

**DÉTECTION DE RÉARRANGEMENTS  
CHROMOSOMIQUES PAR LA TECHNIQUE DE  
CGH ARRAY CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE  
DÉFICIENCE INTELLECTUELLE SYNDROMIQUE**

Ghislaine Royer

► **To cite this version:**

Ghislaine Royer. DÉTECTION DE RÉARRANGEMENTS CHROMOSOMIQUES PAR LA TECHNIQUE DE CGH ARRAY CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE DÉFICIENCE INTELLECTUELLE SYNDROMIQUE. *Génétique humaine*. 2011. <hal-01479236>

**HAL Id: hal-01479236**

**<https://hal-ephe.archives-ouvertes.fr/hal-01479236>**

Submitted on 28 Feb 2017

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

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

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE**

**ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ETUDES**

sciences de la vie et de la terre

**MÉMOIRE présenté par Ghislaine ROYER**

Pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études

**DÉTECTION DE RÉARRANGEMENTS CHROMOSOMIQUES PAR LA  
TECHNIQUE DE CGH ARRAY CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE  
DÉFICIENCE INTELLECTUELLE SYNDROMIQUE**

**Soutenance le 29 juin 2011 devant le jury suivant :**

- Président	Pr Bernard MIGNOTTE
- Tuteur scientifique	Dr Jean-Paul BONNEFONT
- Tuteur pédagogique	Dr Thi My Anh NEILDEZ
- Rapporteur	Dr Azzedine ABOURA
- Examineur	Dr Aziza LEBBAR

**Mémoire préparé sous la direction du Dr Jean-Paul BONNEFONT,**  
Laboratoire Hospitalier de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker-Enfants-Malades  
**Directeur : Pr Arnold MUNNICH**

**Tuteur EPHE : Dr Thi My Anh NEILDEZ**  
EPHE Laboratoire de Biologie Moléculaire INSERM U951, GENETHON

**ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ETUDES**  
**Sciences de la Vie et de la Terre**

**DETECTION DE REARRANGEMENTS CHROMOSOMIQUES PAR LA  
TECHNIQUE DE CGH ARRAY CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE  
DEFICIENCE INTELLECTUELLE SYNDROMIQUE**

Mémoire présenté par Ghislaine ROYER le 29 juin 2011

**RÉSUMÉ**

La déficience intellectuelle (DI) se définit comme un arrêt du développement mental caractérisé par des facultés et un niveau global de l'intelligence réduits, survenant avant l'âge de 18 ans. Elle est évaluée à l'aide de tests du comportement adaptatif et de tests cognitifs standardisés mesurant le quotient intellectuel (QI). On parle de déficience intellectuelle sévère lorsque le QI est inférieur à 50 et de déficience intellectuelle légère modérée lorsque le QI est compris entre 50 et 70. Les étiologies sont variées et se répartissent en 20% de facteurs environnementaux et 40 % de causes génétiques connues. En effet, les anomalies chromosomiques constituent la cause génétique la plus fréquente et sont retrouvées dans 15% des patients atteints de déficience intellectuelle sévère. Cependant dans plus de 40% des cas les DI restent inexpliquées. L'exploration globale du génome a connu des avancées technologiques considérables ces dernières années, notamment avec l'utilisation de la technique d'hybridation génomique comparative sur micro-réseau, la CGH-array. La technique consiste à hybrider simultanément l'ADN de patients avec des milliers de sondes constituées de séquences choisies dans le génome humain, sur des lames de verre, avec une résolution < 1 Mb. Les performances de résolution des puces ne cessent d'augmenter, et avec elles les difficultés d'interprétation des résultats obtenus. En effet, on observe dans le génome humain de nombreuses variations de séquences de l'ADN (Copy Number Variations - CNV) et Copy Number Polymorphisms - CNP) dont l'effet phénotypique n'est pas connu. L'évaluation du caractère pathogène de ces anomalies est l'objet de nombreux travaux. Les performances de la CGH-array nous ont conduits à utiliser cette technique pour l'exploration d'une cohorte de patients reçus dans le service de génétique de l'hôpital Necker-Enfants-Malades présentant une DI syndromique et pour lesquels aucun diagnostic n'avait encore été posé. Les remaniements détectés par CGH-array ont été confirmés par FISH dans le laboratoire de cytogénétique. Cependant, les limites de résolution de la FISH sont atteintes notamment pour les duplications adjacentes de petite taille, ce qui nous a amenés à envisager des techniques alternatives de biologie moléculaire, PCR semi-quantitative et QMPSF.

Les résultats de ce travail confirment largement l'utilité de la CGH-array dans le diagnostic des DI syndromiques et sont concordants avec les données de la littérature, ce qui a permis au laboratoire de cytogénétique de substituer en première intention la technique de CGH-array au Caryotype Haute Résolution et d'envisager l'abandon du caryotype standard en première intention pour l'exploration des DI syndromiques.

MOTS-CLÉS : déficience intellectuelle ; quotient intellectuel ; génome ; CGH-array ; CNV ; diagnostic

## **TABLE DES MATIERES**

I INTRODUCTION .....	6
A. RETARD MENTAL .....	6
1. Définition du retard mental ou déficience intellectuelle (DI) .....	7
2. Evaluation d'une déficience intellectuelle .....	7
3. Classification des déficiences intellectuelles .....	8
4. Prévalence des DI .....	9
5. Cas particulier de l'autisme .....	9
B. ETIOLOGIES DES DÉFICIENCES INTELLECTUELLES .....	10
1. Environnement .....	10
a) Alcool et autres substances toxiques .....	10
b) Événements périnataux .....	11
c) Infections virales .....	11
d) Critères socio-économiques .....	11
2. Génétique .....	11
a) Anomalies chromosomiques .....	12
a-1) Prévalence des anomalies chromosomiques .....	12
a-2) Aberrations chromosomiques .....	12
b) Anomalies monogéniques .....	15
b-1) Prévalence .....	15
b-2) Déficiences intellectuelles liées au chromosome X .....	15
b-3) DI autosomiques dominantes .....	16
b-4) DI autosomiques récessives .....	16
b-5) DI par mutation de l'ADN mitochondrial .....	17
c) Dérégulation des gènes soumis à l'empreinte parentale .....	17
3. Etiologie inconnue .....	18
C. LES OUTILS DU DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE .....	18
1. exploration clinique .....	18
a) Enquête étiologique .....	18
b) Tests psychométriques et d'évaluation .....	19
2. exploration paraclinique .....	20
a) Imagerie médicale .....	20
b) Examens Neurophysiologiques .....	20
c) Bilan métabolique .....	20
d) Exploration génomique .....	21
d-1) Evolution des technologies .....	21
d-2) Variants de structure .....	22
d-3) Effets phénotypiques des CNV .....	23
d-4) Les outils actuels d'exploration globale du génome .....	23
d-5) Hybridation In Situ de sondes Fluorescentes (FISH) .....	25
e) Exploration génique .....	26
e-1) DI syndromiques .....	26
e-2) DI non syndromiques .....	26
e-3) Confirmation d'une anomalie vue en CGH-array .....	26

