. Caractéristiques cliniques des patients de notre cohorte porteurs de délétions de la région 16p13.11.....	69
Tableau IX. Caractéristiques cliniques des patients de notre cohorte porteurs de duplications de la région 16p13.11.....	70
Tableau X. Caractéristiques cytogénétiques des délétions 16p13.11 et transmission parentale pour chaque patient.....	71
Tableau XI. Caractéristiques cytogénétiques des duplications 16p13.11 et transmission parentale pour chaque patient	71

FIGURES :

Figure 1. Représentation de la pénétrance incomplète et de l'expressivité variable selon Kingdom et Wright (47).....	32
Figure 2. Variabilité phénotypique chez les porteurs de CNV impliqués dans les TND (49) ...	35
Figure 3. Schématisation du modèle du seuil selon Kingdom et Wright (62).....	40
Figure 4. Fréquence d'un deuxième variant (> 500 kb) chez des patients porteurs de CNV impliqués dans les TND (106).....	46
Figure 5. Illustration du modèle du "other-hits" (108)	48
Figure 6. Corrélation entre l'histoire familiale, la charge en « other-hits » et la sévérité du phénotype chez les porteurs de délétion 16p12.1 (108).....	49

Figure 7. Baisse du QI suivant le QI parental (116)	50
Figure 8. Schématisation de la recombinaison génétique (140).....	54
Figure 9. Illustration du mécanisme de recombinaison homologue non allélique (141)	55
Figure 10. Organisation de la région 16p13.11 (142)	56
Figure 11. Schématisation de la technique de CGH-array (152).....	62
Figure 12. Schématisation de l'hybridation dye-swap en quatuor (153).....	63
Figure 13. Représentation graphique du rapport de fluorescence patient (rouge)/témoin (vert) (154)	64
Figure 14. Schématisation de la technique de FISH (157)	66
Figure 15. Schématisation de la technique de QMF-PCR (160)	67

LISTE DES ABBREVIATIONS

AA : Acide Aminé

ACMG : American College of Medical Genetics

ACPA : Analyse Chromosomique sur Puce à ADN

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ARN : Acide RiboNucléique

ARNm : ARN messenger

BEMAPRE : BElgian MicroArray PREnatal consortium

CGH-array : Comparative Genomic Hybridization-array

ClinGen : Clinical Genome Ressource

CMT : Charcot-Marie-Tooth

CNP : Copy Number Polymorphism

CNV : Copy Number Variants

DAPI : 4',6-diamidino-2-phénylindole

DGV : Database of Genomic Variants

DI : Déficience intellectuelle

FISH : Fluorescence In Situ Hybridization

FTO : FaT mass and Obesity-associated protein

JCGM : Joint Committee on Genomics in Medicine

kb : Kilobase

LCR : Low Copy Repeats

LOEUF : Loss-of-function Observed/Expected Upper bound Fraction

Mb : Mégabase

miARN : MicroARN

NAHR : Non Allelic Homologus Recombinaison

NMD : Nonsense-Mediated Decay

NMDA : A N-méthyl-D-aspartique

OR : Odds Ratio

pb : Paire de base

PCR : Polymerase Chain Reaction

PIEV : CNV de susceptibilité aux troubles neurodéveloppementaux à Pénétrance Incomplète et/ou Expressivité Variable

pLI : Probability of being loss-of-function Intelorant

PLS : Pathogenicity Likelihood Score

PRS : Polygenic risk score

QMF-PCR : Quantitative Multiplex PCR of short Fluorescent fragments-PCR

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

SNV : Single Nucleotide Variant

STR : Short Tandem Repeat

SV : Structural Variations

TAD : Topologically Associating Domains

TC : Trouble du comportement

TED : Troubles envahissant du développement

TND : Troubles du NeuroDéveloppement

TSA : Troubles du spectre autistique

VOUS : Variants Of Uncertain Significance

vQTL : Variances Quantitative Trait Loci

INTRODUCTION

1. Définition CNV :

L'acide désoxyribonucléique (ADN) est le support de toute l'information génétique, appelée génome, permettant le développement, le fonctionnement et la reproduction des êtres vivants. Il change constamment, ce qui lui permet d'évoluer et de s'adapter. Les variations du génome humain sont de différents types, de l'anomalie visible au caryotype à la variation nucléotidique. Ces dernières sont nommées SNV pour Single Nucleotide Variant. Elles correspondent à une substitution d'un seul nucléotide pouvant aboutir à un changement d'acide aminée (AA). On parle de variation synonyme si l'AA est conservé, de variation faux-sens si l'AA est modifié et de variation non-sens si le changement nucléotidique introduit un codon stop (1). Les petites délétions et/ou insertions < 1 kb (kilobases) sont nommées Indel (2). Les variations de structure, également nommées SV pour Structural Variations, impliquent des régions d'ADN > 1 kb correspondant à des insertions, des inversions et des translocations équilibrées ou des déséquilibres génomiques (duplications et délétions), communément appelés variations de nombre de copies ou CNV pour Copy Number Variants. Les CNV concernent en moyenne 4,8 à 9,5 % de la totalité du génome de chaque individu (3). Ce sont des réarrangements déséquilibrés de l'ADN, correspondant à un gain ou une perte de matériel génétique pouvant entraîner ou non un effet sur le phénotype. Les premières descriptions de l'implication phénotypique d'un CNV remontent à presque 100 ans chez la drosophile (4). Ce n'est que vers la fin des années 90, après la découverte des bases moléculaires des syndromes génétiques bien connus tels que les syndromes de Smith-Magenis (5), de Di George (6) ou encore de Williams-Beuren (7), que le rôle important des CNV en génétique humaine a été démontré (8). Avec l'émergence des techniques moléculaires, notamment l'ACPA (Analyse Chromosomique sur Puce à ADN), l'approche phénotypique a été peu à peu remplacée par l'approche génotypique, entraînant la découverte de CNV de plus en plus petits avec un impact clinique parfois difficile à évaluer. C'est en 2004 qu'ont été découverts les premiers CNV sans effet pathogène (9),(10) appelés CNP pour Copy Number Polymorphism, et qui sont définis par une fréquence > 1 % dans la population (11). De la même manière, un SNV présent chez plus de 1 % de la population sera nommé SNP pour Single Nucleotide Polymorphism (12). Depuis, une centaine de gènes dont la délétion est sans conséquence phénotypique a été répertoriée. En 2004 a été créée la Database of Genomic Variants (DGV), (13) qui est une base de données issues de l'évaluation de populations contrôles qui contenait à ces débuts, un

millier de CNV et quelques inversions, provenant de quelques centaines d'individus apparemment sains (14), et qui de nos jours répertorie plus de 8 000 000 de CNV (15).

Aujourd'hui, la recherche de CNV par les techniques d'ACPA est recommandée en première intention en postnatal chez les individus présentant une anomalie du développement (déficience intellectuelle (DI) isolée ou syndromique, des troubles du spectre autistique (TSA) ...) et/ou des malformations congénitales (16).

L'ACPA est également recommandée en prénatal (17),(18),(19) car elle permet de détecter 6,8 % de CNV pathogènes non visibles au caryotype en présence de signes d'appel échographiques chez le fœtus (20) et 1,2 % en l'absence de signes d'appel échographiques (21). En France, le réseau AchroPuce recommande, dans son guide de bonnes pratiques en diagnostic prénatal, de réaliser une ACPA en cas d'hyperclarté nucale $\geq 3,5$ mm, de retard de croissance intra-utérin $\leq 3^{\text{ème}}$ percentile et de syndrome polymalformatif (22). L'augmentation du rendement diagnostique par rapport au caryotype dans ces indications est respectivement de 4 % en cas d'hyperclarté nucale (23), 4 % en cas de retard de croissance intra-utérin (24) et de 9.1 % en cas de syndrome polymalformatif (20). Certains CNV ont été amplement décrits dans la littérature comme ceux responsables de syndromes microdélétionnels. Cependant, la plupart sont uniques et génèrent des difficultés d'interprétation.

2. Interprétation des CNV :

Le rôle du cytogénéticien est de proposer une classification pour chaque CNV selon un faisceau d'arguments comme : les données épidémiologiques, les données de ségrégation familiale et les données structurales ; et d'évaluer sa pathogénicité, chez un patient donné, selon le contexte clinico-biologique et les connaissances scientifiques disponibles au moment de l'interprétation.

2.1 Critères d'interprétation :

2.1.1 Les données épidémiologiques :

Il existe des bases de données de populations contrôles comme DGV, GnomAD... ; et des bases de données patients comme OMIM, UCSC, Ensembl, DECIPHER, ClinGen, ClinVar, LOVD... Les bases de données contrôles permettent d'évaluer la fréquence d'une variation génomique au sein de la population générale. Les bases de données patients regroupent une population de patients porteurs d'une variation génomique et atteints de différents syndromes ou pathologies. Le biologiste peut aussi se servir de bases de données internes au laboratoire afin

de classer plus facilement les CNV déjà rencontrés. Le fait qu'un CNV soit fréquemment retrouvé dans la population générale est en faveur de son caractère bénin alors qu'un CNV fréquemment retrouvé chez des individus présentant le même phénotype pathologique sera plus souvent pathogène.

Les bases de données apportent de nombreuses informations mais elles présentent toutefois certaines limites :

- Les techniques ne sont pas les mêmes dans tous les laboratoires ce qui peut générer des variations mineures sur la taille du CNV ;
- Le sexe chromosomique n'est pas toujours renseigné ce qui peut poser un problème pour les CNV impliquant le chromosome X ;
- En règle générale, les variations issues de grandes populations témoins ne sont pas vérifiées par une autre technique, ce qui peut entraîner des discordances ;
- Certains facteurs comme la pénétrance incomplète, l'expressivité variable, l'âge de déclaration de la pathologie ou encore l'empreinte parentale ne sont pas pris en compte ;
- Un même patient peut faire l'objet de plusieurs publications et être enregistré dans plusieurs bases de données ;
- Les témoins ne sont pas exempts d'autres pathologies, c'est-à-dire qu'un individu avec une malformation cardiaque peut être considéré comme population contrôle dans une étude sur la DI ;
- Un CNV peut être bénin à l'état hétérozygote mais pathogène à l'état homozygote.

2.1.2 Les données de ségrégation :

Les CNV *de novo* sont plus fréquemment impliqués en pathologie. Dans les retards de développement par exemple, la prévalence d'un CNV hérité a été évaluée à 0,34 % (25). Le caractère *de novo* est donc en faveur de la pathogénicité d'un CNV. A l'inverse, 99 % des CNP sont hérités (26). Il y a cependant des exceptions à ce modèle. Un CNV peut être :

- Un variant pathogène familial,
- Une variation à pénétrance incomplète et/ou expressivité variable,
- Une délétion héritée révélant une maladie récessive,
- Une variation à transmission liée à l'X,
- Peut concerner une région soumise à empreinte,

- Être présent en mosaïque chez le parent porteur,
- Avoir une taille différente entre le patient et le parent porteur

2.1.3 Les données structurales :

- Taille :

Dans une population apparemment saine, 5 à 10 % des individus sont porteurs d'un CNV > 500 kb et seulement 1 à 2 % d'un CNV > 1Mb (mégabase) (27). De plus, il existe un risque 20 fois supérieur d'être atteint d'une maladie en étant porteur d'un CNV > 1.5 Mb et un risque 50 fois supérieur pour un CNV > 3Mb (28). On peut en déduire que plus un CNV est grand plus il a de chance d'avoir un effet pathogène.

- Contenu génique :

De manière générale, plus un CNV implique une séquence riche en gènes plus il sera considéré comme pathogène et inversement (29). Cependant, tous les gènes n'ont pas la même sensibilité au dosage génique. Certains seront intolérants à la perte de fonction/délétion (haploinsuffisance), d'autres au gain de fonction/duplication (triplosensibilité) (30),(31). L'haploinsuffisance peut être estimée par le score pLI (pour « probability of being loss-of-function Intelorant) (32) ou le score LOEUF (pour Loss-of-function Observed/Expected Upper bound Fraction) (33). Récemment, une équipe a conçu un modèle médié par intelligence artificielle, pour prédire la probabilité de sensibilité au dosage génique pour tous les gènes autosomiques (34). Il s'agit des scores pHaplo et pTriplo qui ont été rajoutés dans DECIPHER le 24 août 2022 (35). Il a déjà été observé que 100 gènes pouvaient être retirés du génome sans produire de conséquences phénotypiques apparentes (3).

- Nombre de copies :

En règle générale, une variation du nombre de copies < 1 (délétion homozygote) ou > 3 (triplication ou amplification) est un facteur supplémentaire en faveur du caractère pathogène du CNV.

2.2 Recommandations internationales pour l'interprétation des CNV :

Le nombre de critères à prendre en considération est important et la pondération de chaque critère requiert une homogénéisation des pratiques professionnelles pour limiter la variabilité inter et intra-laboratoire dans le classement des CNV, selon le biologiste chargé de

l'interprétation. Dans cette optique, l'« American College of Medical Genetics » (ACMG) a organisé un groupe de travail qui a proposé les premières recommandations internationales en 2011 (36). On y retrouve les différents critères à considérer pour interpréter un CNV et l'identification de 3 classes dans lesquelles les assigner. Un CNV peut être « pathogène », « bénin » ou alors de « signification incertaine ». Cette classification doit être mentionnée sur le compte-rendu.

Les recommandations ont été actualisées en 2015 (37) par l'ACMG, l'« Association for Molecular Pathology » et le « College of American Pathologists ». Deux nouvelles classes ont été ajoutées : « probablement bénin » ou « probablement pathogène ». Elles sont réservées aux CNV pour lesquels il existe une certitude > 90 % quant à leur caractère pathogène ou bénin mais dont les données actuelles ne permettent pas encore de les classer définitivement « pathogène » ou « bénin ».

Enfin, une dernière version a été proposée en 2020 (38), par un groupe de travail constitué de membres de l'ACMG et du National Institutes of Health, fondateurs du projet « Clinical Genome Ressource » (ClinGen), se consacrant à la création d'une ressource centrale définissant la pertinence clinique des gènes et des variants en vue de leur utilisation dans la médecine de précision et la recherche (39). Ces nouvelles recommandations introduisent un système de pondération pour chaque critère et encourage la mise en œuvre du système de classification à 5 niveaux (bénin, probablement bénin, probablement pathogène, pathogène et de signification incertaine), comme proposé dans la version 2015. Il recommande également de découpler la classification d'un CNV fondée sur des preuves de l'évaluation de son implication dans le phénotype. C'est-à-dire qu'un CNV peut être classé pathogène sans pour autant correspondre au phénotype du patient. On parlera alors de données incidentes ou secondaires. Il s'agit de résultats sans relation directe avec l'indication initiale. Les données incidentes sont de découverte fortuite alors que les données secondaires sont recherchées activement, comme lors de l'analyse d'un panel de gènes. Les données incidentes relèvent de la recherche diagnostique alors que les données secondaires font partie d'une démarche de dépistage et relèvent de la médecine prédictive (40).

2.3 Classement des CNV selon l'ACMG :

Comme évoqué précédemment, la dernière version du guide est associée à un système de notation rassemblant l'ensemble des items à considérer pour interpréter un variant. Il est représenté sous forme de tableaux divisés en 5 sections (**tableau I**) :

- L'évaluation initiale du contenu génique,
- Le chevauchement avec des gènes/régions génomiques préalablement établis comme haploinsuffisants ou bénins,
- L'évaluation du nombre de gènes,
- L'évaluation des données issues de la littérature scientifique, de bases de données publiques et/ou de données de laboratoire internes,
- L'étude de ségrégation parentale/familiale.

En pratique, il existe deux types de notation, une pour les pertes et une pour les gains de nombre de copies. Un score, allant de -1 à 1 pour chaque critères est attribué, permettant de déterminer une classe pour chaque CNV parmi les 5 proposées. Pour faciliter l'utilisation de ce système, un outil d'aide à la classification nommé « ClinGen CNV Interpretation Calculator » est disponible depuis le lien suivant : <https://cnvcalc.clinicalgenome.org/cnvcalc/>.

Table 1 CNV interpretation scoring metric: copy-number loss

Evidence type	Evidence	Suggested points/case	Max score
Section 1: Initial assessment of genomic content	Copy-number loss content		
	<p>1A. Contains protein-coding or other known functionally important elements.</p> <p>1B. Does NOT contain protein-coding or any known functionally important elements.</p>	0 (Continue evaluation) -0.60	0 -0.60
Section 2: Overlap with established/predicted haploinsufficiency (HI) or established benign genes/genomic regions (Skip to section 3 if your copy-number loss DOES NOT overlap these types of genes/regions)	Overlap with ESTABLISHED HI genes or genomic regions and consideration of reason for referral		
	<p>2A. Complete overlap of an established HI gene/genomic region.</p> <p>2B. Partial overlap of an established HI genomic region</p> <ul style="list-style-type: none"> The observed CNV does NOT contain the known causative gene or critical region for this established HI genomic region OR Unclear if known causative gene or critical region is affected OR No specific causative gene or critical region has been established for this HI genomic region <p>2C. Partial overlap with the 5' end of an established HI gene (3' end of the gene not involved)...</p> <p>2C-1. ...and coding sequence is involved</p> <p>2C-2. ...and only the 5' UTR is involved</p> <p>2D. Partial overlap with the 3' end of an established HI gene (5' end of the gene not involved)...</p> <p>2D-1. ...and only the 3' untranslated region is involved.</p> <p>2D-2. ...and only the last exon is involved. Other established pathogenic variants have been reported in this exon.</p> <p>2D-3. ...and only the last exon is involved. No other established pathogenic variants have been reported in this exon.</p> <p>2D-4. ...and it includes other exons in addition to the last exon. Nonsense-mediated decay is expected to occur.</p> <p>2E. Both breakpoints are within the same gene (intra-genic CNV; gene-level sequence variant).</p>	1.00 0 (Continue evaluation) 0.90 (range: 0.45 to 1.00) 0 (range: 0 to 0.45) See categories below 0 (Continue evaluation) 0.90 (range: 0.45 to 0.90) 0.30 (range: 0 to 0.45) 0.90 (range: 0.45 to 1.00)	1.00 0 1.00 0.45 0 0.90 0.45 1.00
		See ClinGen SVI working group PVS1 specifications	See categories at left
		<ul style="list-style-type: none"> PVS1 = 0.90 (Range: 0.45 to 0.90) PVS1_Strong = 0.45 (Range: 0.30 to 0.90) PVS1_Moderate or PM4 (in-frame indels) = 0.30 (Range: 0.15 to 0.45) PVS1_Supporting = 0.15 (Range: 0 to 0.30) 	

Tableau I. Système de scoring fourni dans le guide de l'ACMG 2020 pour les délétions (38)

• N/A = No points, but continue evaluation

Overlap with ESTABLISHED benign genes or genomic regions	2F. Completely contained within an established benign CNV region.	-1	-1
Haploinsufficiency predictors	2G. Overlaps an established benign CNV, but includes additional genomic material. 2H. Two or more HI predictors suggest that AT LEAST ONE gene in the interval is HI.	0 (Continue evaluation) 0.15	0 0.15
Section 3: Evaluation of gene number			
Number of protein-coding RefSeq genes wholly or partially included in the copy-number loss	3A. 0-2.4 genes 3B. 2.5-3.4 genes 3C. 3.5+ genes	0 0.45 0.90	0 0.45 0.90
Section 4: Detailed evaluation of genomic content using cases from published literature, public databases, and/or internal lab data (Skip to section 5 if either your CNV overlapped with an established HI gene/region in section 2, OR there have been no reports associating either the CNV or any genes within the CNV with human phenotypes caused by loss of function [LOF] or copy-number loss)			
Individual case evidence—de novo occurrences	Reported proband (from literature, public databases, or internal lab data) has either: • A complete deletion of or a LOF variant within gene encompassed by the observed copy-number loss OR • An overlapping copy-number loss similar in genomic content to the observed copy-number loss AND... 4A. ...the reported phenotype is highly specific and relatively unique to the gene or genomic region.	See categories below • A complete deletion of or a LOF variant within gene encompassed by the observed copy-number loss OR • An overlapping copy-number loss similar in genomic content to the observed copy-number loss AND... 4A. ...the reported phenotype is highly specific and relatively unique to the gene or genomic region.	0.90 (total) Confirmed de novo: 0.45 points each Assumed de novo: 0.30 points each (range: 0.15 to 0.45)
Individual case evidence—inconsistent phenotype	4B. ...the reported phenotype is consistent with the gene/genomic region, is highly specific, but not necessarily unique to the gene/genomic region. 4C. ...the reported phenotype is consistent with the gene/genomic region, but not highly specific and/or with high genetic heterogeneity.	Confirmed de novo: 0.30 points each Assumed de novo: 0.15 point each (range: 0 to 0.45) Confirmed de novo: 0.15 point each Assumed de novo: 0.10 point each (range: 0 to 0.30)	-0.30 (total) 0.30 (total)
Individual case evidence—unknown inheritance	4D. ...the reported phenotype is NOT consistent with what is expected for the gene/genomic region or not consistent in general. 4E. Reported proband has a highly specific phenotype consistent with the gene/genomic region, but the inheritance of the variant is unknown.	0 points each (range: 0 to -0.30)	-0.30 (total)
Individual case evidence—segregation among similarly affected family members	4F. 3-4 observed segregations 4G. 5-6 observed segregations 4H. 7 or more observed segregations	0.10 points each (range: 0 to 0.15) 0.15 0.30 0.45	0.30 (total)
Individual case evidence—nons segregations	4I. Variant is NOT found in another individual in the proband's family AFFECTED with a consistent, specific, well-defined phenotype (no known phenocopies). 4J. Variant IS found in another individual in the proband's family UNAFFECTED with the specific, well-defined phenotype observed in the proband.	-0.45 points per family (range: 0 to -0.45) -0.30 points per family (range: 0 to -0.30)	-0.90 (total) -0.90 (total)

4K. Variant is found in another individual in the proband's family UNAFFECTED with the nonspecific phenotype observed in the proband.	-0.15 points per family (range: 0 to -0.30 (total))
4L. Statistically significant increase amongst observations in cases (with a consistent, specific, well-defined phenotype) compared with controls.	0.45 per study (range: 0 to 0.45 per study) 0.45 (total)
4M. Statistically significant increase amongst observations in cases (without a consistent, nonspecific phenotype OR unknown phenotype) compared with controls.	0.30 per study (range: 0 to 0.30 per study) 0.45 (total)
4N. No statistically significant difference between observations in cases and controls.	-0.90 (per study) (range: 0 to -0.90 per study) -1 (range: 0 to -1) -1
4O. Overlap with common population variation.	-1
Section 5: Evaluation of inheritance pattern/family history for patient being studied	
Observed copy-number loss is de novo	Use appropriate category from de novo scoring section in section 4. 0.45
Observed copy-number loss is inherited	5B. Patient with specific, well-defined phenotype and no family history. CNV is inherited from an apparently unaffected parent. -0.30 (range: 0 to -0.45) -0.45
	5C. Patient with nonspecific phenotype and no family history. CNV is inherited from an apparently unaffected parent. -0.15 (range: 0 to -0.30) -0.30
	5D. CNV segregates with a consistent phenotype observed in the patient's family. Use segregation scoring categories from section 4 (4F-4H) to determine score 0.45
Observed copy-number loss—nons segregations	5E. Use appropriate category from nons segregation section in section 4. Use nonsegregation scoring categories from section 4 (4I-4K) to determine score -0.45
Other	5F. Inheritance information is unavailable or uninformative. 0 0
	5G. Inheritance information is unavailable or uninformative. The patient phenotype is nonspecific, but is consistent with what has been described in similar cases. 0.10 (range: 0 to 0.15) 0.15
	5H. Inheritance information is unavailable or uninformative. The patient phenotype is highly specific and consistent with what has been described in similar cases. 0.30 (range: 0 to 0.30) 0.30

Only those CNVs otherwise meeting the reporting thresholds determined by your laboratory should be evaluated using this metric. See Supplemental Material 1 for a detailed description of each evidence category. Scoring: pathogenic 0.99 or more points, likely pathogenic 0.90 to 0.98 points, variant of uncertain significance 0.89 to -0.89 points, likely benign -0.90 to -0.98 points, benign -0.99 or fewer points. CNV copy-number variant, SVI sequence variant interpretation, UTR untranslated region.

2.3.1 Classe 1 : CNV bénin

Les CNV bénins sont ceux pour lesquels le score ACMG est $\leq -0,99$. Ces CNV ont généralement été rapportés plusieurs fois dans la littérature et/ou ont été retenus comme des polymorphismes dans plusieurs bases de données témoins et/ou sont rencontrés chez plus de 1 % de la population générale.