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

6-FAM	6-Carboxyfluorescein	p 45
7DHCR	7-dehydrocholesterol reductase	p 18
ADID	Autosomal Dominant Intellectual Disability	p 18
ADN	Acide désoxyribonucléique	p 15
AGTLC	Acides gras à très longue chaîne	p 23
AICAR	5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside	p 23
ARID	Autosomal Recessive Intellectual Disability	p 18
AS	Syndrome d'Angelman	p 15
BAC	Bacterial Artificial Chromosome	p 27
CAA	Chromatographie des acides aminés	p 23
CAO	Chromatographie des acides organiques	p 23
CDG	Congenital Disorders of Glycosylation ou Carbohydrate-Deficient Glycoprotein	p 18
CGH	Comparative Genomic Hybridization	p 26
CGH-array	Hybridation Génomique Comparative sur micro-réseau	p 26
CHR	Caryotype Haute Résolution	p 26
CIM	Classification Internationale des Maladies	p 9
CNP	Copy Number Polymorphism	p 24
CNV	Copy Number Variation	p 17
Cy3-dCTP	5-Amino-propargyl-2'-deoxycytidine 5'-triphosphate coupled to Cy3 fluorescent dye	p 33
Cy5-dCTP	5-Amino-propargyl-2'-deoxycytidine 5'-triphosphate coupled to Cy5 fluorescent dye	p 33
dATP	Deoxyadenosine triphosphate	p 34
dCTP	Deoxythymidine triphosphate	p 34
dCTP	Deoxycytidine triphosphate	p 34
DECIPHER	Database of Chromosome Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources	p 41
dGTP	Deoxyguanosine triphosphate	p 34
DGV	Database of Genomic Variants	p 41
DHPLC	Denaturing High Performance Liquid Chromatography	p 28
DI	Déficience intellectuelle	p 7
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders	p 9
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	p 35
EEG	Electroencéphalogramme	p 22
FAS	Syndrome d'alcoolisme fœtal	p 11
FISH	Fluorescent In Situ Hybridization	p 28
FXS	Fragile X syndrome	p 17

GABA	Acide $\gamma$ -aminobutyrique	p 18
GO	Gene Ontology	p 26
GWAS	Genome Wide Association Studies	p 24
HPRT	Hypoxanthine-guanine Phosphoribosyltransférase	p 17
HRM	High Resolution Melting	p 28
ICD	International Classification of Diseases	p 9
ID	Intellectual Disability	p 7
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique	p 22
ISCN	International System for human Cytogenetic Nomenclature	p 13
Kb	Kilobases	p 24
LCR	Low Copy Repeat	p 16
LINE	Long Interspersed Nuclear Elements	p 16
Mb	Megabases	p 23
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification	p 29
NAHR	Non Allelic Homologue Recombinaison	p 16
NARP	Neurogenic Ataxia-Retinitis Pigmentosa	p 19
NCBI	National Center for Biotechnology Information	p 37
NGS	Next Generation Sequencing	p 28
NHEJ	Non Homologous End Joining	p 16
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man	p 38
OTC	Ornithine Transcarbamylase	p 17
PAC	P1-derived Artificial Chromosome	p 34
PCR	Polymerase Chain Reaction	p 29
PE	Potentiels évoqués	p 22
PWS	Syndrome de Prader-Willi	p 15
QI	Quotient Intellectuel	p 7
QMPSF	Quantitative Multiplex PCR of Short Fragments	p 44
SAICAR	5-amino-4-imidazole-N-succinocarboxamide riboside	p 23
SINE	Short Interspersed Nuclear Elements	p 16
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	p 24
STS	Sequence Tagged Sites	p 44
T3	Tri-iodothyronine	p 23
T4	Thyroxine	p 23
TSA	Troubles du spectre autistique	p 10
TSH	Thyréostimuline	p 23
VABS	Vineland adaptive behavior scales	p 8
XLID	X Linked Intellectual Disability	p 17
YAC	Yeast Artificial Chromosomes	p 42

# I INTRODUCTION

## A. RETARD MENTAL

De tout temps et dans toutes les cultures s'est posée la question de la conception de l'intelligence et de la nature des fonctions mentales atteintes dans le retard mental.

A partir du 17<sup>ème</sup> siècle, les fonctions et pouvoirs de l'esprit sont regroupés dans les catégories d'intelligence, d'émotion et de volonté, avec l'apparition des premiers désaccords sur ces classements. (Berrios 2001)

Au 19<sup>ème</sup> siècle les définitions et classifications du retard mental sont instables, du fait de l'opposition entre le discours médical, éducatif, anthropologique, légal et statistique.

La fin du 19<sup>ème</sup> siècle voit apparaître de nouveaux concepts avec la séparation entre retard mental et troubles mentaux.

Au début du 20<sup>ème</sup> siècle, suite à la loi de l'enseignement scolaire obligatoire publiée en 1882, le psychologue Alfred Binet fut chargé de mission en 1904 par le ministre de l'éducation pour imaginer un outil qui permettrait de repérer les enfants susceptibles de rencontrer les plus grandes difficultés scolaires, et créa en collaboration avec le psychologue Théodore Simon la 1<sup>ère</sup> 'échelle métrique de l'intelligence'. Le principe de cette échelle métrique de l'intelligence était de regrouper les questions du test par niveau d'âge et d'obtenir ainsi un classement des enfants testés par rapport aux résultats d'un groupe d'enfants "normaux" d'un âge donné, les résultats s'exprimaient en termes d'âge mental.

En 1912, le psychologue allemand Wilhelm Stern définit le Quotient Intellectuel (QI) comme le rapport de l'âge mental sur l'âge réel, multiplié par 100.

Ces dernières années, de nombreux travaux de neurosciences cognitives se sont intéressés, parallèlement à l'intelligence rationnelle ou logique, à d'autres aspects de l'intelligence, impliqués en particulier dans la communication et la relation à l'autre. Daniel Goleman (Goleman 2011) décrit *l'intelligence émotionnelle*, qui consiste à pouvoir déchiffrer nos propres sentiments et émotions, à mettre en évidence notre capacité à les reconnaître, à les exprimer et à percevoir ce que ressentent les autres, et *l'intelligence sociale*, association de qualités telles que la sensibilité aux besoins et aux intérêts d'autrui, la générosité pour nous tourner vers eux et la considération pour les respecter. Récemment a été mise en évidence l'importance de certains neurones, les neurones « miroirs » (qui présentent une activité aussi bien lorsqu'un individu exécute une action que lorsqu'il observe un autre individu exécuter la même action, d'où le terme « *miroir* » et les « neurones en fuseau » (ayant un rôle important

dans de nombreuses capacités cognitives allant de la perception savante à la dyslexie ou l'autisme).

Mais le débat n'est pas clos, l'influence des contextes socio-politiques semblant avoir toujours pris une part importante dans l'évaluation de l'intelligence au fil des siècles.