2.3.2 Classe 2 : CNV probablement bénin

Les CNV probablement bénins sont ceux pour lesquels le score ACMG est compris entre $-0,90$ et $-0,98$. En général, il existe des preuves solides soutenant le fait que ces variants ne sont probablement pas impliqués dans une maladie mendélienne, mais il n'existe pas encore suffisamment de preuves pour l'affirmer de manière définitive. Les CNV de cette classe sont plus susceptibles d'être réévalués comme bénins avec l'évolution des connaissances.

2.3.3 Classe 3 : VOUS (Variants Of Uncertain Significance)

Les variations de signification incertaine sont celles pour lesquelles le score ACMG est compris entre $-0,89$ et $0,89$ et qui ne remplissent pas suffisamment de critères pour appartenir à une autre classe. Au moment de l'identification et de l'interprétation, si les preuves sont insuffisantes pour déterminer avec certitude une signification clinique définitive, le CNV doit alors être décrit comme un variant de signification inconnue (41). Le statut des CNV regroupés dans cette classe est susceptible d'évoluer au fur et à mesure de l'avancée des connaissances (42). Parmi ces VOUS peuvent figurer :

- Un CNV de grande taille mais ne contenant aucun gène,
- Un CNV décrit chez un petit nombre de cas dans la population générale mais pas à une fréquence assez élevée pour être considéré comme un polymorphisme,
- Un CNV contenant un petit nombre de gènes et dont la sensibilité au dosage génique ou la tolérance vis-à-vis d'une variation perte de fonction n'est pas établie,
- Un CNV décrit dans de multiples publications et/ou bases de données contradictoires sans conclusion ferme concernant la signification clinique,
- Un CNV correspondant à une variation intragénique dont l'effet sur la transcription n'est pas établi.

2.3.4 Classe 4 : CNV probablement pathogène

Les CNV probablement pathogènes sont ceux pour lesquels le score ACMG est compris entre 0,90 et 0,98. En général, il existe des preuves solides qui soutiennent leur implication dans le phénotype du patient mais qui ne sont pas suffisantes pour affirmer définitivement leur pathogénicité. Les CNV de cette classe seront généralement susceptibles d'être reclassés pathogènes au fur et à mesure de l'évolution des connaissances.

2.3.5 Classe 5 : CNV pathogène

Les CNV pathogènes sont ceux pour lesquels le score ACMG est $\geq 0,99$. Cette classe regroupe les CNV pour lesquels il existe de forts arguments bibliographiques en faveur de leur caractère pathogène. En pratique il s'agit des CNV impliqués dans les syndromes microdélétionnels/microduplicationnels connus, les CNV documentés plus de trois fois dans la littérature avec un phénotype concordant et spécifique, les CNV chevauchant entièrement des CNV pathogènes et/ou les CNV contenant au moins un gène haploinsuffisant majeur.

Le classement ACMG est une référence majeure mais il existe des spécificités/adaptations selon les pays.

2.4. Vers une classe de CNV supplémentaire ? :

Le réseau AchroPuce, regroupant l'ensemble des laboratoires français ayant mis en place l'ACPA en routine diagnostique, recommande d'ajouter une classe supplémentaire à celles proposées par l'ACMG. Il s'agit de la classe « PIEV » pour les CNV de susceptibilité aux troubles neurodéveloppementaux (TND) à Pénétrance Incomplète et/ou Expressivité Variable (43). Ils correspondent à des facteurs de risque génétique aux TND, souvent hérités et susceptibles de présenter une expressivité variable. La délétion 15q13.3 figure parmi les premiers PIEV décrits et est considérée comme facteur de risque au retard de développement, à la schizophrénie, à l'épilepsie et également à l'autisme (44).

2.4.1 Définitions de la pénétrance incomplète et de l'expressivité variable :

- Pénétrance :

La pénétrance est définie comme la proportion d'individus qui possède un génotype particulier et qui exprime le phénotype attendu pour ce génotype (45),(46). Si tous les individus porteurs du génotype présentent des symptômes cliniques à un âge donné, on dit

que le génotype est totalement pénétrant, alors qu'en dessous de ce seuil, on dit qu'il présente une pénétrance « réduite » ou « incomplète ». Ce qui revient à dire que la pénétrance est incomplète à partir du moment où elle n'est pas équivalente à 100 %. A noter que la pénétrance incomplète peut être observée dans les pathologies dominantes mais aussi récessives (47).

- Expressivité :

L'expressivité est le degré d'expression d'un phénotype (son intensité) chez un individu possédant le génotype correspondant (48). Elle est dite « variable » quand la sévérité du phénotype causée par le même génotype, varie chez les individus affectés.

Les CNV impliqués dans les TND (comme les PIEV), perturbent l'homéostasie du développement neuronal normal, et entraînent une large variété de troubles faisant partie d'un continuum neurodéveloppemental (49). Les TND sont donc à considérer comme un spectre de maladie et une variabilité de l'expressivité pourra ainsi aboutir à un ensemble de TND différents.

Les concepts de pénétrance incomplète, d'expressivité variable et de pléiotropie sont illustrés par la **figure 1**.

Incomplete penetrance (phenotype is 60% penetrant)



Variable expressivity (phenotype is 100% penetrant)



Incomplete penetrance and variable expressivity



Figure 1. Représentation de la pénétrance incomplète et de l'expressivité variable selon Kingdom et Wright (47)

Les carrés représentent des individus avec le même génotype. Un carré bleu indique que l'individu présente le phénotype associé au génotype alors que le carré blanc indique que l'individu ne présente pas le phénotype associé au génotype. Plus le carré bleu devient clair moins le phénotype est sévère.

La première ligne représente la pénétrance incomplète où 60 % des individus porteurs présentent le phénotype associé. La deuxième ligne représente l'expressivité variable, où chaque individu exprime un phénotype mais avec une sévérité variable allant du plus sévère à gauche au moins sévère à droite. La troisième ligne représente une pénétrance incomplète et une expressivité variable, où le génotype varie à la fois par la gravité de la présentation mais aussi par la pénétrance.

Bien que la pénétrance et l'expressivité variable soient deux concepts distincts, ce sont des phénomènes qui sont souvent intriqués et dont les effets globaux se chevauchent.

2.4.2 Prévalence des PIEV :

Il faut bien différencier la pénétrance et la prévalence. Cette dernière se définit par le nombre de cas enregistrés pour une maladie dans une population déterminée. Comme la pénétrance elle s'exprime en pourcentage. L'équipe de *Smajlagić et al.* (50) a estimé la prévalence de survenue de 26 CNV impliqués dans les TND (dont 16 PIEV) chez 12 252 nouveau-nés et leurs parents. Il en ressort une prévalence globale de 0,48 % soit quasiment 1 nouveau-né sur 200. Le CNV le plus fréquent étant la délétion 1q21.1 avec une prévalence de 0,5 %. A noter que 34 % apparaissent *de novo*. Le réseau AchroPuce a publié sur son site le bilan d'activité 2020 de 41 centres français concernant les données d'ACPA (51). La prévalence de survenue d'un PIEV, toutes indications confondues, est estimée à environ 3 %. Ils sont en lien avec le phénotype dans 78 % des cas. Il reste donc 22 % de cas dans lesquels le PIEV est considéré comme une donnée incidente, rendant compliqué le conseil génétique. En prénatal, un CNV de susceptibilité aux TND est retrouvé dans 1,6 % des cas (52). Dans le bilan d'activité AchroPuce, le pourcentage de PIEV retrouvé en prénatal est d'environ 1 %.

2.4.3 Pénétrance incomplète des PIEV :

Il est important de connaître la pénétrance des PIEV afin de pouvoir prodiguer un conseil génétique adapté. Plusieurs auteurs se sont attachés à estimer la pénétrance des PIEV (44),(53) parmi lesquels *Rosenfeld et al.*(54), dont l'étude rassemblait 48 637 patients (adressés pour TND pédiatriques ayant bénéficié d'une ACPA dans leur centre) et 22 246

témoins (8329 provenant de l'étude de *Cooper et al.* (28), 11 305 de l'étude « Atherosclerosis Risk in Communities » et 2612 de l'étude « Wellcome Trust Case Control Consortium) (tableau II).

Region (gene within region)	Copy number	Coordinates (hg18)	Frequency, postnatal aCGH cases	Frequency, controls	P value (Fisher exact one-tailed test)	Frequency of <i>de novo</i> occurrence in cases	Penetrance estimate, % (95% CI)
Proximal 1q21.1 (<i>RBM8A</i>)	Duplication	chr1: 144.0–144.5 Mb	85/48,637 (0.17%)	10/22,246 (0.04%)	<<0.0001	0/13 (0%)	17.3 (10.8–27.4)
Distal 1q21.1 (<i>GJA5</i>)	Deletion	chr1: 145.0–146.35 Mb	97/33,226 (0.29%)	6/22,246 (0.03%)	<<0.0001	7/39 (17.9%)	36.9 (23.0–55.0)
Distal 1q21.1 (<i>GJA5</i>)	Duplication	chr1: 145.0–146.35 Mb	68/33,226 (0.20%)	6/22,246 (0.03%)	<<0.0001	5/30 (16.7%)	29.1 (16.9–46.8)
15q11.2 (<i>NIPA1</i>)	Deletion	chr15: 20.3–20.8 Mb	203/25,113 (0.81%)	84/22,246 (0.38%)	<<0.0001	0/27 (0%)	10.4 (8.45–12.7)
16p13.11 (<i>MYH11</i>)	Deletion	chr16: 14.9–16.4 Mb	50/33,226 (0.15%)	12/22,246 (0.05%)	<0.0005	5/23 (21.7%)	13.1 (7.91–21.3)
16p12.1 (<i>CDR2</i>)	Deletion	chr16: 21.85–22.4 Mb	62/33,226 (0.19%)	16/22,246 (0.07%)	<0.0002	1/28 (3.6%)	12.3 (7.91–18.8)
Distal 16p11.2 (<i>SH2B1</i>)	Deletion	chr16: 28.65–29.0 Mb	46/33,226 (0.14%)	1/22,246 (0.005%)	<<0.0001	7/21 (33.3%)	62.4 (26.8–94.4)
Distal 16p11.2 (<i>SH2B1</i>)	Duplication	chr16: 28.65–29.0 Mb	35/33,226 (0.11%)	10/22,246 (0.04%)	<0.01	1/8 (12.5%)	11.2 (6.26–19.8)
Proximal 16p11.2 (<i>TBX6</i>)	Deletion	chr16: 29.5–30.15 Mb	146/33,226 (0.44%)	6/22,246 (0.03%)	<<0.0001	33/47 (70.2%) ^a	46.8 (31.5–64.2)
Proximal 16p11.2 (<i>TBX6</i>)	Duplication	chr16: 29.5–30.15 Mb	93/33,226 (0.28%)	9/22,246 (0.04%)	<<0.0001	7/30 (23.3%)	27.2 (17.4–40.7)
17q12 (<i>HNF1B</i>)	Deletion	chr17: 31.8–33.3 Mb	29/33,226 (0.09%)	2/22,246 (0.01%)	<0.0001	5/9 (55.6%)	34.4 (13.7–70.0)
17q12 (<i>HNF1B</i>)	Duplication	chr17: 31.8–33.3 Mb	37/33,226 (0.11%)	5/22,246 (0.02%)	<0.0001	2/9 (22.2%)	21.1 (10.6–39.5)
22q11.21 (<i>TBX1</i>)	Duplication	chr22: 17.2–19.9 Mb	136/48,637 (0.28%)	12/22,246 (0.05%)	<<0.0001	12/47 (25.5%)	21.9 (14.7–31.8)

aCGH, microarray-based comparative genomic hybridization; CI, confidence interval; CNV, copy-number variation; <<, much less than.

^aDeletions of the proximal 16p11.2 region showed a maternal transmission bias (14/68 mothers identified to be carriers vs. 0/38 fathers; two-tailed $P = 0.0018$, Fisher exact test); no parental transmission bias was detected for any other CNV.

Tableau II. Pénétrances estimées des PIEV selon Rosenfeld et al. (54)

Il apparaît que la pénétrance de ces CNV est très variable selon le PIEV analysé, allant de 10,4 % pour la délétion 15q11.2 à 62,4 % pour la délétion distale 16p11.2, mais aussi que l'intervalle de confiance à 95 % de la pénétrance peut être large pour certains PIEV. Pour la délétion distale 16p11.2, la pénétrance estimée alterne entre 26,8 %, ce qui est relativement faible, et 94,4 %, ce qui la rend quasiment complète. Il en est de même pour la délétion 17q12 qui a une pénétrance estimée variant de 13,7 % à 70 %. On comprend la difficulté de prodiguer un conseil génétique avec de si grands intervalles de confiance de pénétrance. En revanche, pour certains CNV comme la délétion 15q11.2, les intervalles de confiance à 95 % sont acceptables rendant les résultats fiables et utilisables. Malgré le nombre important de patients et la quantité d'informations apportées, cette étude présente certaines limites :

- Les patients sont des enfants adressés pour TND et le recueil des données phénotypique n'est fait qu'au moment de l'analyse. Il n'y a donc aucune information

sur les manifestations tardives possibles. La schizophrénie, par exemple, ne se déclare que très rarement dès la petite enfance (44).

- De plus, la pénétrance a pu être sous-estimée car les cohortes de patients témoins provenant d'autres études peuvent inclure des individus peu atteints.
- Enfin, ces études de pénétrance ne se basent que sur des cohortes de personnes en grande majorité caucasienne, il est donc difficile de savoir si les estimations de pénétrance pourraient varier dans d'autres groupes ethniques (54).

2.4.4 Expressivité variable des PIEV :

Une des premières équipes à avoir étudié la variabilité phénotypique des CNV impliqués dans les TND est celle de *Coe et al.* via l'analyse de plus de 20 000 patients porteurs de PIEV (figure 2).

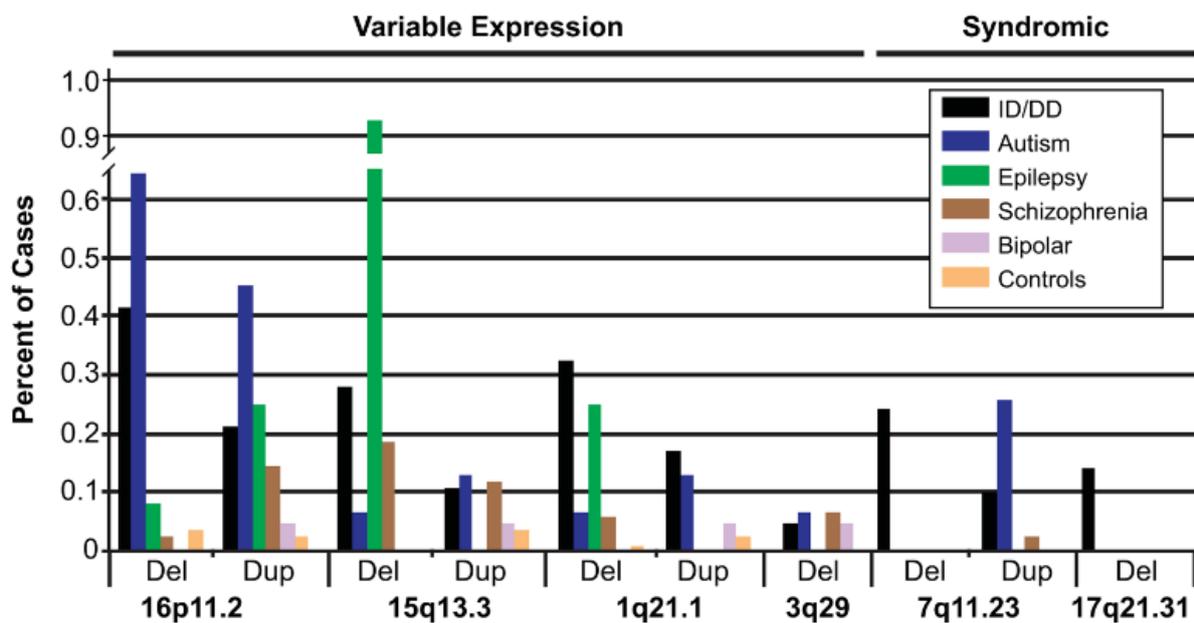


Figure 2. Variabilité phénotypique chez les porteurs de CNV impliqués dans les TND (49)

Si la délétion 15q13.3 induit presque toujours une épilepsie et la délétion 16p11.2 un TSA, les autres CNV présentent une variabilité souvent plus importante. L'équipe de *Carvill et al.* a rapporté que si le trouble le plus fréquemment identifié en présence de PIEV est la déficience intellectuelle, d'autres TND peuvent être enregistrés tels que la schizophrénie, l'épilepsie, les TSA. Bien que ces CNV correspondent à des facteurs de susceptibilité aux TND, ils peuvent également être associés à d'autres atteintes somatiques (cardiovasculaires, ophtalmologiques, musculo-squelettiques, gastro-intestinales, dentaires, vésiculo-urétrale etc.) (55).

2.5 Les PIEV en France :

Le réseau AchroPuce a publié un tableau regroupant les principaux CNV considérés comme PIEV à ce jour (**tableau III**).

Type de variation	Région	Gènes candidats
Délétions et duplications	1q21.1 distale	GJA5, GJA8
Délétions	2p16.3	NRXN1
Délétions	2q13	BUB1
Délétions	3q29	DLG1, BDH1
Délétions	10q11.21q11.2	CHAT, SLC18A3
Délétions	15q11.2 BP1-BP2	NIPA1, NIPA2
Délétions	15q13.3 BP4-BP5	CHRNA7, OTUD7A
Délétions	15q13.3 CHRNA7-LCR-BP5	CHRNA7
Délétions	16p13.11	NDE1, MYH11
Délétions	16p12.2	EEF2K, POLR3E
Délétions et duplications	16p11.2 distales	SH2B1
Délétions et duplications	16p11.2 proximales	TBX6, KCTD13
Délétions	17q12	HNF1B
Délétions	22q11.21 centrales	SCARF2, SNAP29
Délétions	22q11.21 distales de type I ou III	BCR, TOP3B, MAPK1
Délétions	Xp22.3 (chez homme)	STS, VCX3

Tableau III. Listes des CNV considérés comme PIEV par le réseau français AchroPuce (43)

En France, les PIEV figurent systématiquement sur le compte-rendu en postnatal. En revanche en prénatal, seulement 10,5 % des centres rendent systématiquement les PIEV et 21,1 % ne les rendent jamais. La majorité des centres se basent soit sur le contexte clinique (signes

d'appel échographiques) et familial dans 68,4 % des cas, soit sur le type de PIEV dans 26,3 % des cas (51).

2.6 Les PIEV à l'étranger :

Dans les recommandations 2020 de l'ACMG (38) et les recommandations européennes de 2018 (56), les PIEV ne représentent pas une classe à part et sont intégrés aux classes préalablement établies.

Néanmoins, ClinGen a constitué récemment un groupe de travail sur les CNV à faible pénétrance, ayant pour objectif de « développer un consensus sur la terminologie nécessaire pour catégoriser les variants mendéliens à faible pénétrance et développer un cadre de classification normalisé pour évaluer ces types de variants » (57). Début 2020, le groupe de travail a publié un document sur son site présentant la terminologie recommandée lors de la descriptions de ce type de CNV (58). S'il ne propose pas l'introduction d'une nouvelle classe comme le consortium AchroPuce, il recommande de rajouter le descriptif « à faible pénétrance » aux classes 4 et 5 existantes. Ainsi, un CNV pourra être classé « pathogène à faible pénétrance » ou encore « probablement pathogène à faible pénétrance ». A noter qu'il suggère de rajouter le complément « à faible pénétrance » seulement lorsque des estimations quantitatives suffisantes de la pénétrance sont disponibles. On préférera sinon le descriptif « à pénétrance réduite ».

A l'inverse des recommandations américaines et européennes, ces PIEV sont mentionnés plus précisément dans les recommandations Belges (52), Canadiennes (59) et Britannique (60), mais uniquement dans le cadre du diagnostic prénatal.

2.6.1 Les recommandations Belges en prénatal :

Le "BELgian MicroArray PREnatal (BEMAPRE) consortium" a créé une base de données commune à tous les centres de Belgique. Elle répertorie l'ensemble des CNV connus ainsi que leur classement. Chaque biologiste se sert de cette base de données pour l'interprétation des variants identifiés chez leurs patients. En cas de découverte d'un CNV inconnu, le biologiste peut faire appel au consortium qui proposera un classement du CNV en 48h et l'intégrera dans la base de données. De cette manière, l'interprétation est la même dans tous les centres, ce qui évite les discordances entre les laboratoires et diminue l'anxiété des parents (61). Les belges utilisent les 5 classes de l'ACMG plus une autre classe appelée : "susceptibility", qui correspond à la classe des PIEV proposée en France. En revanche, le guide Belge précise que

seuls les PIEV appartenant à une liste exhaustive fournie par le consortium doivent figurer sur le compte-rendu en prénatal (**tableau IV**).

Susceptibility CNVs (reported)	Location	n	% of total invasive population	cases with an ultrasound anomaly % (n)
22q11.2 dup (OMIM 608363)	chr22:19.020.000-20.290.000	24	0,18	44 (11)
GJA5 dup (OMIM 612475)	chr1:146.570.000-147.390.000	14	0,11	21 (3)
CHRNA7 del (OMIM 612001)	chr15:31.130.000-32.480.000	8	0,06	14 (1)
GJA5 del (OMIM 612474)	chr1:146.570.000-147.390.000	7	0,05	50 (4)
TBX6 dup (OMIM 614671)	chr16:29.590.000-30.190.000	5	0,04	40 (2)
TBX6 del (OMIM 611913)	chr16:29.650.000-30.200.000	5	0,04	40 (2)
HNFB1 del (OMIM 614527)	chr17:34.820.000-36.210.000	5	0,04	80 (4)
Susceptibility CNVs (unreported)	Location	n	% of total invasive population	cases with an ultrasound anomaly % (n)
15q11.2 dup	chr15:22.800.000-23.090.000	32	0,24	34 (11)
15q11.2 del (OMIM 615656)	chr15:22.800.000-23.090.000	25	0,19	56 (14)
CHRNA7 dup	chr15:31.130.000-32.480.000	21	0,16	10 (2)
MYH11 dup	chr16:14.980.000-16.480.000	16	0,12	56 (9)
NPHP1 dup	chr2:110.870.000-110.980.000	13	0,10	46 (6)
HFE2 dup	chr1:144.970.000-146.100.000	10	0,08	20 (2)
MYH11 del	chr16:14.980.000-16.480.000	9	0,07	44 (4)

Tableau IV. Liste des CNV « susceptibility » à reporter ou non sur le compte-rendu en prénatal selon le BEMAPRE (52)

Dans cette liste figurent les facteurs de susceptibilité les plus pénétrants (selon l'étude *Rosenfeld et al.* (54)) et qui induisent les phénotypes les plus sévères.

Les Belges qualifient leur modèle de paternaliste, car il n'est pas laissé le choix au patient de préciser s'il veut connaître l'ensemble des variations présentes chez l'enfant à naître. C'est le consortium qui choisit ce qui doit être reporté ou non sur le compte-rendu en fonction des connaissances disponibles.

2.6.2 Les recommandations Canadiennes en prénatal :

Au Canada (59), les recommandations ont été proposées par le « Canadian College of Medical Geneticists » et la « Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada ». Les Canadiens se basent sur les 5 classes de l'ACMG. Cependant, la classe 2 et la classe 4 sont renommées respectivement, "uncertain clinical significance: likely benign" et "uncertain clinical significance: likely pathogenic". Ils font mention de « CNVs associated with variable expressivity or penetrance ». Ils sont reportés sur le compte-rendu en prénatal uniquement si plusieurs bases de données attestent qu'ils présentent un risque élevé d'anomalies du développement neurologique et/ou de malformations congénitales. Ils sont alors classés 4 ou 5. Le consortium Canadien utilise notamment le tableau actualisé de la BEMAPRE pour savoir quel CNV classer et mentionner.

2.6.3 Les recommandations Britanniques en prénatal :

Les britanniques (60), via le "Joint Committee on Genomics in Medicine" (JCGM), proposent une approche semblable aux canadiens. Ils font mention de « neuro-susceptibility loci ». Seul les loci de neuro-susceptibilité à forte pénétrance (selon *Rosenfeld et al.* (54)) associés à un phénotype grave et ceux associés à une incidence accrue d'anomalies détectables à l'échographie sont reportés sur le compte-rendu en prénatal. Ils sont alors considérés comme n'importe quel CNV et intégrés dans une des 5 classes recommandées par l'ACMG. Les Britanniques proposent eux aussi une liste exhaustive des CNV de susceptibilité à reporter ou non sur le compte-rendu (**tableau V**).