## 1. Définition du retard mental ou déficience intellectuelle (DI)

De façon consensuelle et selon les classifications officielles, le retard mental est un arrêt du développement mental ou un développement mental incomplet, caractérisé par une insuffisance des facultés et du niveau global d'intelligence, notamment des fonctions cognitives, du langage, de la motricité et des performances sociales. L'âge de survenue doit être inférieur à 18 ans.

Des capacités intellectuelles réduites sont le trait dominant de ce trouble, et on retient le diagnostic si elles s'accompagnent d'une moindre capacité d'adaptation aux exigences quotidiennes de l'environnement : communication, autonomie, vie domestique, aptitudes sociales, travail, loisirs, santé et sécurité (*source : site web de l'OMS*) voir bibliographie (1)

Depuis quelques années le terme de déficience intellectuelle (DI) (en anglais Intellectual Disability, ID) remplace celui de retard mental. J'utiliserai ce terme tout au long de mon mémoire.

## 2. Evaluation d'une déficience intellectuelle

L'évaluation de l'effcience intellectuelle comprend d'une part des tests standardisés mesurant le QI, qui est souvent considéré comme le potentiel de la personne, et d'autre part une évaluation du comportement adaptatif, qui reflète l'observation de la performance du patient dans son milieu de vie.

### **❖ Définition du Quotient Intellectuel (QI)**

Le quotient intellectuel est le résultat d'un test psychométrique qui, lorsqu'il est corrélé avec les autres éléments d'un examen psychologique, entend fournir une indication quantitative standardisée liée à l'intelligence abstraite. La construction des tests de QI est totalement empirique, le résultat est considéré comme simplement indicatif de difficultés cognitives de l'enfant. Le QI constitue surtout un classement d'un individu par rapport à une population donnée, et ne renseigne que sur son écart par rapport à la norme (adaptation à des types de raisonnements logiques, voire de cognition, et prédéfinis)

Le Test de Wechsler est l'outil d'évaluation psychométrique le plus utilisé au monde.

La première version date de 1949. La dernière version, le Wechsler Intelligence Scale for Children (**WISC IV**) date de 2005. Il comprend 4 indices d'évaluation : compréhension



verbale, raisonnement perceptif, mémoire de travail et vitesse de traitement. Le résultat est exprimé sous forme d'un score, le Quotient Intellectuel.

Le QI moyen dans la population générale est, par définition, de 100. On parle de déficience intellectuelle lorsque le QI est inférieur à 70.

Ces valeurs sont à considérer avec prudence car relativement imprécises, et d'autre part la composante socio-culturelle n'y est pas prise en compte.

#### ❖ **Comportement adaptatif**

Il existe plusieurs échelles permettant une évaluation des comportements adaptatifs. Pour les enfants, l'une des plus utilisée est la Vineland Adaptive Behavior Scales (VABS), en français 'échelles du comportement social et adaptatif'. Cette échelle évalue les habiletés personnelles et sociales de l'enfant au cours d'un entretien réalisé avec le plus souvent l'un des parents.

La VABS mesure des comportements adaptatifs de quatre ordres : communication (réceptive, expressive et communication écrite), habiletés de la vie quotidienne (tâches domestiques, comportements en communauté), socialisation (interactions avec autrui, responsabilité et sensibilité face aux autres) et motricité (fine, globale et coordination)

### 3. Classification des déficiences intellectuelles

Il existe actuellement deux grands systèmes de classifications des pathologies en psychiatrie, la « Classification Internationale des Maladies »(CIM), en anglais « International Classification of Diseases » (ICD) et le « Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders » (DSM), en français « manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux ».

#### ❖ **La Classification Internationale des Maladies (CIM)**

Son origine remonte à 1893 avec la « classification des causes de décès » par Jacques Bertillon. Elle avait été conçue pour « permettre l'analyse systématique, l'interprétation et la comparaison des données de mortalité et morbidité recueillies dans différents pays à des époques différentes » et a fait l'objet de 5 révisions décennales jusqu'en 1938. En 1945, l'OMS nouvellement créée entreprend sa mise à jour, qui aboutit en 1948 à la « Classification statistique internationale des maladies, traumatismes et causes de décès » appelée CIM-6. La CIM est une classification mono-axiale, chaque maladie ne correspondant qu'à un seul code.

La version actuellement utilisée est la CIM-10, parue en 1992. Des mises à jour sont effectuées régulièrement, la dernière datant de 2008. Cette classification recense toutes les maladies, dont le retard mental qui figure au chapitre V, section F, « troubles mentaux et du comportement »

## ❖ **Le Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)**

Ce manuel publié en 1952 par l'American Psychiatric Association (APA), société savante de psychiatres pour la plupart américains était conçu à l'origine pour classer les troubles psychiatriques, structurés en psychoses et névroses. Il a fait l'objet de 4 révisions, la version actuelle est le DSM-IV, publié en 1994 avec une mise à jour datant de 2000.

Le DSM est un catalogue descriptif des pathologies mentales avec une approche multi-axiale (5 axes d'analyse) devant permettre « une approche globale et intégrative des patients », mais l'étiologie des pathologies n'y est pas abordée.

### 4. Prévalence des DI

Le taux de prévalence de la déficience intellectuelle dans la population générale se situe autour de 1 à 3% pour les retards modérés et légers, et 0.3 à 0.5 % pour les retards sévères (Chelly, Khelifaoui et al. 2006).

Selon les études, la prévalence des DI sévères reste stable alors qu'elle varie pour les DI légères, qui sont moins aisées à évaluer que les DI sévères, et dont les critères d'évaluation du trouble peuvent varier selon les des populations testées, et les facteurs socio-culturels (Leonard and Wen 2002)

On constate également un excès de garçons chez les patients atteints de DI modérée, avec un ratio de 1,6 garçon pour 1 fille atteinte (McLaren and Bryson 1987) (Stevenson 2000). Dans le cas des déficiences modérées, ce déséquilibre pourrait s'expliquer en partie par des troubles plus visibles chez les garçons et mieux dépistés, alors que chez les filles ces troubles passent plus facilement inaperçus et sont détectés plus tardivement. Concernant les DI sévères, différents mécanismes génétiques et épigénétiques semblent être à l'origine de ce biais (voir au chapitre 'étiologies des DI')

### 5. Cas particulier de l'autisme

Défini par Léo Kanner en 1943 comme un « trouble du contact affectif », l'autisme est caractérisé par un déficit de l'interaction sociale réciproque, un déficit qualitatif de la communication verbale et non verbale et un répertoire de comportements restreints, répétitifs et stéréotypés. Par ailleurs, l'ensemble de comportements proches de l'autisme avec une déficience des interactions sociales et de la communication, mais sans déficience intellectuelle constituent les « troubles du spectre autistique » (TSA)

Les troubles apparaissent chez l'enfant avant l'âge de trois ans et affectent environ un enfant sur 166 pour les TSA et un enfant sur 1000 pour l'autisme typique dit « autisme de Kanner », avec un risque plus élevé pour les garçons (4:1). On estime qu'en moyenne une

déficience intellectuelle est associée dans 80% des cas et une épilepsie dans 30% des cas d'autisme. Un taux de récurrence accrue de 4,5 % dans la fratrie comparé à une prévalence de 0,1 % dans la population générale et l'excès important de jumeaux monozygotes concordants (~90 %) par rapport aux jumeaux dizygotes (<5 %) démontrent la forte contribution génétique dans l'autisme.