Susceptibility CNVs to report

CNV	Size	Gene	OMIM	Penetrance* %	De novo* %
Distal 1q21.1 del	1.35 Mb	GJA5	612474	36.9 (23–55)	18–20
Distal 1q21.1 dup	1.35 Mb	GJA5	612475	29.1 (16.9–46.8)	
15q13.3 del	1.5–2 Mb	CHRNA7	612001	80.5	
Distal 16p11.2 del	220 kb	SH2B1	613444	62.4 (26.8–94.4)	30–33.3
Prox 16p11.2 del	550 kb	TBX6	611913	46.8 (31.5–64.2)	65–70.2
17q12 del	1.4Mb	HNF1B	614527	34 (13.7–70)	55.6–62

Susceptibility CNVs not to report

CNV	Size	Gene	OMIM	Penetrance* %	De novo* %
15q11.2 BP1-BP2 del	450 kb	NIPA1	615656	10.4 (8.45–12.7)	0
15q11.2 BP1-BP2 dup	450 kb	NIPA1	608636		
16p13.11 del	1.5 Mb	MYH11		13.1 (7.91–21.3)	21.7
16p13.11 dup	1.5 Mb	MYH11			
Proximal 1q21.1 dup	0.5 Mb	RBM8A	612475	17.3	
16p12.2 deletion	0.5 Mb	CDR2	136570	12.3	
Xp22.31 dup	1.5Mb	STS			
Xp22.33 del	Varies	SHOX			

Tableau V. Liste des « neuro-susceptibility loci » à reporter ou non sur le compte-rendu en prénatal selon le JCGM (60)

A la différence des Belges, la duplication 22q11.2 n'est pas reportée et n'est pas considérée comme un CNV de susceptibilité. Tout cela met en exergue l'importance d'approfondir nos connaissances sur ces PIEV, notamment pour faciliter le conseil génétique en prénatal. Afin

de mieux évaluer leur expressivité et leur pénétrance, il est primordial d'identifier les mécanismes impliqués dans cette variabilité.

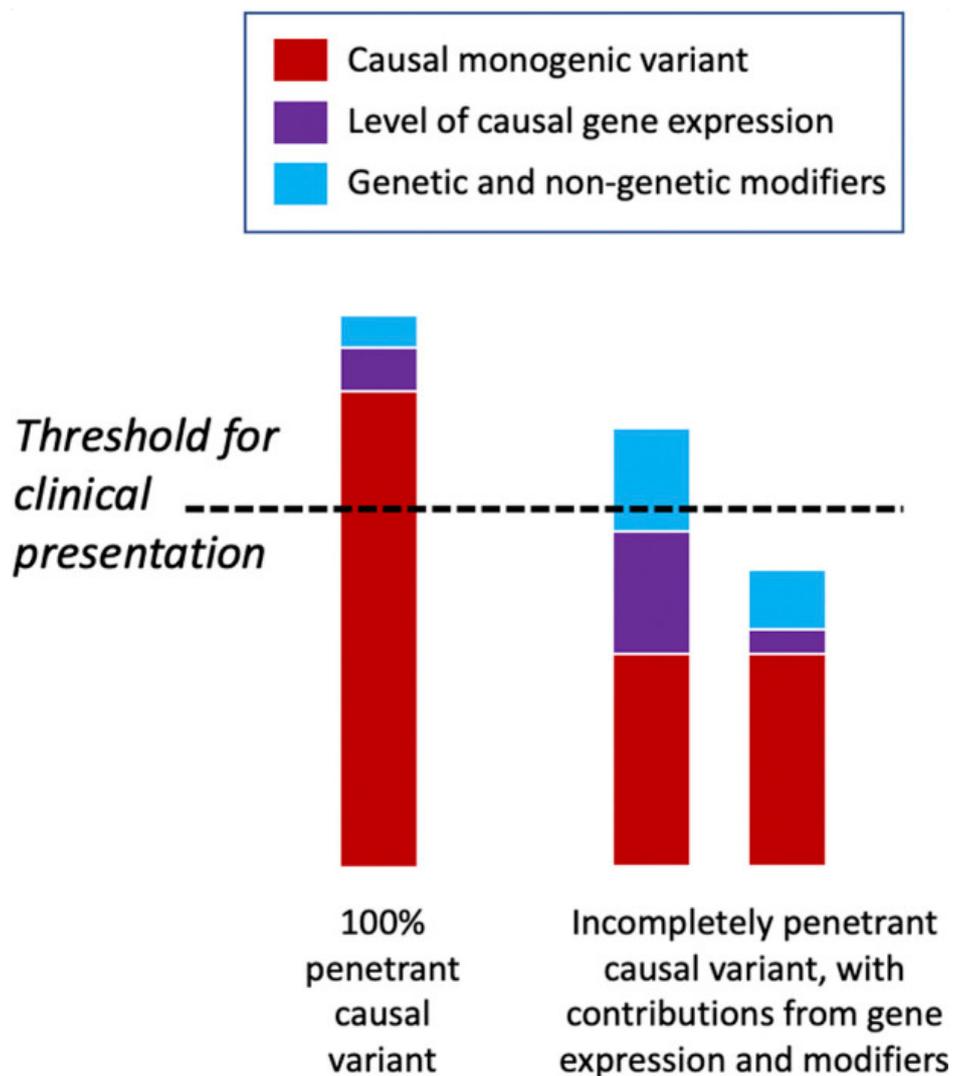
3. Mécanismes impliqués dans la pénétrance incomplète et l'expressivité variable :

La pénétrance incomplète et l'expressivité variable sont deux phénomènes résultants d'un ensemble de paramètres intriqués, allant de l'échelle moléculaire à l'échelle humaine, et aboutissant au phénotype d'un individu (47).

On peut les subdiviser en trois grandes catégories :

- Les facteurs influençant directement l'effet d'une variation causale,
- Les facteurs ayant un impact sur l'expression d'une variation,
- Les facteurs globaux ayant un effet sur le génome dans son ensemble.

Pour comprendre comment tous ces paramètres s'articulent entre eux on peut utiliser le modèle du seuil (**figure 3**).



Contrairement aux variants pathogènes suffisants à eux seuls pour déclencher la pathologie, les variations à pénétrance incomplète nécessitent la contribution d'un ensemble de paramètres, génétiques ou non, pour franchir le seuil au-delà duquel la maladie s'exprime. Dans ce cas, des individus peuvent avoir le même variant de base, mais une présentation phénotypique variable suivant les facteurs modificateurs qui s'ajoutent au variant causal. A noter que plus le seuil sera dépassé plus le phénotype apparaîtra sévère (63). Le phénotype est donc la résultante de l'effet, plus ou moins important, d'un grand nombre de paramètres, qui entraîneront des conséquences sur la pénétrance et l'expressivité d'une variation.

3.1 Les variations causales :

3.1.1 Localisations et conséquences des variants :

La plupart du temps, les variants tronquants pathogènes causent la maladie par perte de fonction, selon le mécanisme de dégradation des ARNm (Acide RiboNucléique messenger) non-sens (ou NMD pour « Nonsense-Mediated Decay ») (64). Celui-ci se déclenche lorsqu'il existe un codon stop précoce en amont du dernier exon d'un gène. Il permet normalement de dégrader les transcrits d'ARNm endommagés qui pourraient produire des protéines mal repliées et/ou raccourcies pouvant s'accumuler dans la cellule, et d'initier la réponse au stress cellulaire du réticulum endoplasmique (65). Cependant, ce mécanisme peut aussi se montrer délétère comme dans le syndrome de Marfan où la dégradation par NMD des variants tronquants est associée à des scoliozes et des atteintes aortiques plus sévères (66).

Si la variation se situe dans le dernier exon d'un gène, l'ARN (Acide RiboNucléique) transcrit échappe au NMD, entraînant la production d'une protéine tronquée qui peut avoir deux effets distincts. Soit elle exacerbe la pathologie par accumulation d'une protéine toxique dans la cellule (67), comme c'est le cas avec la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 2CC (CMT), où un décalage du cadre de lecture dans le dernier exon du gène *NEFH* permet à un transcrit aberrant d'échapper au NMD, entraînant une aggravation du phénotype (68). Soit elle garde une fonction résiduelle qui peut protéger d'une maladie médiée par l'haploinsuffisance à l'état hétérozygote (69),(70),(71). On peut en déduire que suivant la localisation d'une variation tronquante au sein d'un gène, le NMD peut affecter la pénétrance et la gravité du phénotype en fonction du mécanisme de la maladie.

Certaines insertions/délétions ou duplications peuvent quant à elles entraîner un gain de fonction à l'origine de la production d'une protéine avec une activité accrue (72) ou ayant

acquis une nouvelle fonction dommageable pour la cellule (73). Là aussi, la position du variant au sein du gène va jouer un rôle important sur la pénétrance et l'expressivité du phénotype associé (74). Les positions à risque sont les sites subissant une modification post-traductionnelle, les sites critiques pour les structures ternaires et quaternaires, les sites impliqués dans les interactions entre protéines, les sites de liaison à des ligands et les domaines fonctionnels (75). Par exemple, les sites touchant les domaines transmembranaires du gène *GRIN2A* (pouvant être responsable d'épilepsies idiopathiques généralisées) sont plus fréquemment associés à un phénotype sévère (76). Une meilleure compréhension de la structure des protéines et des domaines d'interaction permettrait de mieux appréhender les effets des SNV sur le phénotype (77).

Les variations dans les parties non codantes jouent également un rôle dans la pathogénicité (78) mais les études manquent quant à leur impact sur la pénétrance et l'expressivité variable (47).

3.1.2 Nombre de répétitions d'un triplet de nucléotides :

Les maladies à expansion de triplets sont engendrées par des expansions génomiques de courtes séquences répétées en tandem (STR) qui affectent l'expression génique ou la séquence protéique (79). Les STR peuvent avoir un effet sur la pénétrance et l'expressivité de ces pathologies (47) comme c'est le cas pour le syndrome de l'X fragile qui se déclare lorsque le triplet CGG est répété plus de 200 fois dans le gène *FMR1* (< 44 répétitions pour un individu sain). Cette expansion de triplets semblent présenter une pénétrance incomplète et une expressivité réduite puisque 100 % des hommes et 60 % des femmes présentent une déficience intellectuelle, 50 à 60 % des hommes et 20 % des femmes présentent un TSA (80). Les individus possédant entre 55 et 200 triplets CGG sont dit prémutés, et présentent un phénotype moins sévère que ceux porteurs d'une expansion plus importante mais ont cependant plus de risque que les individus non mutés de développer un syndrome de tremblement/ataxie associé à l'X (81) et une d'insuffisance ovarienne avant 40 ans (82). L'autre exemple souvent cité est celui de la maladie de Huntington où le nombre de triplets est inversement proportionnel à l'âge de l'apparition des symptômes. Pourtant des études ont montré que le nombre de triplets n'expliquait que 70 % de la variabilité (83) et le reste serait dû à d'autres modificateurs génétiques (84).

3.2 L'expression des gènes :

L'expression des gènes joue un rôle crucial dans la pénétrance et l'expressivité variable. Elle peut être influencée par de nombreux facteurs comme la balance allélique, l'épissage alternatif, les éléments régulateurs, le mosaïsme ou encore l'épigénétique.

3.2.1 Balance allélique :

Une différence d'expression entre deux allèles est souvent due à un déséquilibre allélique. C'est un phénomène courant qui a été observé dans 88 % des gènes spécifiques de tissus (85). Il peut affecter la pénétrance en cas de variation perte de fonction sur des gènes haploinsuffisants. En effet, le déséquilibre allélique peut provoquer une expression plus élevée de l'allèle normal entraînant une pénétrance plus faible ou alors une expression plus faible de l'allèle normal entraînant une pénétrance plus élevée. Il y a également un effet sur l'expressivité. Dans le syndrome de DiGeorge (86), une duplication se trouvant en « trans » par rapport à une variation perte de fonction pathogène peut atténuer le phénotype clinique en augmentant la proportion d'allèle normal (87). Le déséquilibre allélique joue aussi un rôle dans le syndrome de Marfan où plus l'allèle muté s'exprime par rapport à l'allèle sauvage plus le phénotype sera sévère (88). Ce phénomène peut même révéler une maladie récessive chez un individu hétérozygote, en cas d'expression exclusive de l'allèle porteur de la variation.

3.2.2 L'épissage alternatif :

Un même gène peut être transcrit en différents ARN qui seront traduits en différentes protéines appelées isoformes par un processus appelé épissage alternatif. Selon le type d'épissage, un variant dans un exon pourra être exprimé ou non. Si l'isoforme majoritaire n'est pas exprimé à partir de l'exon dans lequel se trouve la variation, la protéine sera fonctionnelle et le phénotype associé absent. Une étude a montré que 23 % des variants tronquants se trouvent dans des exons peu exprimés avec par conséquent, un effet faible sur le phénotype (89). Le syndrome de Pitt-Hopkins, à transmission autosomique dominante, est dû à l'haploinsuffisance du gène *TCF4* qui entraîne une déficience intellectuelle syndromique (90). La présence de variants tronquants du gène *TCF4* identifiés chez des individus non affectés, suggère que certains exons sont absents du transcrit majoritaire et ne provoquent pas l'effet phénotypique associé aux variants délétères (85). Il est donc possible d'être porteur de variation dans des gènes de pathologies à très hautes pénétrances sans pour autant développer le phénotype associé à la suite d'un épissage alternatif.

3.2.3 Les éléments régulateurs :

Il existe plusieurs régions régulatrices dans l'ADN dont les séquences cis et les éléments trans. Une séquence cis est une séquence d'ADN capable de moduler l'expression d'un gène présent sur le même chromosome. Un facteur trans est un facteur de transcription agissant sur une séquence cis. Des modifications dans ces éléments régulateurs pourraient avoir un effet sur le phénotype. Une étude dans la population générale a montré que chez des individus sains porteurs de variations pathogènes, il existait un appauvrissement en séquences cis (91). Ce qui suggère que les individus exprimant la maladie auraient un enrichissement en séquence cis qui amplifierait l'expression du variant pathogène et que les individus asymptomatiques auraient un enrichissement en éléments régulateurs protecteurs qui diminuerait l'expression du variant pathogène et par conséquent, la pénétrance.

Les gènes sont souvent associés aux éléments régulateurs par le biais de domaines typologiquement associés (TAD, Topologically Associating Domains) (92). Il s'agit d'une région génomique dans laquelle les séquences d'ADN interagissent physiquement les unes avec les autres et plus fréquemment qu'avec des séquences en dehors du TAD. Une modification de la structure d'un domaine peut conduire à un mauvais alignement entre gènes et séquences régulatrices, ce qui entraîne une différence dans l'expression génique (93). Ainsi une modification de la conformation pourrait mettre en contact une séquence régulatrice et une variation dans un gène qui n'est normalement pas exprimé, aboutissant à une surexpression du gène et une possible expression phénotypique.

3.2.4 Le mosaïcisme :

Le mosaïcisme désigne la présence, chez un même individu, de cellules génétiquement distinctes provenant d'un seul zygote, suite à une variation post-zygotique *de novo* (94). Une maladie monogénique est généralement moins grave chez les individus en mosaïque que chez ceux qui expriment le même variant de manière constitutive. Selon les cellules ou les tissus contenant le variant pathogène, le mosaïcisme peut entraîner une non pénétrance ou une expressivité réduite (95).

C'est ce que l'on observe par exemple chez les femmes atteintes de syndrome de Turner en mosaïque 45,X/46,XX. Contrairement aux patientes présentant un caryotype à 45,X, les porteuses de dysgonosomies en mosaïque présentent un phénotype moins sévère avec un

retard de croissance moins important, une durée de vie reproductive et un taux de natalité normaux, et aucune complication cardiovasculaire (96).

Le mosaïcisme explique aussi le saut de génération. Un parent présentant une variation pathogène uniquement germinale n'exprimera pas le phénotype, mais le transmettra de manière constitutive à sa descendance, entraînant l'apparition de la maladie (97).

3.2.5 L'épigénétique :

Les modifications épigénétiques sont des changements moléculaires héréditaires qui altèrent l'expression des gènes sans toucher à la séquence d'ADN. Elles comprennent des modifications de la méthylation de l'ADN, des modifications des histones ou l'expression de microARN (miARN) (98). Des études sur des jumeaux monozygotes, dont les phénotypes sont discordants pour une maladie, ont mis en évidence les conséquences de l'épigénétique sur la pénétrance et l'expressivité d'une maladie (99). En effet, dans le cas de jumeaux porteurs de mutation dans le gène *NF1*, une discordance significative quant au nombre de neurofibromes et à la sévérité de la scoliose a été observée (100).

Un autre exemple de modification épigénétique est la méthylation de l'ADN responsable du biais d'inactivation de l'X chez la femme, qui peut aboutir à une modification de la pénétrance de variations impliquant le chromosome X (101),(102).

Les miARN quant à eux, sont de petits ARN non codants qui régulent l'expression des gènes (103). Une variation génétique au sein d'un miARN peut également affecter l'expression allélique et modifier la pénétrance et l'expressivité de maladies monogéniques (104). Cela a déjà été observé dans les cancers héréditaires du sein et de l'ovaire (105).

3.3 Les modifications globales :

Les paramètres vus précédemment expliquent comment obtenir une pénétrance incomplète et une expressivité variable avec une seule variation pathogène. Mais pour pouvoir affiner le travail de corrélation génotype/phénotype il faut considérer l'environnement génomique de la variation étudiée.

3.3.1 Le « two-hit model » :

Une méta-analyse de CNV sur de grande population de patients présentant un TND a permis d'identifier la région 16p12.1 comme potentiellement impliquée dans le phénotype (27). *Girirajan et al.* ont analysé, par technique d'ACPA, de grandes cohortes de patients et de

témoins, et ont démontré que la délétion était corrélée de manière significative à un retard de développement chez l'enfant. Ils ont également observé que 24 % des patients porteurs présentaient un second CNV de grande de taille (> 500 kb). La présence de ce second CNV était 6 fois plus importante chez le cas index que chez les membres de la famille et 60 fois plus importante que dans la population générale. Ils ont également constaté que les porteurs de deux variations présentaient un phénotype distinct ou plus sévère. La microdélétion 16p12.1 prédispose donc à la fois au phénotype neuropsychiatrique en tant qu'événement unique et exacerbe les phénotypes neurodéveloppementaux en association avec d'autres grandes délétions ou duplications. Ils ont baptisé ce phénomène de variabilité d'expressivité par un second CNV : le « two-hit model ». La même équipe en 2012 (106), a analysé 2312 enfants porteurs de 72 CNV impliqués dans les TND afin de déterminer si le « two-hit model » pouvait être généralisé (**figure 4**).

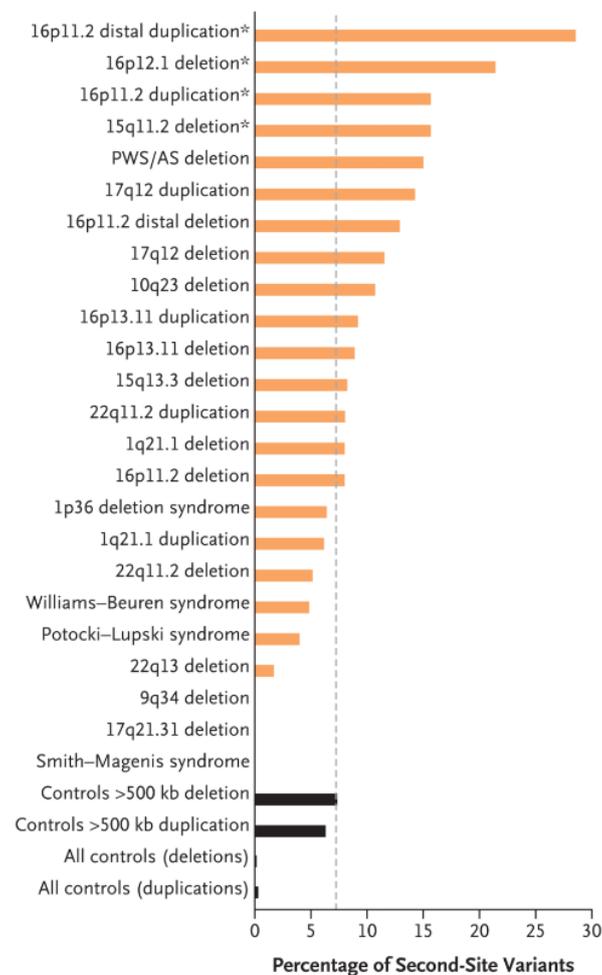


Figure 4. Fréquence d'un deuxième variant (> 500 kb) chez des patients porteurs de CNV impliqués dans les TND (106)

Ils ont observé qu'un second CNV pouvait être retrouvé dans d'autres microremaniements que la délétion 16p12.1, avec une fréquence moyenne de 10.1 %. Leur étude a aussi confirmé la corrélation positive entre la présence d'une deuxième variation et la sévérité du phénotype. De plus, les syndromes microdélétionnels/microduplicationnels apparaissent significativement moins associés à un second CNV que les autres microremaniements. Cela s'expliquerait par le fait que les personnes atteintes d'anomalies syndromiques sont déjà gravement affectées et que la présence d'un second CNV aggravant le phénotype serait probablement incompatible avec la vie (106),(107).

Le « two-hit model » semble donc intéressant pour expliquer une partie de la variabilité observée pour les CNV de susceptibilité aux TND. Cependant, la deuxième variation n'étant pas la même chez tous les individus et n'étant pas systématiquement présente, ce modèle à lui seul apparaît encore insuffisant.

3.3.2 Modèle du « other-hits » :

Le modèle du « other-hits » est une évolution du « two-hit model ». Les « other-hits » sont définis comme des SNV ou des CNV, impliquant des gènes intolérants à la perte de fonction, et qui n'ont aucun effet pathogène propre. Ils peuvent être fréquents (> 5 %) ou rares (< 1 %) dans la population et se situer dans une région codante ou non. Dans ce modèle, le phénotype est considéré comme la résultante d'une variation primaire causale, aussi appelée facteur de susceptibilité, associée à un ensemble d'autres variations. Ainsi, plus la charge en « other-hits » chez un porteur de CNV de susceptibilité aux TND sera grande, plus l'individu aura de risque de développer un phénotype pathologique. Ce modèle existe sous d'autres appellations : modèle oligogénique (si un petit nombre de gènes est impliqué) ou modèle polygénique (si un grand nombre de gènes est impliqué). L'ensemble des « other-hits » d'un individu peut se retrouver dans la littérature sous le nom de background/fond génétique. Ainsi, chez deux porteurs d'un même variant primaire, l'apparition de TND dépend alors de la charge en « other-hits » associée (**figure 5**).

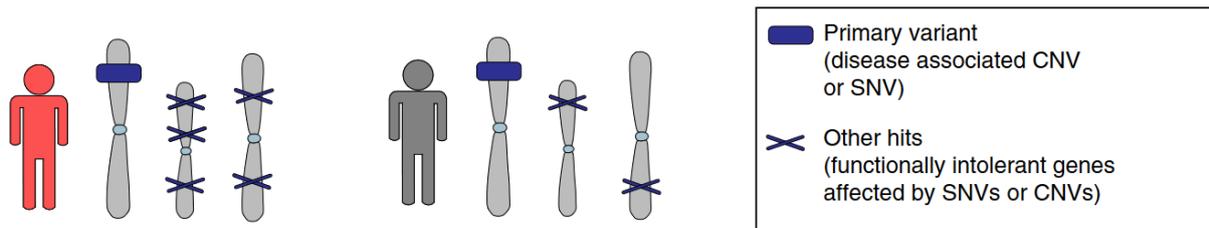


Figure 5. Illustration du modèle du "other-hits" (108)

Pizzo et al. (108) ont étudié ce modèle chez 757 cas index porteurs de la délétion 16p12.1 et de 233 membres de leur famille. Ils ont découvert que la charge en « other-hits » était significativement plus élevée chez les cas index exprimant un phénotype anormal que chez les membres de leurs familles porteurs sains de la délétion. Ils ont également observé qu'il y avait une corrélation positive entre la sévérité du phénotype et la charge en « other-hits ». On peut en déduire que celle-ci contribue probablement à la pénétrance incomplète et de l'expressivité variable chez les porteurs de CNV de susceptibilité aux TND.

Le background polygénique peut être quantifié par le polygenic risk score (PRS) (109),(110) et potentiellement être utilisé comme outil de prédiction de risque pour les maladies monogéniques ou polygéniques (111). Ce PRS permet d'estimer l'effet sur le phénotype d'un grand nombre de variations génétiques. Il est notamment utilisé dans les cancers familiaux pour estimer la pénétrance de variations pathogènes (112). Pour le moment ce score n'est pas utilisé en génétique constitutionnelle.