Chez 10-25 % des personnes atteintes, l'autisme est associé à des maladies génétiques telles que la sclérose tubéreuse de Bourneville (impliquant les gènes *TSC1* et *TSC2*), le syndrome de l'X fragile (le gène *FMRI*), et le syndrome de Rett (le gène *MeCP2*) (Durand, Chaste et al. 2008)

Les risques liés à la périnatalité peuvent être une cause d'autisme, comme dans le cas d'une exposition à l'acide valproïque, le thalidomide, la rubéole ou l'alcool.

## **B. ETIOLOGIES DES DÉFICIENCES INTELLECTUELLES**

Environ 20 % des DI peuvent être attribuées à des facteurs environnementaux et 40 % à des causes génétiques connues (maladies génétiques et anomalies chromosomiques). Mais l'étiologie des DI reste encore inexplicée dans près de 40 % des cas.

### **1. Environnement**

Des facteurs environnementaux contribuent pour environ 20% à expliquer une déficience intellectuelle. Ces facteurs sont l'alcoolisme maternel, des complications prénatales ou périnatales ou des complications vaccinales, sans oublier les critères socio-économiques.

#### **a) Alcool et autres substances toxiques**

Selon Ropers, la prévalence du syndrome d'alcoolisme fœtal (FAS, classement CIM-10) est de 1/1000 naissances dans le monde (Ropers 2010). En 2002, en France, la Caisse Nationale d'Assurance Maladie estimait que les formes complètes du FAS toucheraient entre un enfant sur 300 et un enfant sur 800 (Source : site *web www.ortho-saf.com*, 2008) voir *bibliographie (3)*. Le FAS correspond à la première cause de déficience intellectuelle d'origine non génétique dans le monde occidental. Le « trouble du spectre de l'alcoolisation fœtale » (FASD), qui n'est pas en soi un diagnostic clinique mais décrit toute la gamme des déficiences pouvant résulter de l'exposition prénatale à l'alcool, touche, lui, 1% des naissances en France et 3 à 5/1000 dans le monde.

Parmi les autres substances toxiques pouvant induire un déficience intellectuelle, on trouve notamment les drogues et certains médicaments, de nombreux produits chimiques (métaux lourds type mercure) ou physiques (rayons X) absorbés par la mère durant la grossesse.

#### **b) Evénements périnataux**

Il semble exister une corrélation entre un faible poids de naissance et l'augmentation de la prévalence de l'apparition de déficience intellectuelle ou de difficultés d'apprentissage (Boulet, Schieve et al. 2010). De la même façon, les complications prénatales et périnatales semblent corrélées avec l'apparition de troubles et de déficits neuropsychologiques chez les enfants (Seidman, Buka et al. 2000). Le nombre de ces complications est en régression depuis l'amélioration de la prise en charge des grossesses et des nouveau-nés et la médicalisation de l'accouchement dans les pays développés.

#### **c) Infections virales**

Les pathologies infectieuses les plus fréquentes et responsables de DI sont la rubéole, la toxoplasmose, la syphilis et le cytomegalovirus. Leur gravité est aussi importante en période prénatale que postnatale.

Les complications de type encéphalite dues aux vaccinations des nourrissons contre les maladies infantiles sont heureusement devenues anecdotiques avec les progrès réalisés dans la fabrication des vaccins.

#### **d) Critères socio-économiques**

Selon plusieurs études (Drews, Yeargin-Allsopp et al. 1995; Murphy 1998; Gustavson 2005) la prévalence des déficiences intellectuelles est inversement corrélée aux critères socio-économiques. En effet, dans les régions pauvres, la prévalence des DI est 2 à 3 fois plus élevée que dans les régions à revenu élevé. Les raisons en sont notamment la malnutrition, la misère culturelle, le manque de prise en charge des questions de santé, et aussi une consanguinité importante dans certaines régions.

## **2. Génétique**

On estime que l'origine de 40% des DI peut être attribuée à des anomalies génétiques connues, aussi bien au niveau génique que chromosomique et peuvent être classées en 3 catégories :

❖ Les réarrangements chromosomiques dont l'effet délétère principal est la modification de l'expression des gènes localisés dans la région chromosomique remaniée, adjacents ou à distance de ces réarrangements.

❖ Les mutations affectant un seul gène (induisant les causes monogéniques de DI) et dont le gène déficient est impliqué dans le développement des fonctions cognitives (Chelly, Khelifaoui et al. 2006)

❖ La dérégulation du mécanisme d'empreinte de gènes spécifiques ou de régions du génome.

## a) Anomalies chromosomiques

### a-1) Prévalence des anomalies chromosomiques

Les anomalies chromosomiques constituent la cause la plus fréquente des DI d'origine génétique. On estime à 6/1000 leur prévalence dans la population générale. En fonction des études, une anomalie chromosomique peut être retrouvée chez environ 15 % des patients présentant une DI sévère (Leonard and Wen 2002) et 5% des patients présentant une DI légère (Phelan MC *et al.*, 1996) et les réarrangements subtélomériques sont retrouvés chez 5 à 7% des DI associées à d'autres signes cliniques (Flint and Knight 2003). Dans une autre étude, on retrouve plus de 2% de déséquilibres cryptiques télomériques ou subtélomériques chez des patients atteints de DI inexplicée (Ledbetter and Martin 2007). Récemment une équipe a calculé un taux moyen d'anomalies de 12% en colligeant les données de 33 études incluant environ 21700 patients atteints de DI (Miller, Adam et al. 2010)

Certaines études ont encore montré que la prévalence des anomalies chromosomiques chez les individus autistes se situait autour de 5 à 10% (Xu and Chen 2003), ce chiffre restant à confirmer du fait de l'imprécision des critères cliniques choisis pour l'établissement du diagnostic d'autisme.

### a-2) Aberrations chromosomiques

Il peut s'agir d'anomalies du nombre (aneuploïdies, polyploïdies) ou d'anomalies de structure des chromosomes, les anomalies de nombre étant les plus nombreuses. La description des anomalies est répertoriée dans une nomenclature internationale, l'International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN 2009).

#### ❖ Anomalies de nombre

Dans l'espèce humaine, un caryotype normal est constitué de 46 chromosomes : 22 paires d'autosomes et une paire de chromosomes sexuels (gonosomes). Les anomalies de

nombre sont provoquées par un défaut de ségrégation (non-disjonction) pouvant survenir au cours de la méiose, de la fécondation ou des premières divisions de l'œuf.

Le risque de survenue de ce mécanisme de non-disjonction peut avoir plusieurs causes, notamment il augmente considérablement avec l'âge maternel au moment de la conception.

#### ➤ *Aneuploïdies*

On parle d'euploïdie lorsque le nombre de chromosomes est égal à un multiple ( $>2$ ) du lot haploïde (23 chromosomes) dans les cellules somatiques, par exemple la triploïdie comptant 69 chromosomes. Ces polyploïdies ne sont pas viables.

On parle d'aneuploïdie lorsque le nombre de chromosomes d'un génome diploïde humain est différent de 46. Il peut s'agir d'une perte du chromosome d'une paire (monosomie) ou d'un chromosome supplémentaire (trisomie). Une aneuploïdie des autosomes est très souvent associée à un phénotype anormal. Par contre, certaines aneuploïdies touchant les gonosomes (triple X ou XXY) sont sans conséquences cliniques, de découverte fortuite le plus souvent.

#### ➤ *Le syndrome de Down ou trisomie 21*

Cette aneuploïdie est la cause la plus fréquente de DI génétique, sa prévalence est de 1/650 dans la population générale. La trisomie 21 se caractérise par la présence de trois chromosomes 21. Le mécanisme est une non-disjonction pouvant survenir à différentes étapes de la division cellulaire. Lorsqu'elle survient au moment des 1<sup>ères</sup> divisions de l'œuf (non-disjonction post-méiotique), toutes les cellules ne seront pas trisomiques, on observe alors une trisomie en mosaïque, dont le phénotype est moins sévère.

Le dépistage prénatal possible chez les mères âgées (ayant un facteur de risque accru) a contribué à une baisse de la prévalence dans les pays où il a été mis en place.

#### ❖ *Anomalies de structure*

Les anomalies de structure résultent de cassures portant sur un ou plusieurs chromosomes, suivies de réarrangements anormaux de ces chromosomes. Elles peuvent se produire sans entraîner de gain ni de perte apparents de matériel génétique (anomalies équilibrées), ou au contraire induire un gain ou une perte de matériel génétique (anomalies déséquilibrées)

### ➤ *Réarrangements équilibrés*

La conséquence d'un réarrangement équilibré est le plus souvent une infertilité, et il existe surtout un risque en cas de transmission sous forme déséquilibrée à la descendance. Cependant on peut observer un phénotype anormal dans plusieurs situations :

-Si le point de cassure sur le chromosome se situe au niveau d'un gène ou d'une de ses séquences régulatrices, entraînant une inactivation de l'expression de ce gène.

-En cas de disomie uniparentale, où les 2 chromosomes d'une même paire proviennent d'un seul parent.

Les conséquences sont importantes pour certains chromosomes soumis à empreinte (chromosome 15 et syndrome de Prader-Willi (PWS) ou syndrome d'Angelman -AS), et dont une seule copie est exprimée de façon physiologique, soit celle d'origine maternelle, soit celle d'origine paternelle (ce mécanisme est développé plus loin page 15). Dans ce cas, on observe une perte d'expression des gènes soumis à empreinte dans les régions altérées (PWS en cas de perte du chromosome paternel ou AS en cas de perte du chromosome maternel) ou une perte d'hétérozygotie, délétère dans le cas où le chromosome transmis en double porte un allèle muté.

### ➤ *Réarrangements déséquilibrés*

Ils représentent  $\frac{1}{4}$  des anomalies de structure détectées. Les réarrangements sont de différents types : délétions terminales ou interstitielles, duplications, inversions, marqueurs...

Ils surviennent après des cassures de l'ADN double-brin, mettant en jeu le plus souvent des mécanismes de réparation de l'ADN de type recombinaisons homologues non alléliques (Non Allelic Homologue Recombinaison, NAHR)<sup>(1)</sup> et jonctions de terminaisons non homologues (Non Homologous End Joining, NHEJ)<sup>(2)</sup>

Le mécanisme NAHR intervient au niveau de séquences répétées de 10 à 300 kb de longueur appelées LCR (Low copy repeat)<sup>(3)</sup> résultant de duplications segmentaires<sup>(4)</sup>

Le mécanisme NHEJ est le mode de réparation des cassures double-brin d'ADN prédominant chez les mammifères. Il induit plus volontiers des erreurs entraînant des anomalies du nombre de copies ou des réarrangements non récurrents conduisant à des maladies. Les recombinaisons s'effectuant avec le mécanisme NHEJ sont dues à des séquences répétées plus petites comme les Short Interspersed Nuclear Elements (SINE)<sup>(5)</sup> ou Long Interspersed Nuclear Elements (LINE)<sup>(6)</sup>

## b) Anomalies monogéniques

### b-1) Prévalence

Environ 380 gènes ont été à ce jour validés dans différentes formes de déficience intellectuelle (Ropers 2010)

### b-2) Déficiences intellectuelles liées au chromosome X

(X Linked Intellectual Disability: XLID)

De façon historique, la recherche de gènes impliqués dans des DI monogéniques s'est focalisée sur une localisation sur le chromosome X, du fait de l'observation d'un biais du sex-ratio déséquilibré en défaveur des garçons (1.4 fois plus de garçons atteints que de filles)

D'autre part de larges études de liaison dans des familles où ségrégeaient des DI chez les garçons et la découverte cytogénétique d'un site fragile dans la région télomérique du bras long du chromosome X ont conduit en 1991 à l'identification du syndrome de l'X fragile (FXS) (Verkerk, Pieretti et al. 1991)

Le syndrome X fragile représente la deuxième cause de déficience intellectuelle d'origine génétique après la trisomie 21. La prévalence de la maladie est de 1/4000 naissances de garçons et de 1/7000 naissances de filles. Ce syndrome est retrouvé chez 2 à 3% des garçons atteints de DI, et constituerait au moins 25 % des XLID chez les garçons (Ropers 2010). Dans la grande majorité des cas, il est dû à l'expansion instable d'une séquence CGG dans la région 5' non traduite du gène *FMRI*, entraînant une inactivation du gène s'exprimant normalement dans le cerveau. Ce syndrome présente une transmission dominante liée à l'X avec pénétrance<sup>(7)</sup> réduite, associant des troubles du développement psychomoteur et un déficit intellectuel de gravité variable, allant du trouble de l'apprentissage à une déficience intellectuelle, et de troubles du comportement de gravité variable allant des troubles de l'humeur au comportement autistique. En effet, le syndrome de l'X fragile est retrouvé chez 4% des sujets atteints d'autisme.

Les XLID représentent 10-12 % des DI (Ropers 2010), toutes formes confondues. À ce jour, plus de 90 gènes ont été identifiés comme étant à l'origine de XLID. Ces gènes sont exprimés majoritairement dans le cerveau et sont impliqués dans le développement neuronal, la formation et la fonction des synapses et dans des voies physiopathologiques et métaboliques diverses. La déficience de ces gènes entraîne une accumulation toxique de métabolites dans le cerveau (gènes *SLC6A8* : transporteur de la créatine, *OTC* : enzyme du cycle de l'urée ou *HPRT* : métabolisme des purines)



### b-3) DI autosomiques dominantes

(Autosomal Dominant Intellectual Disability : ADID)

Les DI sévères d'hérédité autosomique dominante sont la plupart du temps dues à des mutations 'de novo'. En effet, leur sévérité permet rarement aux individus atteints de se reproduire. Parmi les mutations responsables on trouve un nombre non négligeable de 'Copy Number Variations' pathogènes (CNV, dont la signification sera détaillée au paragraphe C-4) ainsi que des mutations tronquantes ou à effet dominant négatif, ayant d'importantes conséquences fonctionnelles. Par ailleurs, quelques pathologies autosomiques dominantes telles que la neurofibromatose (prévalence 1/4000) ou la sclérose tubéreuse de Bourneville (prévalence 1/6000) sont souvent associées à des déficiences intellectuelles de sévérité variable.