Dans son étude sur l'autisme, *Bourgeron* a montré que plus un individu partage son patrimoine génétique avec un personne souffrant de TSA, plus il a de risque de développer un TSA (113).

3.3.3 Le background familial :

Pizzo et al. (108) ont étudié l'impact du fond génétique familial chez les porteurs de la délétion 16p12.1 (**figure 6**).

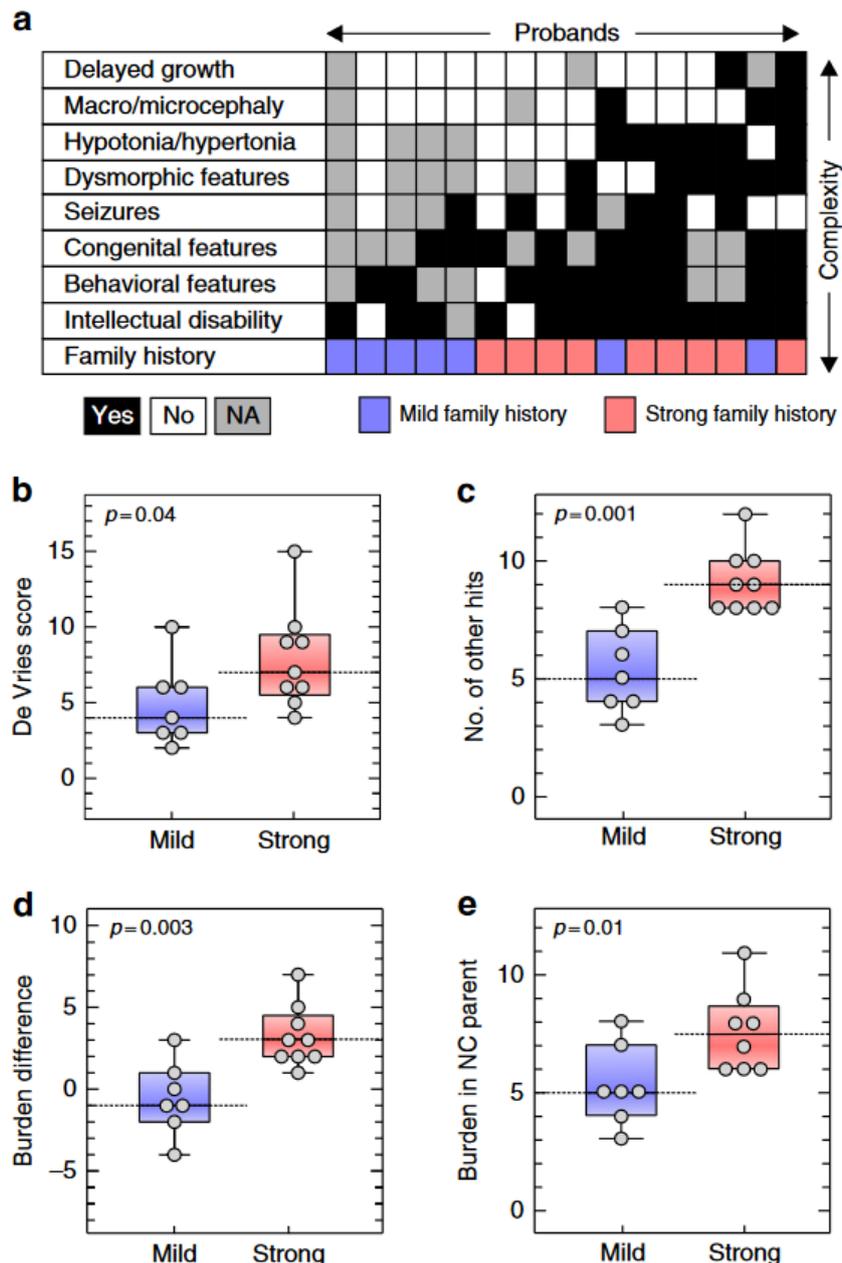


Figure 6. Corrélation entre l'histoire familiale, la charge en « other-hits » et la sévérité du phénotype chez les porteurs de délétion 16p12.1 (108)

Ils ont montré que plus l'histoire familiale est marquée par la survenue de TND plus le phénotype du cas index sera sévère et varié. Sur la **figure 6** on observe que ; b) le phénotype clinique est d'autant plus varié que le cas index est porteur de « other-hits » ; c) plus le cas

index a d'antécédents familiaux de TND plus il est porteur de « other-hits » ; d) les cas index avec de forts antécédents familiaux présentent une plus grande différence dans la charge en « other-hits » par rapport à leurs parents porteurs ; e) les parents non porteurs avec de forts antécédents familiaux de TND ont également une charge en « other-hits » plus élevée que ceux qui n'ont que peu d'antécédents de TND. Il y a donc une corrélation entre l'histoire familiale et la charge en « other-hits » et par conséquent, un effet sur la pénétrance et l'expressivité.

3.3.4 Le phénotype parental :

Les enfants atteints du syndrome de microdélétion 22q11.2, affichent une grande variabilité dans le score de QI, qui est fortement corrélé au QI parental (114). Le QI de ces enfants suit une distribution normale, similaire à la population, avec un QI en moyenne plus bas de 30 points (115). *Finucane et al.* ont schématisé ce phénomène (**figure 7**).

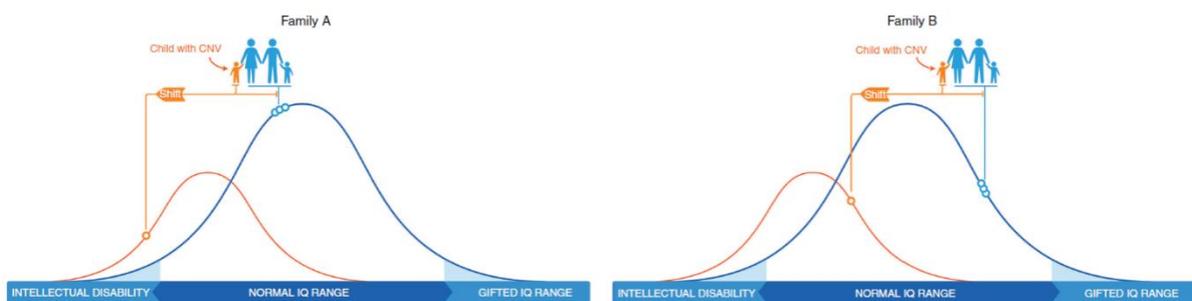


Figure 7. Baisse du QI suivant le QI parental (116)

Si le QI parental est dans la moyenne basse, la perte de QI chez l'enfant se traduira par une déficience intellectuelle. Si le QI parental se situe dans la moyenne haute, l'enfant du couple aura alors un QI inférieur à ces parents mais restera dans l'intervalle de normalité et ne pourra pas être considéré comme déficient intellectuel. Le QI parental peut alors avoir un effet atténuant chez les enfants porteurs d'une variation entraînant une déficience intellectuelle. Le phénotype familial permet d'expliquer et de prédire une partie de la variabilité phénotypique entre les individus.

3.3.5 Effet de genre :

L'effet du sexe de l'individu sur l'expressivité phénotypique des PIEV et sur la charge en « other-hit » n'est pas encore totalement connu, mais plusieurs équipes ont tenté d'étudier ce mécanisme et son impact sur la pénétrance et l'expressivité des PIEV. *Girirajan et al.* (106) avaient déjà remarqué en 2012, que les hommes étaient plus touchés par les CNV de

susceptibilité et que ces CNV étaient plus souvent hérités de la mère. Plusieurs autres études ont montré que les hommes sont davantage affectés par les TND que les femmes (117) avec un ratio de 4 : 1 (118). Paradoxalement, celles-ci ont une charge plus élevée en CNV rares et de grande taille (> 400 kb) (119),(120),(121). La plus grande tolérance des femmes vis-à-vis des CNV délétères pourrait s'expliquer par un mécanisme protecteur, suggéré par plusieurs auteurs. Elle dépendrait de l'exposition aux hormones stéroïdiennes sexuelles et de leur régulation, ainsi que de l'activité différentielle selon le sexe de certains types de cellules neurales (118).

Une méta-analyse de 2017 a estimé que le sex-ratio pour l'autisme serait plus proche de 3 : 1 et que ce biais serait vraisemblablement dû à un sous diagnostic chez la femme plutôt qu'à un effet protecteur (122). Cette hypothèse est soutenue par le fait que la présentation phénotypique est différente entre les sexes (123) et que les femmes ont moins souvent recours aux tests génétiques (124).

Quoiqu'il en soit, si le sexe de l'individu joue un rôle sur la charge en « other-hits » et sur la protection vis-à-vis de l'effet délétère de certains CNV, il est probable qu'il joue un rôle sur la pénétrance incomplète et l'expressivité variable.

3.3.6 Effet de l'âge :

En vieillissant, l'expression des gènes et la structure de la chromatine change, ce qui peut avoir un impact sur la pénétrance et l'expressivité (125). De manière générale, quand on parle de pénétrance, il faut prendre en compte l'âge de l'individu, car les premiers symptômes de certaines pathologies ne se déclenchent que plus tard dans la vie. C'est en général le cas des maladies causées par l'accumulation d'une protéine aberrante aboutissant à la mort cellulaire (126), comme la rétinite pigmentaire (127), l'hémochromatose ou encore la maladie de Huntington (128). Cette dernière présente une pénétrance complète, mais l'âge moyen d'apparition des premiers symptômes se situe entre 30 et 40 ans (128). Si on ne considère que les individus de moins de 20 ans, on pourrait croire à tort que la pénétrance est nulle. Alors que si on ne considère que des individus de plus de 50 ans, la pénétrance est quasiment égale à 100 %.

Certains gènes, quant à eux, ne sont exprimés qu'à un certain moment de la vie. Par exemple, la proportion relative de deux sous-unités protéiques dans le récepteur NMDA (acide N-méthyl-D-aspartique) change avec l'âge en fonction des niveaux d'expression des gènes

GRIN2A et *GRIN2B*. Ce qui pourra modifier l'expression phénotypique de variants délétères dans ces gènes. *GRIN2B* exprimé durant la vie fœtale est lié à de graves troubles cognitifs à la naissance, tandis que *GRIN2A* exprimé après la naissance est lié aux épilepsies dans l'enfance et à la schizophrénie chez l'adulte (76).

3.3.7 Effet de l'environnement :

L'ensemble des facteurs environnementaux et des expositions que subit un organisme pouvant impacter le phénotype est appelé exposome (129). De nombreux facteurs environnementaux influençant le développement pré et postnatal sont associés à des TND (130),(131). Cependant, la relation entre l'environnement et les PIEV est peu connue (132). Il est compliqué de connaître la part de la génétique et celle de l'environnement dans l'expression d'un phénotype car les facteurs environnementaux sont souvent inconnus ou difficiles à mesurer précisément. De plus, l'analyse de l'exposome nécessite de grandes études longitudinales avec un recueil des données génotypiques et phénotypiques très précis. Des cohortes telle que la cohorte iPSYCH, pourront permettre dans le futur d'étudier l'impact de l'environnement sur les TND (133).

Les premières équipes à avoir étudié l'effet de l'environnement sur le génome se servaient des modifications épigénétiques, c'est-à-dire la méthylation de l'ADN et du remodelage de la chromatine comme indicateur de l'interaction entre l'environnement et le génotype (8). *Voss et al.* (134) ont constaté une grande variabilité phénotypique chez des jumeaux homozygotes atteints du syndrome de DiGeorge, suggérant l'intervention d'un facteur non génétique (99). Ils ont pu démontrer l'interaction entre un facteur environnemental (vitamine A) et une modification épigénétique (haploinsuffisance du gène *KAT6A* situé sur le chromosome 8) pour moduler la présentation clinique du syndrome.

Des études plus récentes sur l'exposome se basent sur l'utilisation des « variances Quantitative Trait Loci » (vQTL) ou variances des loci de caractères quantitatifs. Un caractère quantitatif est un trait phénotypique continu au sein d'une population, qui est supposé être contrôlé par plusieurs gènes à effet faible. Certains gènes majeurs ont cependant un effet significatif sur ce caractère, ce sont les loci de caractère quantitatif (modèle oligogénique). Un locus de caractère quantitatif est une région chromosomique où sont localisés un ou plusieurs gènes à l'origine du caractère en question. Le but de cette méthode est de rechercher si le trait présent chez le patient est dû à son génotype ou à l'environnement. Si

les gènes associés à un QTL sont présents le trait provient du génotype, s'ils sont absents le trait provient de l'environnement. Plusieurs locus ont déjà été identifiés comme le locus *FTO* (pour « FaT mass and Obesity-associated protein ») dans lequel on retrouve les gènes *IRX3* et *IRX5* et qui seraient impliqués dans l'obésité (135). Il s'agit d'une méthode indirecte de la mesure de l'impact de l'environnement sur un phénotype (136),(137).

En résumé, la pénétrance incomplète et l'expressivité variable sont dues à de nombreux mécanismes complexes dont il est difficile de produire une liste exhaustive tant ils sont intriqués les uns avec les autres.

4. Autour d'un exemple :

Afin d'illustrer les concepts de pénétrance incomplète et d'expressivité variable à l'origine des difficultés d'interprétation, nous nous sommes intéressés aux microdélétions et aux microduplications récurrentes de la région 16p13.11. Alors que les délétions sont classées PIEV, le pouvoir pathogène des duplications n'est pas encore clairement établi. Dans ces circonstances, elles sont encore considérées comme des VOUS par le réseau AchroPuce, même si certains estiment qu'elles pourraient rejoindre la classe des PIEV. Cette absence de consensus peut poser de réelles difficultés pour le conseil génétique.

4.1 Les CNV récurrents de la région 16p13.11 :

Le bras court du chromosome 16 est particulièrement enrichi en grandes duplications segmentaires (138), également appelées Low Copy Repeats (LCR), qui sont apparues au cours de l'évolution (139). Ce sont des régions d'ADN de forte homologie dans lesquelles les mécanismes de recombinaison homologue non allélique (NAHR, Non Allelic Homologous Recombinaison) sont fréquents et induisent des réarrangements génomiques récurrents.

La recombinaison génétique est un échange d'information génétique entre deux chromosomes. Elle permet de créer de nouvelles combinaisons génétiques (**figure 8**).

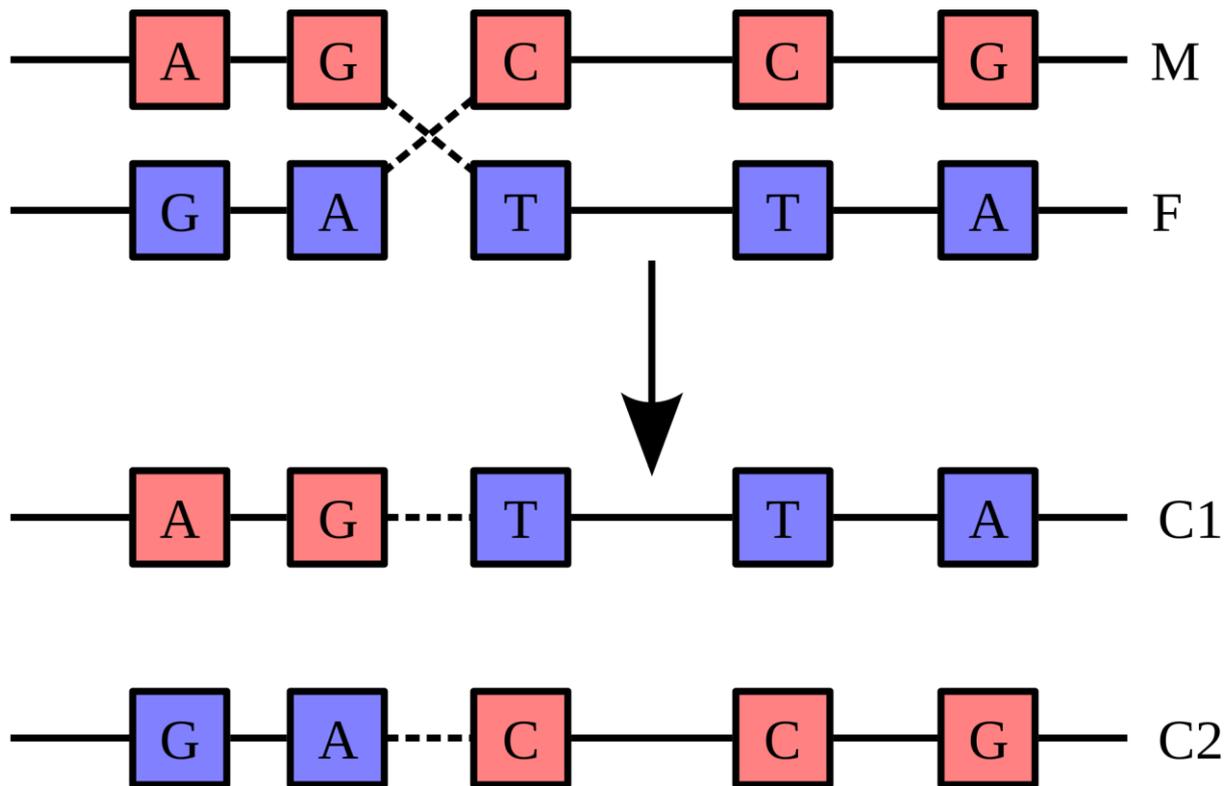


Figure 8. Schématisation de la recombinaison génétique (140)

C'est un phénomène naturel, universel et essentiel à l'évolution chez les êtres vivants, permettant de maintenir la diversité génétique dans une population. Les nouvelles combinaisons ainsi créées, assurent le brassage génétique et le maintien de la diversité, assurant à une espèce la possibilité de s'adapter à une modification de l'environnement. Chez l'Homme, la recombinaison génétique se produit lors de la reproduction sexuée, grâce à la méiose, ou dans les cellules somatiques, lors de la mitose. La première étape de la recombinaison segmentaire est la cassure double brin de l'ADN, qui sera ensuite réparée. Le NAHR est un des mécanismes de réparation de l'ADN double brin. En raison de leur haut degré d'identité, les duplications segmentaires peuvent favoriser la survenue de mésappariements qui peuvent entraîner des remaniements de structure chromosomiques dans les cellules filles (figure 9).

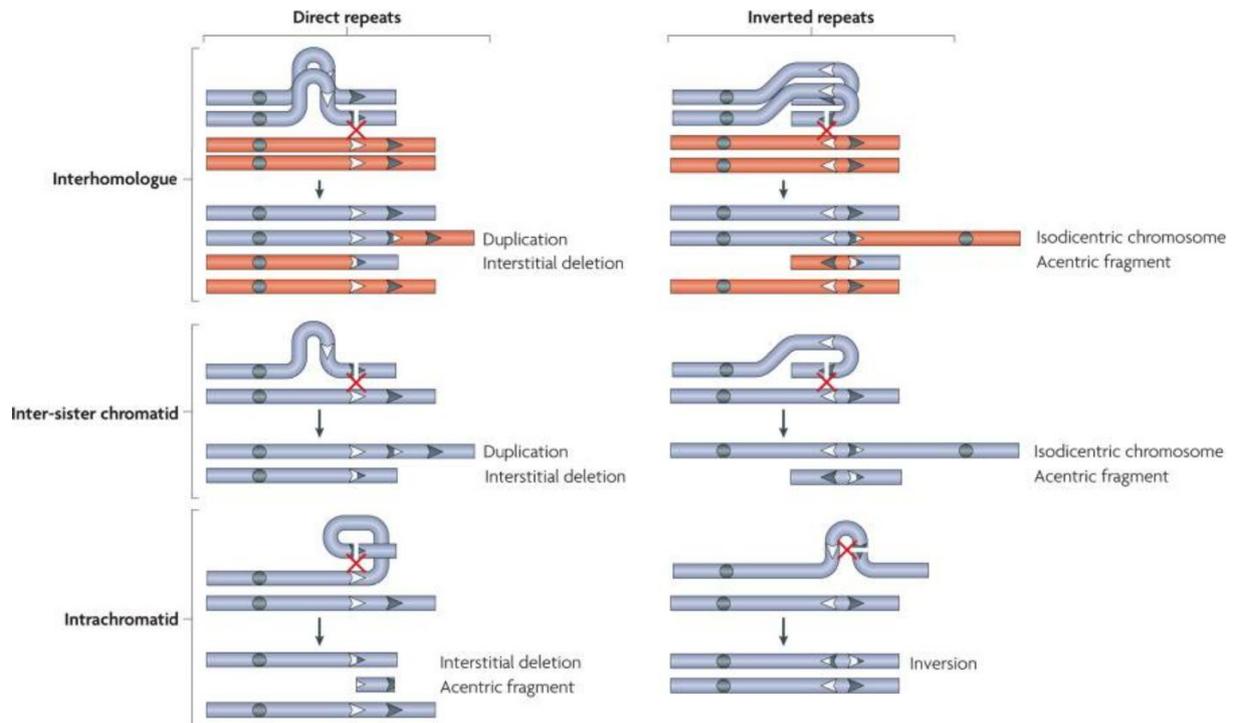


Figure 9. Illustration du mécanisme de recombinaison homologue non allélique (141)

Sur la **figure 9** sont représentés six résultats chromosomiques de recombinaisons homologues non alléliques entre duplions situés sur le même chromosome. Les chromosomes homologues sont représentés en bleu et en rouge et les chromatides sœurs de la même couleur. Ces mésappariements engendrent des délétions, des duplications, des inversions ou encore des chromosomes dicentriques et acentriques. Ce mécanisme est à l'origine de la majorité des syndromes microdélétionnels connus. La majorité des PIEV répertoriés par le réseau AchroPuce sont des remaniements récurrents induits par NAHR.

Ingason et al. en 2011 ont proposé une cartographie de la région impliquée dans les remaniements en 16p13.11 (**figure 10**).

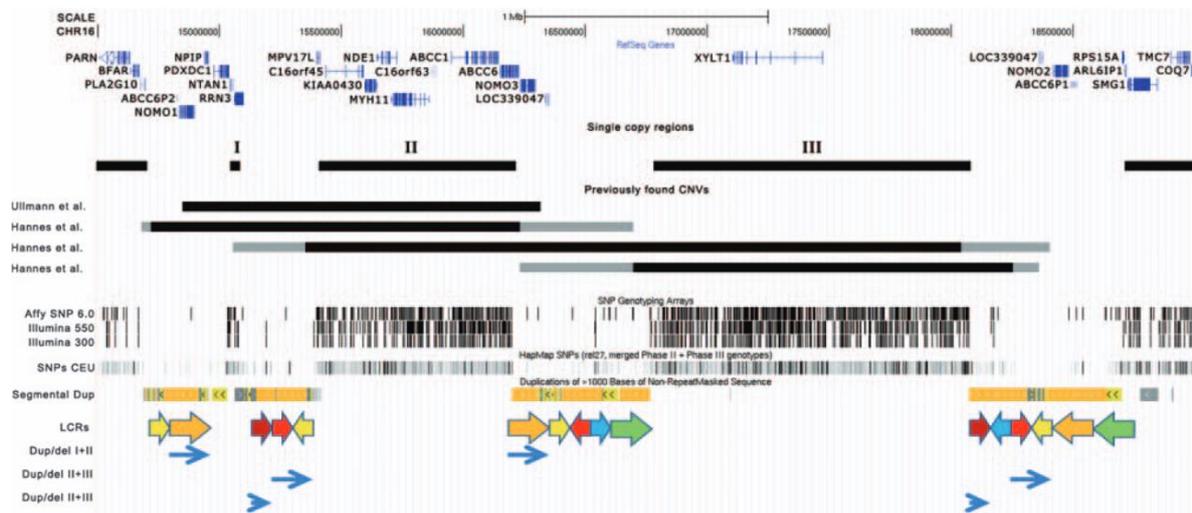


Figure 10. Organisation de la région 16p13.11 (142)

Elle est divisée en 3 intervalles distincts nommés I, II et III, tous flanqués par des duplications segmentaires avec un taux d'homologie $\geq 99\%$ (143). Cette région est donc particulièrement favorable aux réarrangements de type NAHR. Les points de cassure des duplications et des délétions initialement décrites par *Ullmann et al.* (144) ou encore *Hannes et al.* (143) se situent fréquemment en distal de l'intervalle I et en proximal de l'intervalle II, encadrant région proche de 1.5 Mb (14,98-16,48 Mb, GRCh37/hg19) (142). L'intervalle II (15,48-16,32 Mb, GRCh37/hg19), étant contenu dans la grande majorité des microdélétions 16p13.11 identifiées à ce jour, représenterait, selon *Tropeano et al.* (145), la région minimale critique incluant notamment les gène *NDE1*, *MYH11*, *ABCC6* et le miARN-484.

4.2 Les microdélétions 16p13.11 :

Les microdélétions classiquement identifiées ont une taille qui varie de 0,02 à 3,26 Mb (146). Leur fréquence de survenue est estimée par *Tropeano et al.* (145) à 1/14 000 (0,007 %) pour les patients symptomatiques et à 1/2 300 (0,04 %) au sein de la population générale. *Rosenfeld et al.* ont estimé respectivement cette fréquence à 50/33 226 (0,15 %) et à 12/22 246 (0,05%). Ces délétions sont majoritairement héritées avec une fréquence de survenue *de novo* de 21,7 % et une pénétrance faible de 13,1 % (7,91-21,3 %) (54). A noter que la pénétrance serait majorée chez les individus de sexe masculin possiblement en lien avec une surreprésentation de « other-hits » (146). Le tableau phénotypique des microdélétions 16p13.11 peut associer

des TND sans TSA, des épilepsies, une microcéphalie, une dysmorphie faciale, un retard moteur, des anomalies congénitales et plus rarement une obésité et un pseudoxanthome élastique (147) (tableau VI).

Phenotypes	Deletions			
	BB-GRE	Decipher	Overall	%
Developmental delay	8/14	25/29	33/43	76.7%
Dysmorphic features	5/14	12/29	17/43	39.5%
Speech delay*	3/8	8/20	11/28	39.3%
Learning difficulties*	6/8	5/19	11/27	40.7%
Psychiatric/Behavioural problems *	5/8	4/19	9/27	33.3%
Seizures*	2/8	7/20	9/28	32.1%
Microcephaly*	3/8	5/20	8/28	28.6%
Congenital anomalies	2/14	12/29	14/43	32.6%
Motor delay*	3/8	9/21	12/29	41.4%
Obesity*	-	1/20	1/28	3.6%

° This phenotype includes the diagnosis of behavioural problems, ADHD and autism spectrum disorder. ADHD was present only in duplication carriers (11.3%), but not in deletion carriers.

*Not evaluated in very young cases.

Tableau VI. Résumé et fréquences des caractéristiques cliniques présentent chez les porteurs d'une délétion 16p13.11 selon Tropeano et al. (146)

Devant la pénétrance incomplète, le fort taux d'héritabilité, l'expressivité variable, et les résultats des différentes études publiées, le groupe AchroPuce a proposé de classer ce CNV en PIEV (148).

4.3 Les microduplications 16p13.1 :

Les microduplications 16p13.11 ont une taille qui varie de 0,16 à 2,62 Mb (149). Allach El Khattabi et al. (149) ont estimé leur prévalence à 0,28 % dans leur cohorte de patients TND et à 0,17 % dans la population contrôle. Leur pénétrance a été évaluée à 8,43 % (5,17 - 13,31 %). Elles sont héritées dans 91 % des cas. Ils ont observé qu'il n'y avait pas d'effet de genre sur leur cohorte, contrairement à ce qui avait été vu précédemment par Tropeano et al. (146) qui avaient, quant à eux, montré une surreprésentation chez l'homme. Le tableau phénotypique des microduplications 16p13.11 peut associer des TND, dont des TSA, chez 67 % des patients, un retard moteur, des épilepsies mais aussi des malformations cérébrales et

cardiaques. En périnatal il peut exister des hypotonies et des difficultés d'alimentation (tableau VII).

	Our patients	Previous reports ¹⁻⁴	Total
Gender	22 M/23 F (0.96)	12 M/9 F/9 NR	1.06
Inheritance	3 <i>dn</i> /31 inherited 20 mat/11 pat	2 <i>dn</i> /18 inherited 15 mat/3 pat	89.8% inherited (71.4% mat, 28.6% pat)
Parent's phenotype when inherited	7 affected/16 unaffected/7 NR	3 affected/3 unaffected/10 NR	10 affected/19 unaffected/17 NR
Perinatal data			
Hypotonia	5/21 (24%)	0/10	5/31 (16%)
Feeding difficulties	5/17 (29%)	1/1	6/18 (33%)
Neurodevelopmental features			
Motor delay	19/39 (49%)	5/14	24/53 (45%)
Speech delay	35/40 (88%)	14/20	51/62 (82%)
Learning disabilities/ID	30/35 (86%)	14/17	44/52 (85%)
ASD	24/36 (67%)	14/21	38/57 (67%)
Seizures	10/29 (34%)	1/11	11/40 (28%)
Malformations			
Abnormal brain MRI	7/24 (29%) (3 cases of myelination delay)	1/9	8/33 (24%)
Cardiac malformations	4/15 (27%)	2/11	6/26 (23%)

ASD, autism spectrum disorder; *dn*, de novo; ID, intellectual deficiency; mat, maternally inherited; NR, not reported; pat, paternally inherited.

Tableau VII. Résumé et fréquences des caractéristiques cliniques chez les porteurs d'une duplication 16p13.11 selon Allach El Khattabi et al. (149)

Des études ont montré que la prévalence chez les cas était de 0,28 % contre 0,17 % dans la population générale, soit un Odds Ratio (OR) égal à 1,65, ce qui est proche de 1 et limite ainsi le risque que le génotype soit impliqué dans le phénotype. La pénétrance estimée est faible, de l'ordre de 8,43 % (149). En comparaison, les délétions ont une prévalence chez les cas de 0,15 %, et de 0,05 % pour la population, soit un OR égal à 3. Il y a donc trois fois plus de risque d'exprimer un phénotype anormal si l'on est porteur d'une délétion. La pénétrance des duplications est estimée à 13,1 %. Devant l'absence de consensus dans la littérature sur la signification clinique des microduplications 16p13.11. le réseau AchroPuce recommande de les classer VOUS (148).

5. Objectifs :

L'objectif principal de ce travail de thèse sera de colliger l'ensemble des patients porteurs de CNV impliquant la région 16p13.11 diagnostiqués dans le service de cytogénétique du CHU de Clermont-Ferrand au cours de la période s'étendant du 28/06/2011 au 28/10/2021, d'étudier l'impact sur le phénotype de ces variations selon leurs caractéristiques moléculaires (nombre de copies, taille, position génomique) et de comparer ces résultats aux données scientifiques actuelles. Ceci nous permettra probablement d'illustrer les difficultés de classement et d'interprétation de variations pouvant présenter une pénétrance incomplète et/ou une

expressivité variable, à l'origine d'un conseil génétique parfois difficile à dispenser. Nous nous attacherons, dans un second temps à apporter quelques éléments de réflexion quant à la signification clinique des microduplications 16p13.11, qui pour le moment, ne fait pas consensus au sein de la communauté scientifique.

MATERIELS ET METHODES

1. Techniques de cytogénétique :

Tous les patients inclus dans cette étude ont bénéficié d'une ACPA en première intention. En cas de découverte de déséquilibre génomique, le réseau AchroPuce recommande de vérifier le résultat d'ACPA par hybridation fluorescente in situ (FISH, Fluorescence In Situ Hybridization) ou par une autre technique, suivant la taille de la variation et des sondes disponibles (16). Cela permet de déterminer le mécanisme chromosomique (en cas de vérification par FISH), d'éliminer une erreur d'identitovigilance (150) et d'anticiper l'étude de ségrégation parentale.

Au CHU de Clermont-Ferrand, nous utilisons la technique de FISH pour les délétions > 700 kb et les duplications > 1600 Kb. La QMF-PCR (Quantitative Multiplex Polymerase Chain Reaction of short Fluorescent fragments) est utilisée pour les variations plus petites. L'étude de ségrégation parentale sera réalisée par la technique de confirmation utilisée chez le propositus.

1.1 Analyse Chromosomique sur Puce à ADN :

Le terme ACPA désigne l'ensemble des techniques permettant une analyse globale du génome sur micro-réseaux (Array). Un micro-réseau, également appelé puce à ADN, est un support (préférentiellement en verre) sur lequel sont fixés de petits fragments d'ADN que l'on appelle sondes (151). Ces techniques sont basées sur les homologies de séquences d'ADN, permettant l'identification d'un déséquilibre en perte ou en gain, de tout ou partie, d'une ou plusieurs régions génomiques (16). Il existe deux grandes catégories de micropuces à savoir, les puces à SNP et les puces à hybridation génomique comparative (CGH-array, Comparative Genomic Hybridization) (152) utilisées au CHU de Clermont-Ferrand.

La technique de CGH-array est une méthode de comparaison de la quantité d'ADN présente, au niveau d'une région génomique, entre un patient et un témoin qui servira de contrôle (**figure 11**).

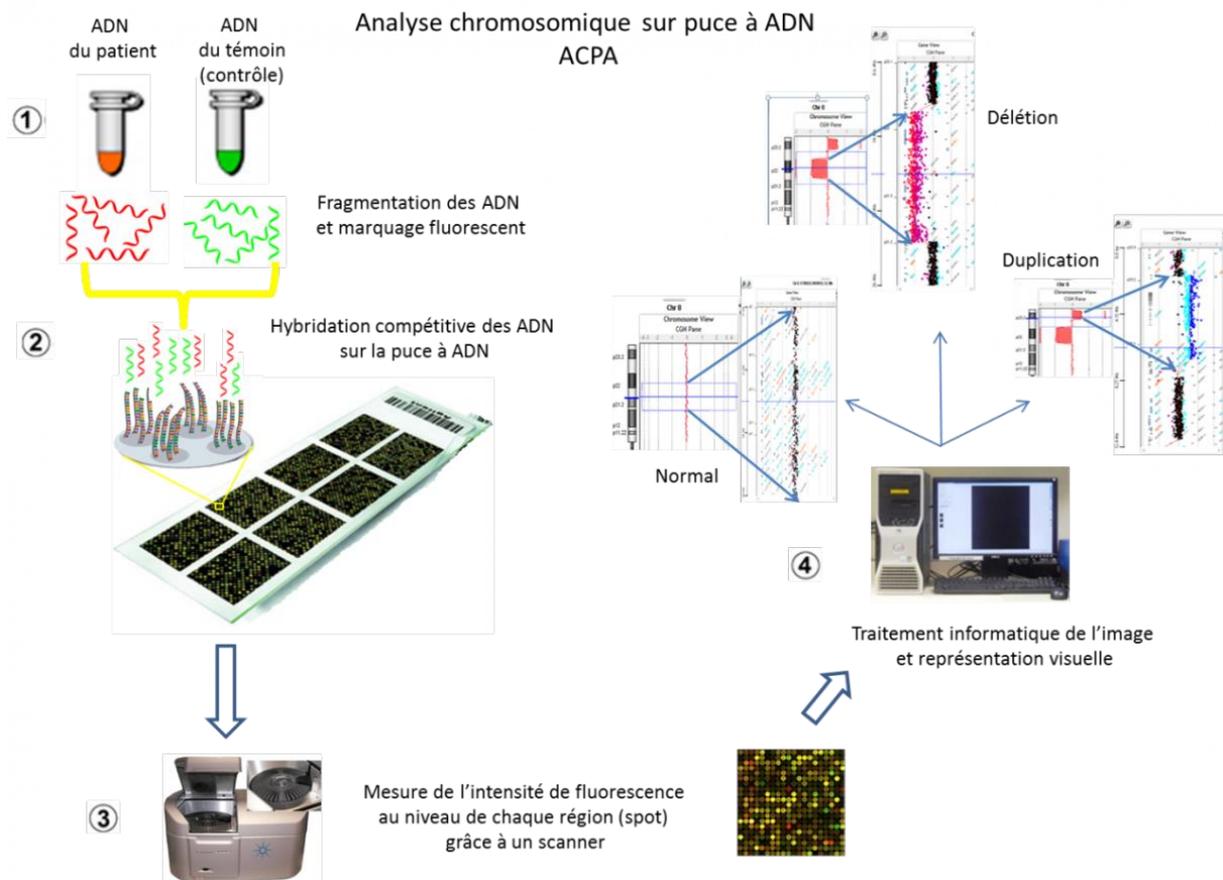


Figure 11. Schématisation de la technique de CGH-array (152)

En premier lieu, l'ADN du patient et l'ADN témoin sont fragmentés via une exonucléase (Exo Klenow) puis marqués chacun par un fluorochrome, à savoir la Cyanine 3 qui marque en vert (l'ADN témoin) et la Cyanine 5 qui marque en rouge (l'ADN patient). Un mélange de même quantité d'ADN est ensuite déposé sur une puce à ADN sur laquelle les fragments d'ADN vont pouvoir s'hybrider. Il existe plusieurs protocoles d'hybridation selon les laboratoires et les recommandations des fournisseurs : en simple contre un patient témoin, en trio, en quatuor, en sexe opposé ou non, en inversion de fluorescence (dye-swap) ou non. Le choix du modèle doit être documenté sur le compte-rendu. Au laboratoire nous utilisons une hybridation dye-swap en quatuor (**figure 12**).

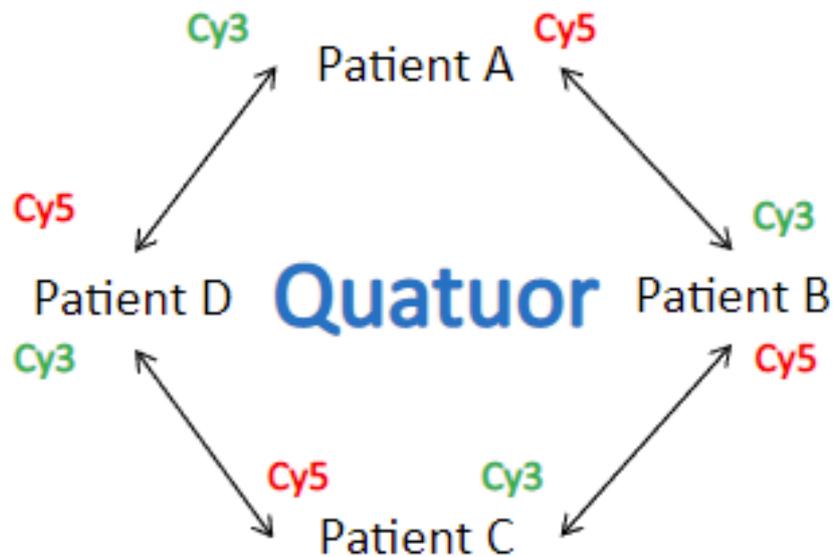


Figure 12. Schématisation de l'hybridation dye-swap en quatuor (153)

Le « dye-swap » implique que chaque patient soit analysé en Cyanine 3 mais aussi en Cyanine 5. Le terme « quatuor » implique que 4 patients soient analysés deux à deux comme sur la **figure 12**.

L'hybridation est réalisée en plusieurs étapes. D'abord on met en contact les ADN et le mix d'hybridation. Le mélange d'hybridation est ensuite dénaturé à 98°C durant 3 minutes puis pré-hybridé à 37°C durant 30 min dans un thermocycleur. Puis il est déposé sur la puce et placé dans un four Agilent® à 67°C pendant 24 heures. Pour finir, les lames sont lavées dans différents tampons, et placées dans un scanner qui va capturer des images qui seront interprétées via un logiciel informatiques. Au CHU nous utilisons le scanner Agilent® et le logiciel « Agilent Feature Extraction ». Celui-ci reconnaît les régions fluorescentes, détermine l'intensité des signaux fluorescents, compile les résultats dans un listing qui relie le signal fluorescent de chaque spot au nom de l'oligonucléotide, détermine sa double position sur la lame, sa position dans le génome et normalise l'intensité des ratios Cyanine 5/Cyanine 3. La visualisation des profils d'hybridation est rendue possible grâce à l'utilisation du logiciel « Cytogenomics ».

Pour chaque sonde, le logarithme en base 2 du rapport de l'intensité de la fluorescence de la Cyanine 5 (patient en rouge) sur celui de la Cyanine 3 (témoin en vert) est calculé (**figure 13**).

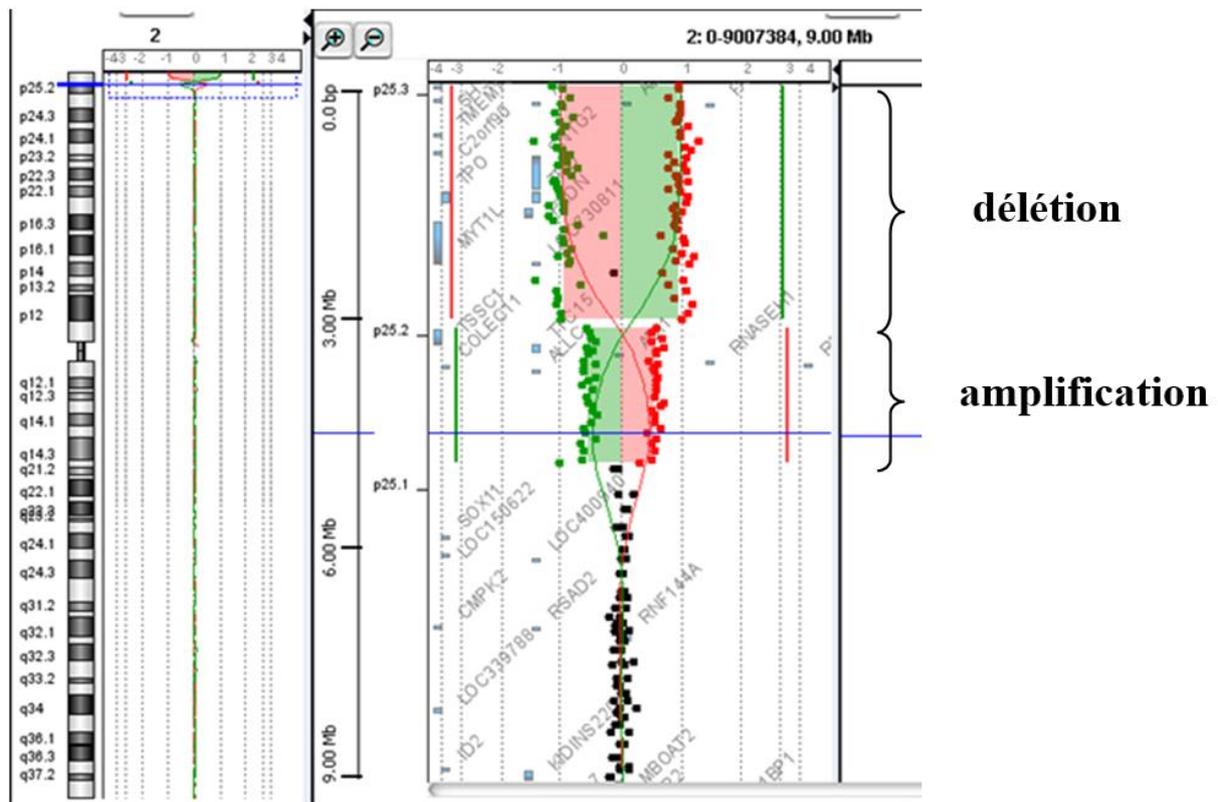


Figure 13. Représentation graphique du rapport de fluorescence patient (rouge)/témoin (vert) (154)

Lorsque le patient et le témoin ont la même quantité d'ADN (deux copies pour la même région), la courbe est sur le 0 ($\log_2\left(\frac{2}{2}\right) = 0$). Lorsqu'il existe une délétion chez le patient (1 copie pour le patient et 2 pour le témoin), la courbe sera déviée en « - 1 » ($\log_2\left(\frac{1}{2}\right) = - 1$). Lorsqu'il existe une duplication chez le patient (3 copies chez le patient et 2 chez le témoin), la courbe sera déviée en « + 0,58 » ($\log_2\left(\frac{3}{2}\right) = 0,58$). De cette manière le biologiste peut relever chacun des CNV présents sur le génome avant de les interpréter. La résolution de la CGH-array dépendra de la puce utilisée. Au laboratoire nous utilisons une puce 60 K Agilent®. Elle contient environ 60 000 nucléotides répartis sur la puce, espacés de 50 kb. Ne sont retenus que les CNV définis au minimum par la déviation de 3 sondes consécutives, équivalant à un seuil de détection théorique de 100 kb. Le seuil de détection recommandé dans le guide AchroPuce est de 200 kb en postnatal (16). La technique d'ACPA présente l'avantage d'avoir une résolution 100 fois supérieure au caryotype standard (100 kb contre 5 à 10 Mb pour le caryotype), est capable de détecter les gains ou les pertes chromosomiques et permet une analyse pangénomique. En revanche, elle ne détecte pas les remaniements équilibrés (car elle est conçue pour détecter la perte ou le gain de copies), ne détecte pas les mosaïques faibles

(les mosaïques < 20 % sont difficiles à différencier du bruit de fond), ne détecte pas les polyplœidies (car la quantité d'ADN est normalisée avant analyse), ne détecte pas les CNV de très petites tailles (inférieure au seuil de détection) et surtout, ne permet pas d'évaluer la mécanique chromosomique.

1.2 Confirmation par FISH :

L'hybridation fluorescente *in situ* est une technique de cytogénétique moléculaire développée dans les années 1980 (154). Il existe deux types de FISH : métaphasique (réalisée après culture cellulaire) ou interphasique (réalisée en direct sur le prélèvement d'origine). Pour les techniques de confirmation nous utilisons la FISH métaphasique car elle nous permet de visualiser les chromosomes, de définir le nombre de signaux obtenus et leur position, et ainsi d'analyser le mécanisme chromosomique. Cette technique utilise des sondes spécifiques couplées à un marqueur fluorescent qui s'hybride sur les séquences complémentaires présentes sur l'ADN du patient.

La technique est réalisée sur des étalements de culots chromosomiques fixés obtenus après choc hypotonique des cellules et fixation, au décours d'une étape de culture cellulaire. La lame est d'abord traitée avec de la pepsine pour dégrader les liaisons peptidiques et ainsi éliminer les structures membranaires. Elle est ensuite plongée dans un bain de tampon phosphate salin pour neutraliser l'action de l'enzyme. Comme les sondes sont hydrophobes, les lames sont alors plongées dans des bains d'alcool de plus en plus concentrés pour éliminer l'eau résiduelle. Les sondes, sélectionnées pour identifier la variation à confirmer, sont ensuite déposées sur la lame. L'ensemble est alors placé dans un thermocycleur. La température va augmenter suivant la sonde choisie pour dénaturer l'ADN, puis elle va ensuite redescendre à 37°C pour que les sondes puissent s'hybrider à l'ADN. Les lames seront ensuite lavées afin d'éliminer les excès de sondes, puis un dépôt de DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole) permettra de colorer l'ADN. Les lames seront finalement lues au microscope à fluorescence afin de détecter la présence (2 spots), l'absence (1 spot), la surreprésentation (> 2 spots) ou encore la position anormale d'un signal fluorescent émis par les sondes fixées (155) (**figure 14**).

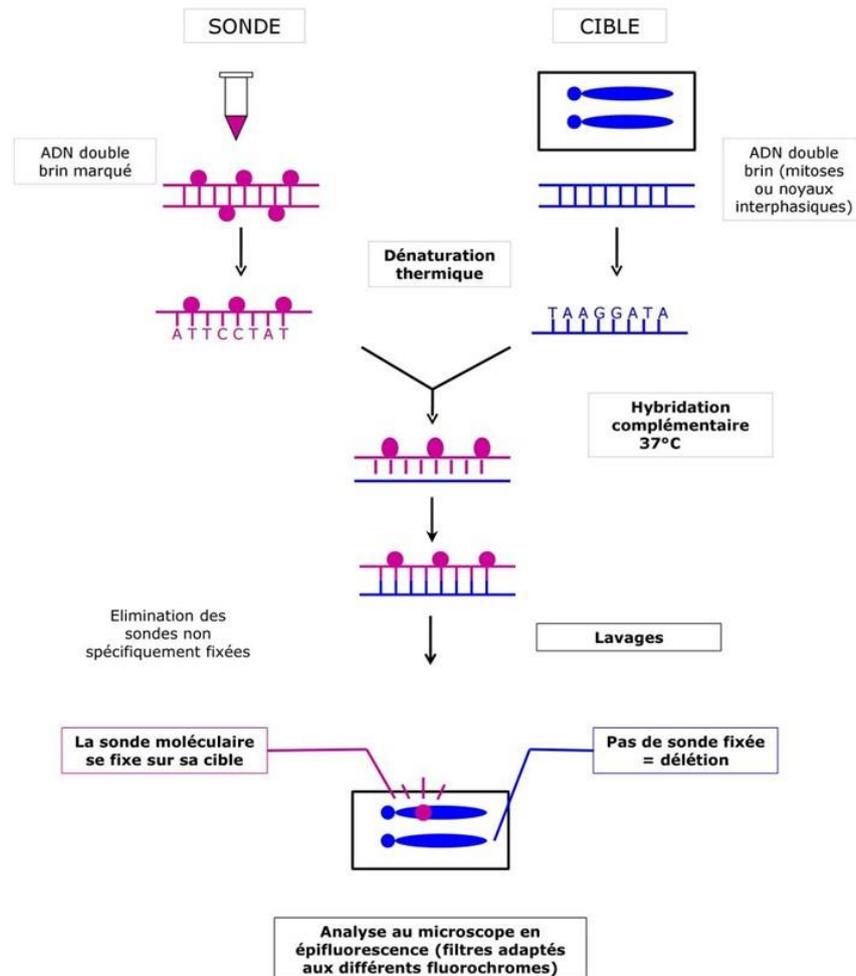


Figure 14. Schématisation de la technique de FISH (157)

La FISH présente de nombreux avantages. Il existe une très grande variété de sondes, la résolution est supérieure au caryotype, il est possible d'analyser un très grand nombre de cellules simultanément et elle permet de détecter les anomalies équilibrées (FISH métaphasique) et déséquilibrées (FISH métaphasique et interphasique). Son inconvénient principal réside dans le fait que c'est une technique ciblée, qui exige d'avoir un a priori sur les anomalies chromosomiques recherchées. Mais elle reste tout à fait indiquée pour confirmer l'existence d'un CNV identifié à l'ACPA et peut révéler des informations sur la structure des chromosomes, contrairement aux techniques moléculaires telles que l'ACPA et la QMF-PCR.