### b-4) DI autosomiques récessives

(Autosomal Recessive Intellectual Disability : ARID)

Les DI d'hérédité autosomique récessive sont assez peu documentées, en particulier en raison de la petite taille des fratries, dans ce cas un individu atteint peut facilement passer pour un cas sporadique et la cause génétique peut ne pas être évoquée. Les DI d'hérédité autosomique récessive sont d'autant plus difficiles à diagnostiquer lorsqu'il n'existe pas d'autres signes cliniques associés, elles sont donc cliniquement indifférenciables, à moins de réarrangements chromosomiques démasquant une mutation sur le 2<sup>ème</sup> allèle. La consanguinité peut être un facteur de risque important pour ces DI, et dans ces cas la stratégie 'd'Homozygosity Mapping' dans des grandes familles consanguines peut s'avérer concluante. Celle-ci consiste à localiser des haplotypes homozygotes communs, résultant de la ségrégation de la mutation ancestrale dans le génome des individus atteints d'une même famille présentant des unions consanguines. La région du génome ainsi localisée sera alors étudiée à la recherche de gènes responsables de ces DI.

Il faut noter cependant que les progrès réalisés dans l'étude du génome humain ont permis l'identification d'un nombre croissant de gènes. Ainsi à ce jour, 9 gènes ont été impliqués dans des DI autosomique récessives isolées et 30 loci sont en cours d'étude.

De nombreuses maladies du métabolisme peuvent aussi induire une déficience intellectuelle et ont un mode de transmission autosomique récessif, parmi lesquelles :

**-Les maladies d'intoxication.** Il s'agit d'une intoxication aiguë, secondaire à une accumulation de métabolites toxiques retenus en amont d'un bloc enzymatique et qui se localisent notamment dans le cerveau. On trouve dans ce groupe les amino-acidopathies (phénylcétonurie, leucinose...), les déficits du cycle de l'urée (arginosuccinate lyase...)

### **-Anomalies de synthèse et du catabolisme des molécules complexes.**

Ce sont des maladies héréditaires du métabolisme dues à un déficit enzymatique de la voie de synthèse ou du catabolisme des macromolécules. Elles incluent les maladies lysosomales, les maladies peroxysomales (déficit d'oxydation des acides gras à longue chaîne), les syndromes d'hypoglycosylation des protéines (syndrome CDG), déficits de la voie de synthèse endogène du cholestérol (déficit en 7DHCR : syndrome de Smith-Lemli-Opitz), déficits des métabolites des neurotransmetteurs (voie GABA), déficits impliqués dans les encéphalopathies (déficit en créatine, en leucotriènes)

Par ailleurs, on estime que chez les Caucasiens la déficience intellectuelle a pour cause une pathologie métabolique chez environ 1% des patients atteints de DI (Garcia-Cazorla, Wolf et al. 2009). En effet, cette étude liste 15 pathologies métaboliques dont le seul signe clinique ou le signe majeur est une déficience intellectuelle.

Dans les pays développés, le dépistage néonatal de pathologies métaboliques telles que la phénylcétonurie et l'hypothyroïdie permet de proposer un traitement qui pourra éviter au nourrisson le développement ultérieur d'une déficience intellectuelle.

#### **b-5) DI par mutation de l'ADN mitochondrial**

Les cytopathies mitochondriales résultent d'un dysfonctionnement du métabolisme énergétique mitochondrial et surviennent au niveau du métabolisme intermédiaire et sont liées à des carences de production d'énergie. Il existe une grande hétérogénéité clinique avec des dysfonctionnements multi-tissulaires et des malformations cérébrales ou hépato-cellulaires. Parmi les nombreuses présentations cliniques on trouve des déficiences intellectuelles dans des syndromes tels que le syndrome Neurogenic Ataxia-Retinitis Pigmentosa (NARP) qui associe une neuropathie, une ataxie, une rétinite pigmentaire, des convulsions et une déficience intellectuelle ou une démence.

#### **c) Dérégulation des gènes soumis à l'empreinte parentale**

Le mécanisme d'empreinte décrit l'expression préférentielle ou exclusive d'un gène à partir d'un seul des deux allèles parentaux, basée sur des modifications épigénétiques allèle-spécifiques. Les gènes soumis à empreinte sont en général regroupés sur le génome, et leur localisation est bien connue. La dérégulation de ces gènes conduit notamment à des pathologies de dysfonctionnement du cerveau et des troubles du développement cognitif, dont les plus connues sont le syndrome de Prader-Willi et le syndrome d'Angelman.

L'AS avec une prévalence de 1/12000 naissances induit une DI sévère avec des troubles sévères du langage et des troubles du comportement. Le PWS lui, est trouvé avec une prévalence de 1/25000 naissances et se caractérise par une hypotonie néonatale, une obésité,

un hypogonadisme et une DI de sévérité variable. Ces 2 syndromes sont pratiquement toujours associés à des micro-délétions de la région 15q11.2-q11.3.

Mais d'autres mécanismes peuvent aboutir à une perte d'expression des gènes soumis à empreinte paternelle pour le PWS et empreinte maternelle pour l'AS (disomies uniparentales, anomalie de l'empreinte, mutations de gènes...). Le PWS est dû à une anomalie sur le chromosome 15 d'origine paternelle et l'AS dû à une anomalie du chromosome 15 d'origine maternelle. Les gènes impliqués sont différents, mais tous deux proches l'un de l'autre et localisés dans la même région soumise à empreinte parentale.

### 3. Etiologie inconnue

L'étiologie de la maladie reste inexpliquée dans près de 40 % des cas, malgré une évaluation clinique approfondie. Dans ces cas-là, le clinicien est placé dans une situation extrêmement délicate tant du point de vue du conseil génétique que de celui de la prise en charge du patient.

La compréhension des bases physiopathologiques des DI constitue donc l'un des grands défis scientifiques et médicaux des prochaines années. En effet, l'identification des gènes impliqués dans des DI et le décryptage des mécanismes physiopathologiques sous-jacents à ces phénotypes sont importants pour envisager des stratégies préventives ou thérapeutiques.

## C. LES OUTILS DU DIAGNOSTIC ETIOLOGIQUE

Le déficit intellectuelle est à l'origine d'un quart des 5000 consultations annuelles du service de Génétique de l'Hôpital Necker-Enfants malades.

### 1. exploration clinique

#### a) **Enquête étiologique**

Une consultation est le plus souvent motivée par l'inquiétude des parents devant l'absence d'acquisitions psychomotrices à un âge où elles devraient être présentes ou devant une régression comportementale, des crises convulsives ou des troubles du comportement. Dans le cas de déficience intellectuelle modérée, l'enfant est plutôt dépisté à l'âge scolaire, lorsque les difficultés apparaissent évidentes pour les parents.