1.3 Confirmation par QMF-PCR :

La QMF-PCR est une méthode semi-quantitative basée sur une PCR multiplex de courts fragments fluorescents (156). Elle génère des amplicons de petite taille (< 300 pb) pour chaque région d'intérêt grâce à deux amorces spécifiques couplées à une amorce universelle marquée par un fluorochrome (157). Des individus contrôles sans anomalie détectée à l'ACPA sont

utilisés comme témoin négatif dans chaque expérience. Après une amplification PCR avec un nombre de cycle limité pour se situer en phase exponentielle, les produits sont placés dans un séquenceur automatique (ABI 3500 genome analyser). Les résultats apparaissent sous forme d'électrophorégrammes. L'analyse des tracés est basée sur la comparaison des aires sous la courbe des pics entre deux échantillons distincts pour chaque région d'intérêt, après superposition informatique des tracés et normalisation avec un amplicon de référence. De cette manière, en cas de délétion, duplication ou triplification on observe respectivement un ratio théorique d'une valeur de 0,5 / 1,5 et 2 (**figure 15**).

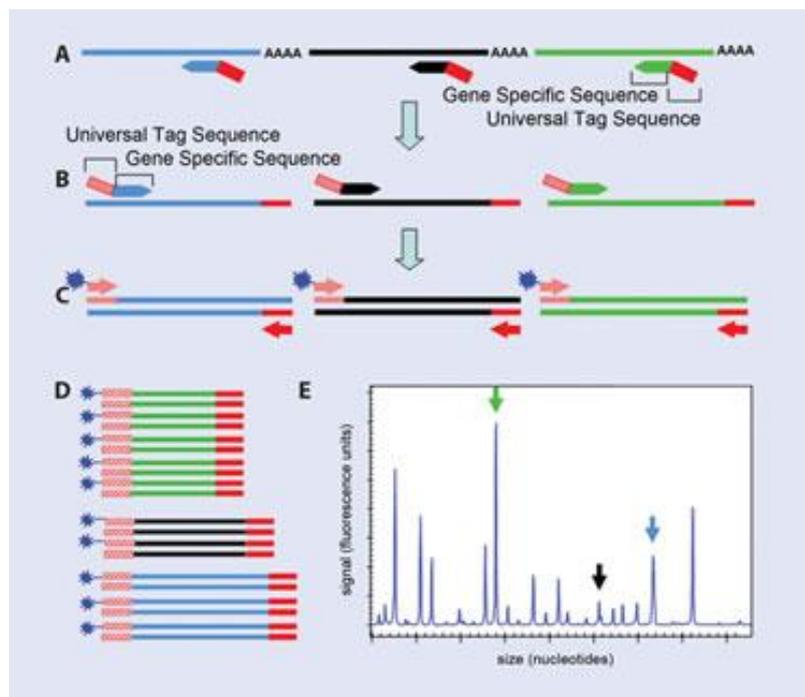


Figure 15. Schématisation de la technique de QMF-PCR (160)

La QMF-PCR a une bonne résolution puisque les fragments ont une taille < 300 pb. Elle reste très flexible, car il est simple de « designer » de nouvelles amorces en fonction des anomalies à rechercher (158). En revanche, son principal inconvénient est d'être une analyse ciblée comme la FISH (même s'il est possible d'utiliser plusieurs amorces à la fois), et de n'apporter aucune information sur la structure et le mécanisme chromosomique.

En conclusion, si la taille le permet, la FISH reste à privilégier car elle permet de donner une information sur la mécanique chromosomique et la structure des chromosomes. De plus, il est recommandé de confirmer un remaniement sur un tube de nature différente que celui utilisé pour extraire l'ADN ayant permis de réaliser l'ACPA, ce qui est le cas en FISH car elle nécessite un tube héparinate de lithium et non EDTA (16).

RESULTATS

1. Données cliniques et épidémiologiques :

1.1 Les délétions 16p13.11 :

Notre cohorte comprend 7 porteurs de délétions impliquant la région 16p13.11. L'âge moyen au diagnostic est de 7,74 ans, allant de 2 ans à 16 ans. Le sex-ratio est de 1,33 indiquant un léger biais masculin. Nos patients présentent dans 71 % des cas un RGD avec difficultés d'apprentissage, retards de langage et DI plus ou moins associés à des épilepsies, des atteintes ORL à type de surdité ou encore des atteintes ophtalmologiques comme le strabisme dans 43 % des cas. Le reste du tableau clinique est très varié. On retrouve des troubles du comportement (TC), des troubles envahissant du développement (TED) ainsi que des atteintes d'organes multiples. Ces délétions ont été considérées comme responsable du phénotype pour 86 % des patients (**Tableau VIII**).

Délétions	1	2	3	4	5	6	7	Total
Âge moyen au diagnostic (années)	7,63	5,88	7,64	16,41	9,95	4,61	2,04	7,74
Genre	F	M	M	M	F	F	M	1,33
CNV responsable du phénotype	+	+	+	+	+	+	-	86 %
Troubles neuro-développementaux								
RGD	+	-	+	+	+	+	-	71 %
Troubles du comportement	+	-	-	-	-	+	-	29 %
TED	-	+	-	+	-	-	-	29 %
Epilepsie	+	-	-	+	-	+	-	43 %
Malformations/Atteintes d'organes								
Dysmorphie	+	-	-	-	-	-	-	14 %
Musculo-squelettiques	+	+	-	-	-	-	-	29 %
ORL	+	-	-	+	+	-	-	43 %
Ophtalmologiques	+	-	+	-	-	+	-	43 %
Pulmonaires	+	-	-	-	-	-	-	14 %
Génitales	+	-	-	-	-	-	+	29 %
Cutanées	-	-	-	-	-	-	-	0 %
Rénales	-	-	-	+	-	-	-	14 %
Cardiaques/Vasculaires	-	-	-	-	-	-	-	0 %
Cranios­ténoses	-	-	+	-	-	-	-	14 %
Microcéphalie	-	-	-	-	-	-	-	0 %
Autres								
Migraines invalidantes	-	+	-	-	-	-	-	14 %
Obésités	-	-	-	-	-	+	-	14 %

Tableau VIII. Caractéristiques cliniques des patients de notre cohorte porteurs de délétions de la région 16p13.11

1.2 Les duplications 16p13.11 :

Les porteurs de duplications sont également au nombre de 7. L'âge moyen au diagnostic est de 5,89 ans, allant de 2 à 15 ans. Le sex-ratio est de 2,55 indiquant une surreprésentation chez

les individus de sexe masculin. Au niveau phénotypique, on retrouve un RGD dans 57 % des cas. Il y a aussi des troubles du comportement et des troubles musculosquelettiques chez 43 % des patients. Seul un patient présente une atteinte cardiaque. Nous n'avons pas retrouvé de TED ou d'épilepsie dans notre cohorte. A l'instar des délétions, le reste du tableau clinique est très varié avec différentes atteintes d'organes. Les duplications ont été identifiées comme possiblement en lien avec le phénotype chez 86 % des patients (**Tableau IX**).

Duplications	8	9	10	11	12	13	14	Total
Âge moyen au diagnostic (années)	4,96	4,24	7,06	5,36	15,01	2,33	2,25	5,89
Genre	M	M	M	M	M	F	F	2,55
CNV responsable du phénotype	+	+	+	+	+	-	+	86 %
Troubles neuro-développementaux								
RGD	+	-	+	-	+	-	+	57 %
Troubles du comportement	-	+	+	+	-	-	-	43 %
TED	-	-	-	-	-	-	-	0 %
Epilepsie	-	-	-	-	-	-	-	0 %
Malformations/Atteintes d'organes								
Dysmorphie	-	-	-	-	+	-	-	14 %
Musculo-squelettiques	+	-	-	-	-	+	+	43 %
ORL	-	+	-	-	-	-	-	14 %
Ophtalmologiques	+	-	+	+	-	-	-	43 %
Pulmonaires	-	-	-	-	-	-	-	0 %
Génitales	-	-	+	-	+	-	-	29 %
Cutanées	-	-	+	-	+	-	-	29 %
Rénales	-	-	-	-	-	-	-	0 %
Cardiaques/Vasculaires	-	-	-	-	-	+	-	14 %
Cranios­ténoses	-	-	-	-	-	-	-	0 %
Microcéphalie	-	-	-	-	-	-	+	14 %
Autres								
Migraines invalidantes	-	-	-	-	-	-	-	0 %
Obésités	-	-	-	-	-	-	-	0 %

Tableau IX. Caractéristiques cliniques des patients de notre cohorte porteurs de duplications de la région 16p13.11

2. Caractéristiques cytogénétiques et transmission parentale :

2.1 Les délétions 16p13.11 :

Les régions délétées s'étendent de la position 14,968,855 à la position 18,112,776 avec une taille allant de 1,20 Mb à 2,62 Mb. La région 16p13.11 peut-être divisée en 3 segments encadrés par des duplications segmentaires (142). Tous les CNV impliquent l'intervalle II et 86 % contiennent les régions I et II. Un seul patient présente un CNV incluant la région II et III. Sur 7 patients, 3 délétions sont héritées, 3 sont *de novo* et 1 est de transmission inconnue. Ce qui fait un taux d'héritabilité de 50 %. Elles sont héritées du père dans 2/3 des cas. Chez les

parents porteurs, seule la mère du patient n°1 est symptomatique mais sans RGD. Le propositus présente quant à lui, un phénotype plus sévère avec une dysmorphie, des épilepsies, un RGD ainsi que des anomalies squelettiques, des atteintes ORL, ophtalmologiques, pulmonaires et génitales (**Tableau X**).

N°	Nomenclature CNV (hg19/GRCh37)	Régions	Taille (Mb)	Héritabilité	Phénotype parental
1	16p13.11-p12.3(14,968,855-16,292,235)x1	I / II	1,32	Maternelle	Epilepsie
2	16p13.11(14,968,855-16,267,306)x1	I / II	1,30	Paternelle	Normal
3	16p13.11p12.3(15,492,317_18,112,776)x1	II / III	2.62	<i>De novo</i>	
4	16p13.11(15,131,723_16,276,115)x1	I / II	1,14	NR	NR
5	16p13.11(15,048,751_16,249,607)x1	I / II	1,20	<i>De novo</i>	
6	16p13.11(15,048,751_16,276,115)x1	I / II	1,23	<i>De novo</i>	
7	16p13.11(15,048,751_16,249,607)x1	I / II	1,20	Paternelle	Normal

Tableau X. Caractéristiques cytogénétiques des délétions 16p13.11 et transmission parentale pour chaque patient

2.1 Les duplications 16p13.11 :

Les duplications s'étendent de la position 15,048,751 à la position 18,162,167 avec une taille comprise entre 0,76 et 2,67 Mb. Toutes impliquent la région II. Deux duplications impliquent les régions I / II et deux autres impliquent les régions II / III.

Le CNV est hérité chez l'ensemble des patients et provient majoritairement du père (71 %).

A noter que les patients 10 et 11 sont frères. L'enfant n°10 présente un retard de langage, des troubles du comportement, une hydrocèle, un eczéma et une myopie. L'enfant n°11 présente des troubles du comportement avec hétéro-agressivité ainsi qu'un strabisme. Leur père présente un phénotype concordant à type d'agitation psychomotrice dans l'enfance.

Ces trois individus sont porteurs d'un second CNV sur le chromosome 9 qui n'est pas retrouvé dans le reste de la cohorte (**Tableau XI**).

N°	Nomenclature CNV (hg19/GRCh37)	Régions	Taille (Mb)	Héritabilité	Phénotype parental	Autre CNV
8	16p13.11p12.3(15,492,317-18,162,167)x3	II / III	2,67	Paternelle	Normal	
9	16p13.11(15,131,723_16,249,607)x3	I / II	1,12	Maternelle	Normal	
10*	16p13.11(15,492,317-16,249,607)x3	II	0,76	Paternelle	Troubles du comportement	9q34.2q34.3(136974275_137582817)x3
11*	16p13.11(15,492,317-16,249,607)x3	II	0,76	Paternelle	Troubles du comportement	9q34.2q34.3(136974275_137582817)x3
12	16p13.11p12.3(15,492,317-18,012,461)x3	II / III	2.52	Maternelle	Normal	
13	16p13.11(16,060,384_16,276,115)x3	II	0,22	Paternelle	Normal	
14	16p13.11(15,048,751_16,276,115)x3 pat	I / II	1,23	Paternelle	Normal	

*Apparentés

Tableau XI. Caractéristiques cytogénétiques des duplications 16p13.11 et transmission parentale pour chaque patient

DISCUSSION

Nous avons décrit 7 patients porteurs de délétions et 7 patients porteurs de duplications 16p13.11. Toutes les variations identifiées impliquent la région II (142), ce qui tend à confirmer l'hypothèse selon laquelle elle constituerait la région minimale critique nécessaire à l'expression phénotypique du syndrome (145).

La totalité des CNV sont caractérisés par des points de cassures se situant dans les LCR, confirmant l'implication d'un mécanisme de NAHR dans la survenue de ces délétions ou duplications.

Nous avons observé un biais lié au sexe avec une surreprésentation chez le garçon. Le biais observé pour les délétions est proche de 1 mais notre effectif est faible, il se peut qu'il ne soit pas représentatif. En revanche, le biais observé dans les duplications est plus prononcé, ce qui pourrait suggérer une pénétrance plus élevée chez l'homme que chez la femme avec un rapport de 2,55. *Tropeano et al.* (146) ont observé un enrichissement significatif en CNV de la région 16p13.11 chez les hommes atteints (Odds Ratio = 5,62) mais pas chez les femmes (OR = 1.19). Ce résultat pourrait suggérer un mécanisme protecteur chez les femmes comme évoqué précédemment. Cette surreprésentation n'a toutefois pas été confirmée par *Allach El Khattabi et al.* dans leur étude de 2018 portant sur 45 cas de duplications 16p13.11 (149). D'autres études sur de plus grands échantillons sont nécessaires pour affirmer ou infirmer cette surexpression chez l'homme.

Les délétions sont héritées chez la moitié des patients (3/6) alors que les duplications sont toutes héritées (7/7), et l'ensemble des parents porteurs présente un phénotype normal ou subnormal. On retrouve cette différence dans la littérature où les délétions apparaissent *de novo* dans 21,7 % des cas (54) alors que les duplications sont héritées dans 91 % des cas (149). Au niveau phénotypique, les TND sont présents chez 86 % des porteurs de délétions et de duplications. Il faut cependant noter que les patients n°7 (délétion) et n°13 (duplication) ont respectivement 2 et 5 ans. Il serait intéressant de réévaluer le phénotype de ces patients à distance du diagnostic car, comme nous l'avons vu, la pénétrance est également corrélée à l'âge du patient. Nous avons considéré les délétions comme responsables du phénotype et les duplications comme possiblement impliquées, chez l'ensemble des patients présentant un TND, ce qui représentent 86 % des individus de chaque groupe. Le phénotype neurodéveloppemental est superposable à celui décrit dans la littérature pour les délétions. En revanche, nous ne retrouvons pas de TSA ni d'épilepsie chez les porteurs de duplications

alors qu'elles concernent respectivement 67 % et 28 % des cas dans l'étude de *Allach El Khattabi et al.* (149).

A noter que les patients n°10 et 11 sont frères et présentent tous deux un second CNV. Il s'agit d'une duplication sur le bras long du chromosome 9, héritée de leur père. Il comprend le gène *COL5A1* qui, en cas de variation ponctuelle autosomique dominante, est responsable du syndrome d'Ehlers-Danlos. La revue des bases de données nationales et internationales n'a pas permis d'identifier de variations comparables en taille et en position génomique. Ce variant a été classé VOUS (score ACMG = 0,3). A l'instar de la microdélétion 16p12.1 (139) chez qui le « two-hit model » a été proposé, ce second CNV interroge quant à son implication possible dans une variabilité de la pénétrance et de l'expressivité. Cependant, il n'a été retrouvé que dans la fratrie et chez le père, qui présentent tous trois un phénotype de sévérité différente. Il est donc peu probable qu'il ait un impact sur la survenue des troubles du comportement observés.

On constate que les porteurs de délétions expriment un phénotype neurodéveloppemental plus sévère que les porteurs de duplications, avec une association de plusieurs troubles, ce qui n'a pas été décrit dans la littérature (144),(146),(149)(159),(160). *Ullmann et al.* (144) ont observé que la variabilité phénotypique était corrélée à la taille du CNV, ce qui n'est pas le cas dans notre cohorte, ni dans l'étude la plus récente (149). De plus, il n'y pas d'effet en fonction du nombre ou du type de segments atteints.

L'implication de ces CNV dans les TND pourrait s'expliquer par la présence dans la région minimale critique, du gène *NED1* et du miARN-484. Le gène *NDE1* (nude neurodevelopment protein 1) code une protéine ayant un rôle essentiel dans l'organisation des microtubules, la mitose et la migration neuronale (161). Il a été observé que l'altération du dosage de *NDE1* pouvait entraîner des lésions génomiques secondaires dans les neurones corticaux et induire une grande variété de TND (162). Quant au miARN-484, une étude fonctionnelle récente a révélé que sa surexpression induisait un phénotype d'hyperactivité chez la souris (163). De plus, d'autres miARN de la région pourraient également être impliqués. La pathogénie médiée par les miARN pourrait également expliquer la faible pénétrance et la variabilité phénotypique puisque leur effet peut être modulé par des polymorphismes présents dans leurs régions cibles (149).

Les PIEV sont des facteurs de susceptibilité aux TND, cependant, ils sont souvent associés à d'autres atteintes comme les malformations cardiovasculaire avec notamment des

anévrismes et des dissection aortique, qui sont fréquemment décrites dans la littérature chez les porteurs de duplications 16p13.11 (23 %) (149). Dans notre cohorte nous ne retrouvons qu'un patient présentant une atteinte cardiaque à type d'anévrisme d'hyperdébit. La différence peut s'expliquer par un effectif réduit dans notre étude. *Allach El Khattabi et al.* (149) recommandent toutefois, un suivi cardiaque chez l'ensemble des porteurs de duplications 16p13.11. Des atteintes cardiaques ont également été décrites pour les porteurs de délétions 16p13.11 mais nous n'en avons pas identifiées (146). Ces atteintes seraient induites principalement par deux gènes se situant dans la région minimale critique à savoir, le gène *MYH11* (Myosin Heavy Chain 11) qui est responsable d'anévrisme ou de dissection aortique et le gène *ABCC6* (ATP Binding Cassette subfamily C member 6), responsable de pseudoxanthome élastique dans les cas de microdélétions (147). Le pseudoxanthome élastique est une pathologie du tissu conjonctif pouvant engendrer des atteintes cardiaques mais aussi cutanées et ophtalmologiques.

Concernant le classement des CNV récurrents de la région 16p13.11, les recommandations et la littérature sont encore divergentes. Les microdélétions 16p13.11 sont à pénétrance incomplète (13,1 %), à expressivité variable, plus fréquemment retrouvées chez les cas que chez les témoins (OR = 4), et ont été considérées par le réseau AchroPuce comme PIEV (43). Les recommandations Belges (52) et Britanniques (60) les considèrent également comme des facteurs de susceptibilité aux TND mais ne les reportent pas sur le compte-rendu en prénatal car pour eux, le phénotype est très variable, souvent léger, et qu'il y a une faible pénétrance associée à une fréquence et à un OR trop faibles (52).

Le classement est plus compliqué en ce qui concerne les microduplications 16p13.11. Lors de leur découverte par *Ulmann et al.* (144), ces CNV ont été initialement considérés comme facteurs de risque dans les TSA et la DI. Par la suite, *Hannes et al.* (143) les ont considérées comme bénins. Au fil des ans, différentes équipes ont travaillé sur les microduplications 16p13.11 et ont tenté d'affiner leur signification clinique. Certains les considèrent comme des variations de signification incertaine comme *Kaminsky et al.* en 2011 (164), *Fujitani et al.* en 2017 (163) et *Atli et al.* en 2022 (165). D'autres les considèrent comme des facteurs de risques aux TND comme *Ramalingam et al.*(160), *Ingason et al.* (142), *Nagamani et al.* (159) en 2011 et *Coe et al.* (166) en 2014. *Allach El Khattabi et al.* (149) quant à eux, ont proposé de les considérer « probablement pathogènes » si elles sont détectées dans un contexte de TND. Les Belges et les Britanniques les classent en CNV de susceptibilité, mais ne les reportent pas sur

le compte-rendu en prénatal. Une des données qui rend le classement difficile est la fréquence du CNV qui est quasiment la même entre les cas et la population (OR = 1,67 proche de 1). De plus, certaines études ne retrouvent pas de différence entre le phénotype des cas et des témoins (165). Selon *Allach El Khattabi et al.* (149), la pénétrance des duplications est comprise entre 8,43 et 13,41 %, ce qui est faible mais de l'ordre de la délétion 15q11.2 (10,4 %) (54), considérée comme PIEV par le réseau AchroPuce (43). De plus, les porteurs de duplications expriment un phénotype moins sévère que les porteurs de délétions et peu distinct des individus de la population contrôle. Devant ces arguments contradictoires et l'absence de consensus, le réseau français AchroPuce a choisi de considérer les duplications comme des VOUS (43).

Récemment, une équipe regroupant des chercheurs Italiens, Britanniques et Canadiens, a travaillé sur une approche, via intelligence artificielle, capable de retrouver et reclasser les SNV VOUS en variants pathogènes ou bénins (167). Cet algorithme se base sur le calcul du score PLS (Pathogenicity Likelihood Score), représentant le pourcentage d'arbres décisionnels classant le variant comme pathogène, en faisant la synthèse de nombreuses informations (prédictions, scores de conservation, fréquence des allèles mineurs...) collectées dans la base de données ClinVar. Le système, baptisé RENOVO, a permis une reclassification de 67 % de plus de 200 000 VOUS avec une précision > 90 %. Il faudra voir si dans l'avenir il pourrait être appliqué aux CNV de susceptibilité aux TND car d'une manière générale, ils sont difficiles à classer et encore plus difficile à interpréter, ce qui rend le conseil génétique délicat. Pour le moment, les études de prévalences comme celle de *Rosenfeld et al.* font partie des rares outils, qui permettent, et ce même avec les limites qu'ils présentent, une meilleure prise en charge des patient.