Il est important pour le clinicien de poser un diagnostic étiologique, comportant plusieurs étapes :

- ❖ Entretien avec les parents pour établir l'anamnèse<sup>(8)</sup> et le profil développemental du patient, de la grossesse à la période périnatale puis postnatale.
- ❖ Observation clinique du patient, permettant d'évaluer le développement du langage et le comportement non verbal.
- ❖ L'enquête familiale permet de connaître les antécédents familiaux et d'établir un arbre généalogique pouvant indiquer une consanguinité ou un mode d'hérédité.
- ❖ L'examen physique comprend les mensurations, un examen général, un examen neurologique, un examen de la peau, des phanères, des organes génitaux externes, des extrémités, des yeux, l'aspect morphologique du visage comparé aux caractéristiques familiales...L'observation clinique permettant d'orienter vers un caractère syndromique ou isolé de ce trouble du développement.

Sur le plan clinique, on distingue 2 catégories de déficience intellectuelle :

➤ ***Déficience intellectuelle syndromique***

La déficience intellectuelle syndromique se caractérise par l'association d'anomalies neurologiques, morphologiques, viscérales ou biochimiques et/ou de signes dysmorphiques.

Dans ce cas le diagnostic clinique peut être orienté par les anomalies associées.

➤ ***Déficience intellectuelle non syndromique***

La déficience intellectuelle non syndromique est un retard des acquisitions qui se présente de façon isolée, sans autres anomalies cliniques. Les degrés de sévérité des DI non syndromiques sont variables, et parfois difficiles à diagnostiquer cliniquement. En effet, le diagnostic de DI repose alors uniquement sur l'évaluation intellectuelle du patient ou de l'apparenté, largement influencée par leur environnement familial et social.

La distinction entre DI syndromique ou non syndromique n'est pas toujours nette. En effet, en cas de DI non syndromique on ne peut écarter des anomalies associées discrètes ou des désordres psychologiques (endophénotypes) qui peuvent passer inaperçus, à moins de les rechercher spécifiquement, dans le cadre de déficits génétiques connus avec association de ces signes.

**b) Tests psychométriques et d'évaluation**

Des tests psychométriques et d'évaluation peuvent être proposés (voir chapitre « évaluation des DI"). En pratique, ils ne sont souvent proposés qu'en cas de bilan non contributif.

Au final, toutes ces étapes doivent permettre de déterminer l'étiologie de la déficience intellectuelle, d'identifier une éventuelle forme syndromique et son éventuel caractère familial. Des examens complémentaires pourront être proposés afin d'en établir les bases moléculaires. Les patients sont revus à distance afin de réévaluer leur symptomatologie, compte-tenu des progrès des investigations techniques dans ce domaine.

## 2. exploration paraclinique

### a) **Imagerie médicale**

L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) est une technique d'exploration non invasive qui permet une analyse morphologique et tissulaire. L'apport de l'IRM cérébrale dans le bilan des épilepsies et des retards psychomoteurs est essentiel, en effet elle permet de retrouver ou d'orienter vers une étiologie dans 60 % des cas.

### b) **Examens Neurophysiologiques**

Il s'agit des potentiels évoqués (PE), de l'électroencéphalogramme (EEG)...

Ces examens enregistrent l'activité électrique du Système Nerveux Central et périphérique lors de l'exploration de pathologies en neurologie, neurochirurgie et psychiatrie. Ils ont l'avantage d'être non invasifs et peuvent être répétés autant de fois que nécessaire. Ils sont complémentaires des renseignements morphologiques que fournissent les examens d'imagerie classiques.

### c) **Bilan métabolique**

Un bilan métabolique est indiqué en première intention devant une DI s'accompagnant d'une régression motrice ou intellectuelle, un changement de comportement, des épisodes aigus neurologiques ou des signes viscéraux associés.

Des examens métaboliques ciblés sont effectués en fonction de l'âge et de signes neurologiques ou extra-neurologiques : Chromatographie des acides aminés (CAA) ; Chromatographie des acides organiques (CAO) ; étude de la glycosylation des protéines (recherche du CDG syndrome) ; dosage des Acides gras à très longue chaîne (AGTLC) (maladies peroxysomales) ; AICAR/SAICAR (neurotransmetteurs de la voie GABA) ; dosage du Cuivre et de la céruloplasmine ; dosage des Oligomucopolysaccharides ; Bilan thyroïdien (T3 T4 TSH)...

#### **d) Exploration génomique**

L'exploration génomique est une étude du génome qui peut être globale ou ciblée, à la recherche d'anomalies géniques au niveau chromosomique mais aussi au niveau de l'ADN.

Elle est envisagée lorsqu'un patient présente un phénotype évoquant une DI syndromique, c'est-à-dire associant plusieurs signes cliniques tels qu'une dysmorphie faciale, des malformations sans étiologie connue. Cependant, des anomalies chromosomiques ont également été décrites chez des enfants présentant une DI sans signe dysmorphique ni autres anomalies associées (DI non syndromiques)

Ces dernières années, des progrès considérables ont été faits dans l'élucidation des anomalies génétiques de formes sévères de DI, confirmant les études précédentes qui montraient une prédominance d'anomalies chromosomiques. En effet, l'utilisation des nouvelles technologies et leur meilleure résolution ont permis de mettre en évidence l'importance grandissante des micro-remaniements dans l'étiologie des DI.

##### d-1) Evolution des technologies

Depuis la détermination à 46 du nombre de chromosomes d'un génome diploïde humain en 1956 par Tjian et Levan, l'identification d'anomalies chromosomiques de nombre ou de structure n'a cessé de progresser. La première aneuploïdie pathologique, la trisomie 21 fut découverte en 1959 par Marthe Gautier, Jérôme Lejeune et Raymond Turpin à l'aide du caryotype. Cette technique est longtemps restée une méthode de référence pour le dépistage des anomalies chromosomiques, ce qui explique que les anomalies du nombre de chromosomes aient été les plus fréquemment décrites à ce jour. A la fin des années 1960, on a commencé à décrire des variations de la région hétérochromatique des chromosomes, considérées à l'origine comme bénignes. Les progrès dans les techniques de cytogénétique ont permis la caractérisation d'anomalies des chromosomes visibles au microscope : aneuploïdies, réarrangements, hétéromorphismes<sup>(9)</sup>, sites fragiles<sup>(10)</sup>, de taille supérieure à 3 Mégabases (Mb) (Feuk, Carson et al. 2006), puis dans les années 1990, l'introduction de nouveaux outils de biologie moléculaire a permis de franchir la limite de résolution offerte par le caryotype. Ainsi les anomalies de structure sont de plus en plus décrites comme étant responsables du phénotype de patients.

L'avènement de nouvelles technologies associées à des stratégies bio-informatiques a conduit à une meilleure résolution de détection des anomalies chromosomiques et à la caractérisation de nombreuses régions variables, répétées ou polymorphes du génome impliquant des segments de taille inférieure à celles vues en microscopie (3 Mb), mais de taille supérieure à celles vues par une technique de séquençage (1 kilobase, Kb)

Une avancée considérable de ces dernières années dans l'étude du génome humain a été le Programme Génome Humain qui a abouti en 2001 à la publication de la séquence complète du génome humain haploïde, permettant la découverte de nombreux gènes et stimulant le lancement de nouveaux projets pour étudier la structure du génome humain.