Le conseil génétique en postnatal va beaucoup dépendre du contexte phénotypique dans lequel le PIEV est identifié, mais est rendu systématiquement sur le compte-rendu. En prénatal, en revanche, le conseil génétique est beaucoup plus délicat. D'après *Brabbing-Goldstein et al.*(168), 18 % des grossesses sans anomalie foétale sont interrompues suite à la découverte d'un CNV de susceptibilité aux TND à faible pénétrance. La décision de poursuivre ou non la grossesse dépend surtout des résultats de l'échographie. Plus les anomalies sont d'une importante gravité, plus les couples ont recours à l'interruption. Des études sur la perception et la compréhension par les parents de résultats positifs d'ACPA ont montré que la principale source d'inquiétude était le manque d'information (169). Les couples

se sentent souvent mal préparés à ces résultats. D'où l'intérêt de proposer un conseil génétique pré-test et surtout post-test. Le facteur clé pour diminuer l'anxiété des parents semble être justement ce conseil génétique post-test (170). Un autre point essentiel de la frustration des parents est l'impossibilité de pouvoir quantifier précisément le risque (169),(171). Une étude montre également que les patients accordent une grande intérêt à connaître l'ensemble des résultats, dont les découvertes fortuites et les CNV de susceptibilité à certaines maladies (172). Il est prouvé qu'une prise en charge précoce chez les enfants atteints de TND améliore le devenir des enfants. Par conséquent certains parents considèrent qu'il est nécessaire de connaître la présence d'un CNV impliqué dans les TND, quel que soit sa pénétrance (173),(174). Un des paramètres le plus important aux yeux des parents est le caractère hérité ou non d'un CNV. Le fait qu'un CNV soit hérité d'un parent sain rassure, des fois à tort, les parents (169). Le risque est qu'un parent puisse présenter un phénotype beaucoup moins sévère que le fœtus (175). D'après l'étude de *Walser et al.* (169), les cinq facteurs qui impactent le plus l'inquiétude des parents sont :

- Le type de ségrégation,
- Les différents phénotypes associés au CNV,
- La perception de la facilité de gestion des conséquences,
- La disponibilité/solidité des preuves concernant le résultat,
- La manière dont les informations ont été données vis-à-vis de la poursuite de la grossesse.

Même si lors de l'annonce la majorité des parents sont choqués ou inquiets, il n'y a pas d'impact psychologique négatif à long terme à rendre de tels CNV (170). Il y a donc un réel intérêt à reporter les PIEV sur le compte-rendu. De cette manière, selon l'évolution des connaissances une éventuelle amélioration du conseil génétique en cas de grossesse ultérieure devient possible. Dans tous les cas, il faut rester vigilant lors de la communication des résultats car le moindre détail peut influencer la perception du risque et le choix de poursuite ou non de la grossesse (176).

Nous avons vu qu'il existe de nombreux mécanismes complexes et intriqués qui aboutissent à la pénétrance incomplète et l'expressivité variable dont les « other-hits ». Dans le cas où le patient présente des signes cliniques qui ne correspondent pas au PIEV identifié ou si le phénotype est plus sévère que celui observé chez les apparentés porteurs, il convient vraisemblablement de poursuivre les investigations génétiques par séquençage à haut débit.

En cas d'orientation clinique forte, il est possible d'opter pour l'étude d'un panel de gènes (comme le panel de gènes DI 46 réalisé dans l'UF de génétique moléculaire du CHU de Clermont-Ferrand). Sinon, nous recommandons d'effectuer une analyse d'exome entier ou de génome, à la recherche d'« other-hits » pouvant expliquer le phénotype.

En résumé, les microdélétions/microduplications de la région 16p13.11 sont des CNV récurrents induits par NAHR. Nous confirmons le statut de PIEV pour les microdélétions et de VOUS pour les microduplications. Les phénotypes sont concordants avec ceux relevés dans la littérature. Les patients étant jeunes pour la plupart, il serait intéressant de proposer un suivi sur le long terme pour mieux appréhender l'évolution du phénotype dans le temps. On pourrait ainsi améliorer nos connaissances quant à la pénétrance de certains signes cliniques associés aux PIEV et proposer un suivi adapté. Nous avons également vu qu'il existait des situations dans lesquelles il était intéressant de poursuivre les investigations génétiques.

Pour finir, il faut continuer à étudier les mécanismes impliqués dans la pénétrance et l'expressivité à l'origine des PIEV, afin de pouvoir prédire correctement un phénotype d'après un génotype, et ainsi prodiguer un conseil génétique adapté.

CONCLUSION

Les PIEV sont des CNV de susceptibilité aux troubles neurodéveloppementaux à pénétrance incomplète et/ou expressivité variable, rendant la prédiction phénotypique et donc le conseil génétique difficile. De nombreux mécanismes ont été proposés pour tenter d'expliquer cette pénétrance incomplète et cette expressivité variable, allant de l'échelle moléculaire à l'échelle environnementale. Il relève du défi d'en proposer une liste exhaustive tant ils sont complexes et intriqués les uns avec les autres.

Afin d'illustrer les difficultés de classement et d'interprétation dont ils sont responsables, nous avons pris l'exemple des déséquilibres impliquant la région 16p13.11. Alors que les microdélétions sont aujourd'hui considérées comme des PIEV, le classement des microduplications ne fait pas encore consensus. Si elles sont considérées comme des facteurs de susceptibilité aux TND par certains, pour d'autres elles restent des variations de signification encore incertaine. Cela pose un réel problème pour le conseil génétique.

Nous avons constitué une cohorte de 7 patients porteurs de délétions 16p13.11 et 7 porteurs de duplications 16p13.11 identifiées par ACPA, réalisée en première intention au laboratoire de cytogénétique médicale du CHU de Clermont-Ferrand, dans le cadre d'anomalies du développement.

Au niveau moléculaire, nos données confirment ce qui a avait été précédemment décrit, à savoir que ces microremaniements de la région 16p13.11 sont des CNV récurrents médiés par NAHR, divisée en 3 parties dont le segment II constitue la région minimale critique.

Au niveau phénotypique, nos résultats sont en accord avec la littérature pour les microdélétions. Les duplications, quant à elles, sont bien héritées pour l'ensemble des propositus et impliquées dans les TND pour la majorité des patients. Cependant, il existe des divergences par rapport à ce qui avait été décrit précédemment. Nous observons une surreprésentation chez l'homme. De plus, aucun de nos patients ne présente un TSA ou une épilepsie et seulement un de nos patients présente une malformation cardiaque. La majorité des individus étant diagnostiquée tôt, il faudrait envisager un suivi à long terme pour étudier la pénétrance de ces syndromes car celle-ci varie avec l'âge. Nous observons que les porteurs de duplications 16p13.11 expriment un phénotype neurodéveloppemental moins sévère que les porteurs de délétions 16p13.11. Cependant, notre cohorte présente un effectif insuffisant pour mieux affiner la corrélation phénotype/génotype et réévaluer le classement des duplications.

Nous avons proposé de poursuivre les analyses de génétique par un séquençage haut débit pour les patients présentant des signes cliniques ne correspondant pas au génotype ou pour lesquels le phénotype apparaît plus sévère ou discordant par rapport aux apparentés porteurs. Cela pourrait éventuellement permettre de découvrir un ou des « other-hits » associés et mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de ces variations pour faciliter, en particulier, la dispensation d'un conseil génétique adapté.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Spencer DH, Zhang B, Pfeifer J. Chapter 8 - Single Nucleotide Variant Detection Using Next Generation Sequencing. In: Kulkarni S, Pfeifer J, éditeurs. *Clinical Genomics* [Internet]. Boston: Academic Press; 2015 [cité 28 sept 2022]. p. 109-27. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124047488000083>
2. Reams AB, Roth JR. Mechanisms of Gene Duplication and Amplification. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* févr 2015;7(2):a016592.
3. Zarrei M, MacDonald JR, Merico D, Scherer SW. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet.* mars 2015;16(3):172-83.
4. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature.* nov 2006;444(7118):444-54.
5. Smith AC, McGavran L, Robinson J, Waldstein G, Macfarlane J, Zonona J, et al. Interstitial deletion of (17)(p11.2p11.2) in nine patients. *Am J Med Genet.* juill 1986;24(3):393-414.
6. Edelmann L, Pandita RK, Spiteri E, Funke B, Goldberg R, Palanisamy N, et al. A Common Molecular Basis for Rearrangement Disorders on Chromosome 22q11. *Hum Mol Genet.* 1 juill 1999;8(7):1157-67.
7. Pérez Jurado LA, Peoples R, Kaplan P, Hamel BC, Francke U. Molecular definition of the chromosome 7 deletion in Williams syndrome and parent-of-origin effects on growth. *Am J Hum Genet.* oct 1996;59(4):781-92.
8. Carvill GL, Mefford HC. Microdeletion syndromes. *Curr Opin Genet Dev.* juin 2013;23(3):232-9.
9. Iafrate AJ, Feuk L, Rivera MN, Listewnik ML, Donahoe PK, Qi Y, et al. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet.* sept 2004;36(9):949-51.
10. Sebat J, Lakshmi B, Troge J, Alexander J, Young J, Lundin P, et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science.* 23 juill 2004;305(5683):525-8.
11. Overview of Structural Variation [Internet]. [cité 28 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbvar/content/overview/>
12. Kim S, Misra A. SNP Genotyping: Technologies and Biomedical Applications. *Annu Rev Biomed Eng.* 2007;9(1):289-320.
13. MacDonald JR, Ziman R, Yuen RKC, Feuk L, Scherer SW. The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Res.* janv 2014;42(Database issue):D986-992.
14. Zhang J, Feuk L, Duggan GE, Khaja R, Scherer SW. Development of bioinformatics resources for display and analysis of copy number and other structural variants in the human genome. *Cytogenet Genome Res.* 2006;115(3-4):205-14.
15. Base de données des variants génomiques [*** v107 ***] [Internet]. [cité 7 oct 2022]. Disponible sur: <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/statistics?ref=GRCh37/hg19>

16. Groupe ACPA, Groupe qualité du réseau AchroPuce. Guide des bonnes pratiques pour l'activité postnatale [Internet]. 2018 [cité 22 sept 2022]. Disponible sur: http://www.eaclf.org/docs/ACPA/GBP-ACPA_d%C3%A9cembre2018.pdf
17. Manning M, Hudgins L, Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. nov 2010;12(11):742-5.
18. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 14 mai 2010;86(5):749-64.
19. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol*. déc 2013;122(6):1374-7.
20. de Wit MC, Srebniak MI, Govaerts LCP, Van Opstal D, Galjaard RJH, Go ATJI. Additional value of prenatal genomic array testing in fetuses with isolated structural ultrasound abnormalities and a normal karyotype: a systematic review of the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. févr 2014;43(2):139-46.
21. Stosic M, Levy B, Wapner R. The Use of Chromosomal Microarray Analysis in Prenatal Diagnosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. mars 2018;45(1):55-68.
22. Réseau AchroPuce. Guide de bonnes pratiques de l'analyse chromosomique sur puce à ADN en prénatal [Internet]. [cité 14 sept 2022]. Disponible sur: <http://acpa-achropuce.com/wp-content/uploads/2020/11/Guide-bonnes-pratiques-DPN-version2.2-nov-2020.pdf>
23. Grande M, Jansen F a. R, Blumenfeld YJ, Fisher A, Odibo AO, Haak MC, et al. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;46(6):650-8.
24. Borrell A, Grande M, Pauta M, Rodriguez-Revenga L, Figueras F. Chromosomal Microarray Analysis in Fetuses with Growth Restriction and Normal Karyotype: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Fetal Diagn Ther*. 2018;44:1-9.
25. Deciphering Developmental Disorders Study. Prevalence and architecture of de novo mutations in developmental disorders. *Nature*. févr 2017;542(7642):433-8.
26. McCarroll SA, Kuruvilla FG, Korn JM, Cawley S, Nemesh J, Wysoker A, et al. Integrated detection and population-genetic analysis of SNPs and copy number variation. *Nat Genet*. oct 2008;40(10):1166-74.
27. Itsara A, Cooper GM, Baker C, Girirajan S, Li J, Absher D, et al. Population Analysis of Large Copy Number Variants and Hotspots of Human Genetic Disease. *Am J Hum Genet*. 13 févr 2009;84(2):148-61.

28. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu T, Baker C, et al. A Copy Number Variation Morbidity Map of Developmental Delay. *Nat Genet.* 14 août 2011;43(9):838-46.
29. Huguet G, Schramm C, Douard E, Jiang L, Labbe A, Tihy F, et al. Measuring and Estimating the Effect Sizes of Copy Number Variants on General Intelligence in Community-Based Samples. *JAMA Psychiatry.* 1 mai 2018;75(5):447-57.
30. Huang N, Lee I, Marcotte EM, Hurles ME. Characterising and Predicting Haploinsufficiency in the Human Genome. *PLoS Genet.* 14 oct 2010;6(10):e1001154.
31. Riggs E, Church D, Hanson K, Horner V, Kaminsky E, Kuhn R, et al. Towards an evidence-based process for the clinical interpretation of copy number variation. *Clin Genet.* mai 2012;81(5):403-12.
32. Ziegler A, Colin E, Goudenège D, Bonneau D. A snapshot of some pLI score pitfalls. *Hum Mutat.* 2019;40(7):839-41.
33. Harrison SM, Biesecker LG, Rehm HL. Overview of specifications to the ACMG/AMP variant interpretation guidelines. *Curr Protoc Hum Genet.* sept 2019;103(1):e93.
34. Collins RL, Glessner JT, Porcu E, Lepamets M, Brandon R, Lauricella C, et al. A cross-disorder dosage sensitivity map of the human genome. *Cell.* 4 août 2022;185(16):3041-3055.e25.
35. Page d'accueil DECIPHER [Internet]. Disponible sur: <https://www.deciphergenomics.org/>
36. Hm K, Ec T, Kk B, F QR, St S, undefined. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 1 juill 2011;13(7):680-5.
37. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* mai 2015;17(5):405-23.
38. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med.* févr 2020;22(2):245-57.
39. About Us - ClinGen | Clinical Genome Resource [Internet]. [cité 4 sept 2022]. Disponible sur: <https://clinicalgenome.org/about/>
40. <https://www.agence-biomedecine.fr/?page=recherche&recherche=donn%C3%A9es+incidentes> [Internet]. [cité 4 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.agence-biomedecine.fr/?page=recherche&recherche=donn%C3%A9es+incidentes>
41. Cooper GM. Parlez-vous VUS? *Genome Res.* oct 2015;25(10):1423-6.

42. Vears DF, Niemiec E, Howard HC, Borry P. Analysis of VUS reporting, variant reinterpretation and recontact policies in clinical genomic sequencing consent forms. *Eur J Hum Genet EJHG*. déc 2018;26(12):1743-51.
43. Réseau AChro-Puce. Recommandations pour l'interprétation clinique des CNV (Copy Number Variations).pdf [Internet]. 2022 [cité 10 oct 2022]. Disponible sur: <https://acpa-achropuce.com/wp-content/uploads/2022/09/20220930-Aide-a-l-interpretation-CNV-revise-2022-VF.pdf>
44. Vassos E, Collier DA, Holden S, Patch C, Rujescu D, St Clair D, et al. Penetrance for copy number variants associated with schizophrenia. *Hum Mol Genet*. 1 sept 2010;19(17):3477-81.
45. Cooper DN, Krawczak M, Polychronakos C, Tyler-Smith C, Kehrer-Sawatzki H. Where genotype is not predictive of phenotype: towards an understanding of the molecular basis of reduced penetrance in human inherited disease. *Hum Genet*. oct 2013;132(10):1077-130.
46. Shawky RM. Reduced penetrance in human inherited disease. *Egypt J Med Hum Genet*. 1 avr 2014;15(2):103-11.
47. Kingdom R, Wright CF. Incomplete Penetrance and Variable Expressivity: From Clinical Studies to Population Cohorts. *Front Genet* [Internet]. 2022 [cité 6 sept 2022];13. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2022.920390>
48. Phenotype Variability: Penetrance and Expressivity | Learn Science at Scitable [Internet]. [cité 29 sept 2022]. Disponible sur: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/phenotype-variability-penetrance-and-expressivity-573>
49. COE BP, GIRIRAJAN S, EICHLER EE. The Genetic Variability and Commonality of Neurodevelopmental Disease. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 15 mai 2012;0(2):118-29.
50. Smajlagić D, Lavrichenko K, Berland S, Helgeland Ø, Knudsen GP, Vaudel M, et al. Population prevalence and inheritance pattern of recurrent CNVs associated with neurodevelopmental disorders in 12,252 newborns and their parents. *Eur J Hum Genet*. janv 2021;29(1):205-15.
51. Caroline Rooryck-Thambo. Bilan des centres du réseau AchroPuce 2020 [Internet]. Disponible sur: https://acpa-achropuce.com/wp-content/uploads/2021/12/ROORYCK-THAMBO_Caroline.pdf
52. Muys J, Blaumeiser B, Jacquemyn Y, Bandelier C, Brison N, Bulk S, et al. The Belgian MicroArray Prenatal (BEMAPRE) database: A systematic nationwide repository of fetal genomic aberrations. *Prenat Diagn*. déc 2018;38(13):1120-8.

53. Kirov G, Rees E, Walters JTR, Escott-Price V, Georgieva L, Richards AL, et al. The Penetrance of Copy Number Variations for Schizophrenia and Developmental Delay. *Biol Psychiatry*. 1 mars 2014;75(5):378-85.
54. Rosenfeld JA, Coe BP, Eichler EE, Cuckle H, Shaffer LG. Estimates of penetrance for recurrent pathogenic copy-number variations. *Genet Med*. juin 2013;15(6):478-81.
55. Réseau AChro-Puce. Fiches d'aide à la classification et à l'interprétation de CNVs identifiés de façon récurrente - version 5 [Internet]. 2022 [cité 10 oct 2022]. Disponible sur: https://acpa-achropuce.com/wp-content/uploads/2022/09/20220930-revision-fiches-2022_VF.pdf
56. Silva M, de Leeuw N, Mann K, Schuring-Blom H, Morgan S, Giardino D, et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *Eur J Hum Genet*. janv 2019;27(1):1-16.
57. Low Penetrance/Risk Allele - ClinGen | Clinical Genome Resource [Internet]. [cité 8 sept 2022]. Disponible sur: https://clinicalgenome.org/working-groups/low-penetrance-risk-allele-working-group/#heading_documents
58. ClinGen Low Penetrance/Risk Allele Working Group. [clingenrisk_terminology_recomendations-final-02_18_20.pdf](https://clinicalgenome.org/site/assets/files/4531/clingenrisk_terminology_recomendations-final-02_18_20.pdf) [Internet]. 2020 [cité 8 sept 2022]. Disponible sur: https://clinicalgenome.org/site/assets/files/4531/clingenrisk_terminology_recomendations-final-02_18_20.pdf
59. Armour CM, Dougan SD, Brock JA, Chari R, Chodirker BN, DeBie I, et al. Practice guideline: joint CCMG-SOGC recommendations for the use of chromosomal microarray analysis for prenatal diagnosis and assessment of fetal loss in Canada. *J Med Genet*. avr 2018;55(4):215-21.
60. Carol Gardiner, Diana Wellesley, Mark D Kilby and Bronwyn Kerr. Recommendations for the use of chromosome microarray in pregnancy [Internet]. 2015 [cité 11 juill 2022]. Disponible sur: <https://www.rcpath.org/uploads/assets/06664c28-0f90-4230-86158c91fea14be6/Recommendations-for-the-use-of-chromosome-microarray-in-pregnancy.pdf>
61. Muys J, Blaumeiser B, Janssens K, Loobuyck P, Jacquemyn Y. Chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis: ethical considerations of the Belgian approach. *J Med Ethics*. févr 2020;46(2):104-9.
62. Walsh R, Tadros R, Bezzina CR. When genetic burden reaches threshold. *Eur Heart J*. 14 oct 2020;41(39):3849-55.
63. Bertolini S, Calandra S, Arca M, Averna M, Catapano AL, Tarugi P, et al. Homozygous familial hypercholesterolemia in Italy: Clinical and molecular features. *Atherosclerosis*. nov 2020;312:72-8.
64. Lu YY, Krebber H. Nuclear mRNA Quality Control and Cytoplasmic NMD Are Linked by the Guard Proteins Gbp2 and Hrb1. *Int J Mol Sci*. 19 oct 2021;22(20):11275.

65. Haeri M, Knox BE. Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response Pathways: Potential for Treating Age-related Retinal Degeneration. *J Ophthalmic Vis Res.* janv 2012;7(1):45-59.
66. Taniguchi Y, Takeda N, Inuzuka R, Matsubayashi Y, Kato S, Doi T, et al. Impact of pathogenic FBN1 variant types on the development of severe scoliosis in patients with Marfan syndrome. *J Med Genet.* 16 déc 2021;jmedgenet-2021-108186.
67. Nguyen LS, Wilkinson MF, Gecz J. Nonsense-mediated mRNA decay: inter-individual variability and human disease. *Neurosci Biobehav Rev.* oct 2014;46 Pt 2:175-86.
68. Pipis M, Cortese A, Polke JM, Poh R, Vandrovцова J, Laura M, et al. Charcot-Marie-Tooth disease type 2CC due to NEFH variants causes a progressive, non-length-dependent, motor-predominant phenotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* janv 2022;93(1):48-56.
69. van Leeuwen J, Pons C, Boone C, Andrews BJ. Mechanisms of suppression: The wiring of genetic resilience. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* juill 2017;39(7).
70. Coban-Akdemir Z, White JJ, Song X, Jhangiani SN, Fatih JM, Gambin T, et al. Identifying Genes Whose Mutant Transcripts Cause Dominant Disease Traits by Potential Gain-of-Function Alleles. *Am J Hum Genet.* 2 août 2018;103(2):171-87.
71. Kennedy J, Goudie D, Blair E, Chandler K, Joss S, McKay V, et al. KAT6A Syndrome: genotype-phenotype correlation in 76 patients with pathogenic KAT6A variants. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* avr 2019;21(4):850-60.
72. Stefl S, Nishi H, Petukh M, Panchenko AR, Alexov E. Molecular mechanisms of disease-causing missense mutations. *J Mol Biol.* 1 nov 2013;425(21):3919-36.
73. Li XH, Babu MM. Human Diseases from Gain-of-Function Mutations in Disordered Protein Regions. *Cell.* 20 sept 2018;175(1):40-2.
74. Platzer K, Yuan H, Schütz H, Winschel A, Chen W, Hu C, et al. GRIN2B encephalopathy: novel findings on phenotype, variant clustering, functional consequences and treatment aspects. *J Med Genet.* juill 2017;54(7):460-70.
75. Faure AJ, Domingo J, Schmiedel JM, Hidalgo-Carcedo C, Diss G, Lehner B. Mapping the energetic and allosteric landscapes of protein binding domains. *Nature.* avr 2022;604(7904):175-83.
76. Liu XR, Xu XX, Lin SM, Fan CY, Ye TT, Tang B, et al. GRIN2A Variants Associated With Idiopathic Generalized Epilepsies. *Front Mol Neurosci.* 2021;14:720984.
77. Ittisoponpisan S, Islam SA, Khanna T, Alhuzimi E, David A, Sternberg MJE. Can Predicted Protein 3D Structures Provide Reliable Insights into whether Missense Variants Are Disease Associated? *J Mol Biol.* 17 mai 2019;431(11):2197-212.
78. Ellingford JM, Ahn JW, Bagnall RD, Baralle D, Barton S, Campbell C, et al. Recommendations for clinical interpretation of variants found in non-coding regions of the genome. *Genome Med.* 19 juill 2022;14(1):73.

79. Paulson H. Repeat expansion diseases. *Handb Clin Neurol*. 2018;147:105-23.
80. Payán-Gómez C, Ramirez-Cheyne J, Saldarriaga W. Variable Expressivity in Fragile X Syndrome: Towards the Identification of Molecular Characteristics That Modify the Phenotype. *Appl Clin Genet*. 2021;14:305-12.
81. Cabal-Herrera AM, Tassanakijpanich N, Salcedo-Arellano MJ, Hagerman RJ. Fragile X-Associated Tremor/Ataxia Syndrome (FXTAS): Pathophysiology and Clinical Implications. *Int J Mol Sci*. 20 juin 2020;21(12):E4391.
82. Fink DA, Nelson LM, Pyeritz R, Johnson J, Sherman SL, Cohen Y, et al. Fragile X Associated Primary Ovarian Insufficiency (FXPOI): Case Report and Literature Review. *Front Genet*. 2018;9:529.
83. Holmans PA, Massey TH, Jones L. Genetic modifiers of Mendelian disease: Huntington's disease and the trinucleotide repeat disorders. *Hum Mol Genet*. 1 oct 2017;26(R2):R83-90.
84. Arning L. The search for modifier genes in Huntington disease - Multifactorial aspects of a monogenic disorder. *Mol Cell Probes*. déc 2016;30(6):404-9.
85. GTEx Consortium, Laboratory, Data Analysis & Coordinating Center (LDACC)—Analysis Working Group, Statistical Methods groups—Analysis Working Group, Enhancing GTEx (eGTEx) groups, NIH Common Fund, NIH/NCI, et al. Genetic effects on gene expression across human tissues. *Nature*. 11 oct 2017;550(7675):204-13.
86. Carelle-Calmels N, Saugier-veber P, Girard-Lemaire F, Rudolf G, Doray B, Guérin E, et al. Genetic compensation in a human genomic disorder. *N Engl J Med*. 19 mars 2009;360(12):1211-6.
87. Servetti M, Pisciotta L, Tassano E, Cerminara M, Nobili L, Boeri S, et al. Neurodevelopmental Disorders in Patients With Complex Phenotypes and Potential Complex Genetic Basis Involving Non-Coding Genes, and Double CNVs. *Front Genet*. 21 sept 2021;12:732002.
88. Aubart M, Gross MS, Hanna N, Zobot MT, Sznajder M, Detaint D, et al. The clinical presentation of Marfan syndrome is modulated by expression of wild-type FBN1 allele. *Hum Mol Genet*. 15 mai 2015;24(10):2764-70.
89. Cummings BB, Karczewski KJ, Kosmicki JA, Seaby EG, Watts NA, Singer-Berk M, et al. Transcript expression-aware annotation improves rare variant interpretation. *Nature*. mai 2020;581(7809):452-8.
90. Kharbanda M, Kannike K, Lampe A, Berg J, Timmusk T, Sepp M. Partial deletion of TCF4 in three generation family with non-syndromic intellectual disability, without features of Pitt-Hopkins syndrome. *Eur J Med Genet*. juin 2016;59(6-7):310-4.
91. Castel SE, Cervera A, Mohammadi P, Aguet F, Reverter F, Wolman A, et al. Modified penetrance of coding variants by cis-regulatory variation contributes to disease risk. *Nat Genet*. sept 2018;50(9):1327-34.

92. Delaneau O, Zazhytska M, Borel C, Giannuzzi G, Rey G, Howald C, et al. Chromatin three-dimensional interactions mediate genetic effects on gene expression. *Science*. 3 mai 2019;364(6439):eaat8266.
93. Boltsis I, Grosveld F, Giraud G, Kolovos P. Chromatin Conformation in Development and Disease. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:723859.
94. Biesecker LG, Spinner NB. A genomic view of mosaicism and human disease. *Nat Rev Genet*. mai 2013;14(5):307-20.
95. Hervé B, Roume J, Cognard S, Fauvert D, Molina-Gomes D, Vialard F. Low-level mosaicism of a de novo derivative chromosome 9 from a t(5;9)(q35.1;q34.3) has a major phenotypic impact. *Eur J Med Genet*. juill 2015;58(6-7):346-50.
96. Tuke MA, Ruth KS, Wood AR, Beaumont RN, Tyrrell J, Jones SE, et al. Mosaic Turner syndrome shows reduced penetrance in an adult population study. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. avr 2019;21(4):877-86.
97. Campbell IM, Yuan B, Robberecht C, Pfundt R, Szafranski P, McEntagart ME, et al. Parental somatic mosaicism is underrecognized and influences recurrence risk of genomic disorders. *Am J Hum Genet*. 7 août 2014;95(2):173-82.
98. Weinhold B. Epigenetics: the science of change. *Environ Health Perspect*. mars 2006;114(3):A160-167.
99. Goodship J, Cross I, Scambler P, Burn J. Monozygotic twins with chromosome 22q11 deletion and discordant phenotype. *J Med Genet*. sept 1995;32(9):746-8.
100. Rieley MB, Stevenson DA, Viskochil DH, Tinkle BT, Martin LJ, Schorry EK. Variable expression of neurofibromatosis 1 in monozygotic twins. *Am J Med Genet A*. mars 2011;155A(3):478-85.
101. Tolmacheva EN, Kashevarova AA, Nazarenko LP, Minaycheva LI, Skryabin NA, Lopatkina ME, et al. Delineation of Clinical Manifestations of the Inherited Xq24 Microdeletion Segregating with sXCI in Mothers: Two Novel Cases with Distinct Phenotypes Ranging from UBE2A Deficiency Syndrome to Recurrent Pregnancy Loss. *Cytogenet Genome Res*. 2020;160(5):245-54.
102. Skakkebaek A, Viuff M, Nielsen MM, Gravholt CH. Epigenetics and genomics in Klinefelter syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. juin 2020;184(2):216-25.
103. Catalanotto C, Cogoni C, Zardo G. MicroRNA in Control of Gene Expression: An Overview of Nuclear Functions. *Int J Mol Sci*. 13 oct 2016;17(10):E1712.
104. Cammaerts S, Strazisar M, De Rijk P, Del Favero J. Genetic variants in microRNA genes: impact on microRNA expression, function, and disease. *Front Genet*. 2015;6:186.
105. Tommasi C, Pellegrino B, Boggiani D, Sikokis A, Michiara M, Uliana V, et al. Biological Role and Clinical Implications of microRNAs in BRCA Mutation Carriers. *Front Oncol*. 2021;11:700853.

106. Girirajan S, Rosenfeld JA, Coe BP, Parikh S, Friedman N, Goldstein A, et al. Phenotypic Heterogeneity of Genomic Disorders and Rare Copy-Number Variants. *N Engl J Med.* 4 oct 2012;367(14):1321-31.
107. Wilfert AB, Sulovari A, Turner TN, Coe BP, Eichler EE. Recurrent de novo mutations in neurodevelopmental disorders: properties and clinical implications. *Genome Med.* 27 nov 2017;9(1):101.
108. Pizzo L, Jensen M, Polyak A, Rosenfeld JA, Mannik K, Krishnan A, et al. Rare variants in the genetic background modulate cognitive and developmental phenotypes in individuals carrying disease-associated variants. *Genet Med.* avr 2019;21(4):816-25.
109. Oetjens MT, Kelly MA, Sturm AC, Martin CL, Ledbetter DH. Quantifying the polygenic contribution to variable expressivity in eleven rare genetic disorders. *Nat Commun.* 25 oct 2019;10(1):4897.
110. Lewis CM, Vassos E. Polygenic risk scores: from research tools to clinical instruments. *Genome Med.* 18 mai 2020;12(1):44.
111. Khera AV, Chaffin M, Aragam KG, Haas ME, Roselli C, Choi SH, et al. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. *Nat Genet.* sept 2018;50(9):1219-24.
112. Huyghe JR, Bien SA, Harrison TA, Kang HM, Chen S, Schmit SL, et al. Discovery of common and rare genetic risk variants for colorectal cancer. *Nat Genet.* janv 2019;51(1):76-87.
113. Bourgeron T. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci.* sept 2015;16(9):551-63.
114. Olszewski AK, Radoeva PD, Fremont W, Kates WR, Antshel KM. Is child intelligence associated with parent and sibling intelligence in individuals with developmental disorders? An investigation in youth with 22q11.2 deletion (velo-cardio-facial) syndrome. *Res Dev Disabil.* déc 2014;35(12):3582-90.
115. De Smedt B, Devriendt K, Fryns JP, Vogels A, Gewillig M, Swillen A. Intellectual abilities in a large sample of children with Velo-Cardio-Facial Syndrome: an update. *J Intellect Disabil Res JIDR.* sept 2007;51(Pt 9):666-70.
116. Finucane B, Challman TD, Martin CL, Ledbetter DH. Shift happens: family background influences clinical variability in genetic neurodevelopmental disorders. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* avr 2016;18(4):302-4.
117. May T, Adesina I, McGillivray J, Rinehart NJ. Sex differences in neurodevelopmental disorders. *Curr Opin Neurol.* août 2019;32(4):622-6.
118. Werling DM. The role of sex-differential biology in risk for autism spectrum disorder. *Biol Sex Differ.* 2016;7:58.

119. Jacquemont S, Coe BP, Hersch M, Duyzend MH, Krumm N, Bergmann S, et al. A Higher Mutational Burden in Females Supports a “Female Protective Model” in Neurodevelopmental Disorders. *Am J Hum Genet.* 6 mars 2014;94(3):415-25.
120. Desachy G, Croen LA, Torres AR, Kharrazi M, Delorenze GN, Windham GC, et al. Increased female autosomal burden of rare copy number variants in human populations and in autism families. *Mol Psychiatry.* févr 2015;20(2):170-5.
121. Satterstrom FK, Kosmicki JA, Wang J, Breen MS, De Rubeis S, An JY, et al. Large-Scale Exome Sequencing Study Implicates Both Developmental and Functional Changes in the Neurobiology of Autism. *Cell.* 6 févr 2020;180(3):568-584.e23.
122. Loomes R, Hull L, Mandy WPL. What Is the Male-to-Female Ratio in Autism Spectrum Disorder? A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 1 juin 2017;56(6):466-74.
123. Ratto AB, Kenworthy L, Yerys BE, Bascom J, Wieckowski AT, White SW, et al. What About the Girls? Sex-Based Differences in Autistic Traits and Adaptive Skills. *J Autism Dev Disord.* mai 2018;48(5):1698-711.
124. Russell G, Steer C, Golding J. Social and demographic factors that influence the diagnosis of autistic spectrum disorders. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* déc 2011;46(12):1283-93.
125. Bashkeel N, Perkins TJ, Kærn M, Lee JM. Human gene expression variability and its dependence on methylation and aging. *BMC Genomics.* 7 déc 2019;20(1):941.
126. Chiti F, Dobson CM. Protein Misfolding, Amyloid Formation, and Human Disease: A Summary of Progress Over the Last Decade. *Annu Rev Biochem.* 20 juin 2017;86:27-68.
127. Rose AM, Bhattacharya SS. Variant haploinsufficiency and phenotypic non-penetrance in PRPF31-associated retinitis pigmentosa. *Clin Genet.* août 2016;90(2):118-26.
128. McColgan P, Tabrizi SJ. Huntington’s disease: a clinical review. *Eur J Neurol.* 2018;25(1):24-34.
129. Rappaport SM. Discovering environmental causes of disease. *J Epidemiol Community Health.* févr 2012;66(2):99-102.
130. Frank L. Epidemiology. The epidemiologist’s dream: Denmark. *Science.* 11 juill 2003;301(5630):163.
131. McGrath JJ, Mortensen PB, Visscher PM, Wray NR. Where GWAS and Epidemiology Meet: Opportunities for the Simultaneous Study of Genetic and Environmental Risk Factors in Schizophrenia. *Schizophr Bull.* sept 2013;39(5):955-9.
132. Dinneen TJ, Ghrálaigh FN, Walsh R, Lopez LM, Gallagher L. How does genetic variation modify ND-CNV phenotypes? *Trends Genet.* févr 2022;38(2):140-51.

133. Pedersen CB, Bybjerg-Grauholm J, Pedersen MG, Grove J, Agerbo E, Bækvad-Hansen M, et al. The iPSYCH2012 case-cohort sample: new directions for unravelling genetic and environmental architectures of severe mental disorders. *Mol Psychiatry*. janv 2018;23(1):6-14.
134. Voss AK, Vanyai HK, Collin C, Dixon MP, McLennan TJ, Sheikh BN, et al. MOZ regulates the Tbx1 locus, and Moz mutation partially phenocopies DiGeorge syndrome. *Dev Cell*. 11 sept 2012;23(3):652-63.
135. Loos RJF, Yeo GSH. The bigger picture of FTO – the first GWAS-identified obesity gene. *Nat Rev Endocrinol*. janv 2014;10(1):51-61.
136. Paré G, Cook NR, Ridker PM, Chasman DI. On the use of variance per genotype as a tool to identify quantitative trait interaction effects: a report from the Women's Genome Health Study. *PLoS Genet*. 17 juin 2010;6(6):e1000981.
137. Rönnegård L, Valdar W. Recent developments in statistical methods for detecting genetic loci affecting phenotypic variability. *BMC Genet*. 24 juill 2012;13(1):63.
138. Battaglia A, Bonaglia MC. The yield of subtelomeric FISH analysis in the evaluation of autistic spectrum disorders. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 15 févr 2006;142C(1):8-12.
139. Girirajan S, Rosenfeld JA, Cooper GM, Antonacci F, Siswara P, Itsara A, et al. A recurrent 16p12.1 microdeletion suggests a two-hit model for severe developmental delay. *Nat Genet*. mars 2010;42(3):203-9.
140. Par David Eccles (Gringer). Own work, Created using Inkscape, v0.44, CC BY 2.5 [Internet]. Wikipédia. 2022 [cité 13 sept 2022]. Disponible sur: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=927359>
141. Sasaki M, Lange J, Keeney S. Genome destabilization by homologous recombination in the germline. *Nat Rev Mol Cell Biol*. mars 2010;11(3):182-95.
142. Ingason A, Rujescu D, Cichon S, Sigurdsson E, Sigmundsson T, Pietiläinen OPH, et al. Copy number variations of chromosome 16p13.1 region associated with schizophrenia. *Mol Psychiatry*. janv 2011;16(1):17-25.
143. Hannes FD, Sharp AJ, Mefford HC, de Ravel T, Ruivenkamp CA, Breuning MH, et al. Recurrent reciprocal deletions and duplications of 16p13.11: the deletion is a risk factor for MR/MCA while the duplication may be a rare benign variant. *J Med Genet*. avr 2009;46(4):223-32.
144. Ullmann R, Turner G, Kirchhoff M, Chen W, Tonge B, Rosenberg C, et al. Array CGH identifies reciprocal 16p13.1 duplications and deletions that predispose to autism and/or mental retardation. *Hum Mutat*. juill 2007;28(7):674-82.

145. Tropeano M, Andrieux J, Collier DA. Clinical utility gene card for: 16p13.11 microdeletion syndrome. *Eur J Hum Genet* [Internet]. mai 2014 [cité 28 juill 2022];22(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3992581/>
146. Tropeano M, Ahn JW, Dobson RJB, Breen G, Rucker J, Dixit A, et al. Male-Biased Autosomal Effect of 16p13.11 Copy Number Variation in Neurodevelopmental Disorders. *PLOS ONE*. 18 avr 2013;8(4):e61365.
147. Laube S, Moss C. Pseudoxanthoma elasticum. *Arch Dis Child*. juill 2005;90(7):754-6.
148. Diagnostic postnatal – AChro-puce [Internet]. [cité 22 avr 2022]. Disponible sur: <https://acpa-achropuce.com/diagnostic-postnatal/>
149. Allach El Khattabi L, Heide S, Caberg JH, Andrieux J, Doco Fenzy M, Vincent-Delorme C, et al. 16p13.11 microduplication in 45 new patients: refined clinical significance and genotype-phenotype correlations. *J Med Genet*. mai 2020;57(5):301-7.
150. Réseau AChro-Puce. Guide des bonnes pratiques ACPA DPN [Internet]. 2019 [cité 22 sept 2022]. Disponible sur: <http://www.eaclf.org/docs/ACPA/Guide-bonnes-pratiques-DPN-version2.2-nov-2020.pdf>
151. micro-réseau à ADN / FranceTerme / Ressources / Accueil - Culture.fr [Internet]. [cité 27 sept 2022]. Disponible sur: <http://www.culture.fr/franceterme/result?francetermeSearchTerme=micro-r%C3%A9seau+%C3%A0+ADN&francetermeSearchDomaine=0&francetermeSearchSubmit=rechercher&action=search>
152. Dugoff L, Norton ME, Kuller JA. The use of chromosomal microarray for prenatal diagnosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1 oct 2016;215(4):B2-9.
153. Automatisation du marquage des ADN pour l'Analyse Chromosomique sur Pucés à ADN (ACPA): validation de la station BRAVO au CHU de Lyon. Jessica MICHEL Laboratoire. [Internet]. [cité 23 sept 2022]. Disponible sur: <https://slideplayer.fr/slide/2741947/>
154. Langer-Safer PR, Levine M, Ward DC. Immunological method for mapping genes on *Drosophila* polytene chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. juill 1982;79(14):4381-5.
155. Laboratoire de cytogénétique du CHU Clermont-Ferrand. HYBRIDATION IN SITU FLUORESCENTE (FISH) AVEC DES SONDÉS COMMERCIALES - Document qualité référence CT-ANA-COM-MO-021. 2022.
156. Rouzier C, Chaussonot A, Serre V, Fragaki K, Bannwarth S, Ait-El-Mkadem S, et al. Quantitative multiplex PCR of short fluorescent fragments for the detection of large intragenic POLG rearrangements in a large French cohort. *Eur J Hum Genet*. avr 2014;22(4):542-50.
157. Laboratoire cytogénétique CHU Clermont Ferrand. Quantitative Multiplex Fluorescent PCR - Ref : CT-ANA-COM-MO-042 Version : 01. 2022.

158. Killian A, Di Fiore F, Le Pessot F, Blanchard F, Lamy A, Raux G, et al. A Simple Method for the Routine Detection of Somatic Quantitative Genetic Alterations in Colorectal Cancer. *Gastroenterology*. 1 févr 2007;132(2):645-53.
159. Nagamani SCS, Erez A, Bader P, Lalani SR, Scott DA, Scaglia F, et al. Phenotypic manifestations of copy number variation in chromosome 16p13.11. *Eur J Hum Genet EJHG*. mars 2011;19(3):280-6.
160. Ramalingam A, Zhou XG, Fiedler SD, Brawner SJ, Joyce JM, Liu HY, et al. 16p13.11 duplication is a risk factor for a wide spectrum of neuropsychiatric disorders. *J Hum Genet*. juill 2011;56(7):541-4.
161. Yan X, Li F, Liang Y, Shen Y, Zhao X, Huang Q, et al. Human Nudel and NudE as Regulators of Cytoplasmic Dynein in Poleward Protein Transport along the Mitotic Spindle. *Mol Cell Biol*. févr 2003;23(4):1239-50.
162. Houlihan SL, Feng Y. The scaffold protein Nde1 safeguards the brain genome during S phase of early neural progenitor differentiation. *Levitt P, éditeur. eLife*. 23 sept 2014;3:e03297.
163. Fujitani M, Zhang S, Fujiki R, Fujihara Y, Yamashita T. A chromosome 16p13.11 microduplication causes hyperactivity through dysregulation of miR-484/protocadherin-19 signaling. *Mol Psychiatry*. mars 2017;22(3):364-74.
164. Kaminsky EB, Kaul V, Paschall J, Church DM, Bunke B, Kunig D, et al. An evidence-based approach to establish the functional and clinical significance of copy number variants in intellectual and developmental disabilities. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. sept 2011;13(9):777-84.
165. Atli EI, Yalcintepe S, Atli E, Demir S, Mail C, Gurkan H. Clinical Implications of Chromosome 16 Copy Number Variation. *Mol Syndromol*. mai 2022;13(3):184-92.
166. Coe BP, Witherspoon K, Rosenfeld JA, van Bon BWM, Vulto-van Silfhout AT, Bosco P, et al. Refining analyses of copy number variation identifies specific genes associated with developmental delay. *Nat Genet*. oct 2014;46(10):1063-71.
167. Favalli V, Tini G, Bonetti E, Voza G, Guida A, Gandini S, et al. Machine learning-based reclassification of germline variants of unknown significance: The RENOVO algorithm. *Am J Hum Genet*. 1 avr 2021;108(4):682-95.
168. Brabbing-Goldstein D, Reches A, Svirsky R, Bar-Shira A, Yaron Y. Dilemmas in genetic counseling for low-penetrance neuro-susceptibility loci detected on prenatal chromosomal microarray analysis. *Am J Obstet Gynecol*. févr 2018;218(2):247.e1-247.e12.
169. Walser SA, Werner-Lin A, Russell A, Wapner RJ, Bernhardt BA. « Something Extra on Chromosome 5 »: Parents' Understanding of Positive Prenatal Chromosomal Microarray Analysis (CMA) Results. *J Genet Couns*. oct 2016;25(5):1116-26.

170. van der Steen SL, Riedijk SR, Verhagen-Visser J, Govaerts LCP, Srebniak MI, Van Opstal D, et al. The Psychological Impact of Prenatal Diagnosis and Disclosure of Susceptibility Loci: First Impressions of Parents' Experiences. *J Genet Couns.* 2016;25(6):1227-34.
171. Balancing Genetics (Science) and Counseling (Art) in Prenatal Chromosomal Microarray Testing - PubMed [Internet]. [cité 23 juill 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27207687/>
172. Walser SA, Kellom KS, Palmer SC, Bernhardt BA. Comparing genetic counselor's and patient's perceptions of needs in prenatal chromosomal microarray testing. *Prenat Diagn.* sept 2015;35(9):870-8.
173. McPheeters ML, Weitlauf A, Vehorn A, Taylor C, Sathe NA, Krishnaswami S, et al. Screening for Autism Spectrum Disorder in Young Children: A Systematic Evidence Review for the U.S. Preventive Services Task Force [Internet]. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2016 [cité 23 juill 2022]. (U.S. Preventive Services Task Force Evidence Syntheses, formerly Systematic Evidence Reviews). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK349703/>
174. Reichow B. Overview of meta-analyses on early intensive behavioral intervention for young children with autism spectrum disorders. *J Autism Dev Disord.* avr 2012;42(4):512-20.
175. Martin CL, Kirkpatrick BE, Ledbetter DH. Copy Number Variants, Aneuploidies, and Human Disease. *Clin Perinatol.* juin 2015;42(2):227-42.
176. Richards EG, Sangi-Haghpeykar H, McGuire AL, Van den Veyver IB, Fruhman G. Pregnant patients' risk perception of prenatal test results with uncertain fetal clinical significance: ultrasound versus advanced genetic testing. *Prenat Diagn.* 2015;35(12):1213-7.

SERMENT DE GALIEN



« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

Variations de nombre de copies de susceptibilité aux troubles neurodéveloppementaux, à pénétrance incomplète et/ou expressivité variable : Cas particulier des déséquilibres 16p13.11

Contexte : Les PIEV sont des CNV de susceptibilité aux troubles neurodéveloppementaux à pénétrance incomplète et/ou expressivité variable, ce qui rend la prédiction du phénotype incertaine et par conséquent le conseil génétique difficile. Il existe de nombreux mécanismes complexes et intriqués, allant de l'échelle du génome à l'échelle environnementale, pour expliquer cette pénétrance incomplète et cette expressivité variable.

Objectif : Après avoir fait une revue détaillée des principaux mécanismes impliqués, à ce jour, dans la pénétrance incomplète et l'expressivité variable, l'objectif principal de ce travail de thèse a consisté à colliger l'ensemble des patients porteurs de CNV impliquant la région 16p13.11 diagnostiqués dans le service de cytogénétique du CHU de Clermont-Ferrand au cours de la période s'étendant du 28/06/2011 au 28/10/2021, d'étudier l'impact sur le phénotype de ces variations selon leurs caractéristiques moléculaires (nombre de copies, taille, position génomique) et de comparer ces résultats aux données scientifiques actuelles. L'objectif secondaire était d'illustrer les difficultés de classement et d'interprétation de variations pouvant présenter une pénétrance incomplète et/ou une expressivité variable, à l'origine d'un conseil génétique parfois difficile à dispenser.

Méthode : Nous avons constitué une cohorte de 7 patients porteurs de délétions 16p13.11 et 7 patients porteurs de duplications 16p13.11 ayant bénéficié d'une ACPA en première intention dans le cadre d'anomalies de développement.

Résultats : Les microremaniements de la région 16p13.11 sont des CNV récurrents médiés par NAHR. La région 16p13.11 peut être divisée en 3 segments, flanqués par des duplicons, dont le segment II constitue la région minimale critique. Pour les délétions 16p13.11, l'ensemble de nos données concordent avec celles de la littérature alors que pour les duplications 16p13.11, nous avons identifié quelques divergences. Nous observons une surreprésentation de ces duplications chez l'homme avec un OR à 2,55 encore controversée dans la littérature. Aucun de nos patients ne présente de TSA ou d'épilepsie précédemment rapportés et seulement un de nos patients présente une malformation cardiaque. Enfin, les porteurs de duplications semblent exprimer un phénotype neurodéveloppemental moins sévère que les porteurs de délétions.

Conclusions : Les duplications 16p13.11 sont responsables de TND. Cependant, elles sont toutes héritées de parents présentant un phénotype normal ou subnormal. Nous avons observé une grande variabilité phénotypique et quelques divergences par rapport aux données de la littérature. Notre cohorte présente un effectif insuffisant pour mieux affiner la corrélation phénotype/génotype et réévaluer le classement des duplications 16p13.11. La majorité des individus étant diagnostiquée tôt, il faudrait envisager un suivi à long terme pour mieux évaluer la pénétrance de ces syndromes qui varie avec l'âge. De plus, pour les patients présentant des signes cliniques ne correspondant pas au génotype ou pour lesquels le phénotype apparaît plus sévère ou discordant par rapport aux apparentés porteurs, nous proposons de poursuivre les analyses de génétique par une exploration de l'exome ou du génome par un séquençage haut débit. Cela dans le but de découvrir un ou des « other-hits » associés, afin de mieux comprendre la variabilité phénotypique et ainsi prodiguer un conseil génétique adapté.

Mots-clés : Variation de nombre de copies, pénétrance incomplète, expressivité variable, PIEV, troubles neurodéveloppementaux, analyse chromosomique sur puce à ADN, microremaniements de la région 16p13.11