Parmi ceux-ci, le projet HapMap débuté en 2002 et terminé en 2009 qui avait pour objectif de développer une carte des haplotypes de l'ensemble du génome humain à l'aide de millions de polymorphismes de substitution (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)<sup>(11)</sup> répartis sur l'ensemble du génome.

Le projet « 1000 génomes », initié en 2008 et toujours en cours, s'inscrit dans la lignée du projet HapMap avec, en plus des SNP, l'inclusion dans la carte génomique des Copy Number Variants (CNV) et des Copy Number Polymorphismes (CNP).

Enfin, les 'Genome Wide Association Studies' (GWAS) sont des études d'associations pangénomiques entre haplotypes et maladies, utilisant les données générées par les projets 'HapMap' et '1000 génomes'. Elles sont un outil puissant pour aider à l'identification de gènes de susceptibilité ou de séquences modulatrices de gènes dont les mutations sont à l'origine de maladies monogéniques.

#### d-2) Variants de structure

La meilleure résolution de détection des anomalies chromosomiques a conduit à caractériser de nombreux remaniements de taille variable appelés 'variants de structure', dont l'effet pathogène n'est pas toujours prouvé. Cependant leur contribution aux modifications du génome humain apparaît aussi importante que celle des variations nucléotidiques détectées par séquençage, les SNP. Certains variants n'ont aucune conséquence phénotypique et d'autres influencent le dosage génique et peuvent entraîner un phénotype, seuls ou combinés à d'autres facteurs environnementaux, ils sont alors nommés 'anomalies de structure'. Leur fréquence est beaucoup plus grande que les remaniements microscopiques et leur implication dans les pathologies semble beaucoup plus importante.

Ainsi, on définit les Copy Number Variants (CNV) comme des segments d'ADN de taille supérieure à 1 kb, présents en nombre variable de copies par rapport à un génome de référence, et les Copy Number Polymorphismes (CNP) comme des CNV trouvés chez plus de 1% de la population générale. Ils peuvent être de natures variées (insertions<sup>(12)</sup>, délétions<sup>(13)</sup>, duplications<sup>(14)</sup>, duplications segmentaires...).

Avant 2004, on répertoriait quelques douzaines de variants non associés à des pathologies du génome humain. À ce jour, on a répertorié plus de 600 variants structuraux submicroscopiques sans effet phénotypique prouvé.

#### d-3) Effets phénotypiques des CNV

De nombreux paramètres conditionnent l'effet phénotypique des CNV, notamment leur localisation dans le génome. En effet, l'hétérochromatine est constituée de séquences d'ADN hautement répété pauvre en gènes, et les réarrangements qui y sont localisés n'ont de ce fait en général pas de conséquences cliniques. Par contre, l'euchromatine est, elle, riche en gènes et des réarrangements y sont plus susceptibles de causer des ruptures de gènes ou d'éléments régulateurs de ces gènes.

Selon Feuk (Feuk, Carson et al. 2006), 41% des CNV identifiés couvrent au moins un gène connu. De nombreux gènes ont été identifiés comme étant « dosage-sensibles », c'est-à-dire que leur expression est influencée par leur nombre de copies sur un même allèle. Ainsi, on observe des gènes dont la variation du nombre de copies n'est pas pathologique mais fonctionne comme un allèle de susceptibilité, impliqué dans un phénotype complexe. Une analyse bio-informatique par la base Gene Ontology (GO)<sup>(15)</sup> a montré un nombre significatif de ces gènes impliqués dans les réponses immunitaires, le développement et la régulation cellulaire.

D'autre part, un réarrangement, même s'il est hérité d'un parent sain, peut avoir une expression phénotypique au travers des générations. Du fait de l'association possible de remaniements chromosomiques équilibrés ou complexes, lors de la caractérisation d'un CNV, il est nécessaire d'élargir l'étude chromosomique à la recherche d'éventuels remaniements associés sur les autres chromosomes.

#### d-4) Les outils actuels d'exploration globale du génome

##### ❖ Caryotype standard

Cette technique s'effectue sur des chromosomes fixés et étalés au stade 'métaphase', le plus souvent issus d'une culture de cellules sanguines nucléées. Le caryotype détecte les anomalies de nombre ou de structure, avec un seuil de détection d'environ 10-15 Mégabases, correspondant à un niveau de condensation de la chromatine de 300-550 bandes visibles au microscope optique. Le délai d'obtention du résultat est de 1 à 3 semaines, selon le délai de culture des cellules.



Jusqu'à présent cet examen s'effectuait en première intention pour explorer un enfant ayant une déficience intellectuelle syndromique.

❖ Caryotype haute résolution (CHR)

Il est effectué sur des cellules bloquées en prométaphase, et le niveau de condensation de la chromatine correspond à 800 bandes visibles au microscope, ce qui donne une résolution de 5 Mb environ, mais son interprétation reste difficile et bien plus délicate que le caryotype conventionnel.

❖ Hybridation génomique comparative sur micro-réseau (CGH-array)

Le principe repose sur la propriété d'hybridation spécifique de deux séquences complémentaires d'acides nucléiques. Ce sont les travaux de E.M. Southern, décrivant en 1975 la première technique de détection d'un ADN par hybridation sur un support solide, appelée 'Southern-blot', qui aboutiront à la conception des 'micro arrays' ('micro réseaux')

La 1<sup>ère</sup> technique mise au point était **l'hybridation génomique comparative (comparative genomic hybridization, CGH) sur chromosomes en métaphase**, qui ne nécessitait pas de culture préalable des cellules du patient. Il s'agissait d'une hybridation compétitive de l'ADN d'un patient contre un ADN de référence (sans anomalies), chaque ADN étant marqué d'un fluorochrome différent. Le support d'hybridation était un étalement de cellules de référence (avec caryotype normal) en métaphase. La comparaison des 2 signaux fluorescents permettait de déterminer les segments d'ADN perdus ou gagnés dans l'ADN à tester, la localisation chromosomique des pertes ou gains étant réalisée avec un analyseur d'image digitale. En pratique, la limite de résolution de la CGH sur chromosomes n'était que de 5 à 10 Mb, limite de résolution des cellules en métaphase, correspondant à l'état de condensation de la chromatine à cette phase de division de la cellule.

**La technique d'hybridation génomique comparative en micro réseau (CGH microarray)** utilise le même principe que la CGH sur chromosome. La différence essentielle réside dans le fait que l'ADN servant de support d'hybridation (et jouant le rôle de sonde) est composé de fragments d'intérêt d'ADN clonés dans des Chromosomes Artificiels de Bactérie (Bacterial Artificial Chromosome, BAC)<sup>(16)</sup> fixés sur une lame de verre, aussi appelée 'puce'. Les sondes ainsi fixées sur la lame ont un aspect de réseau, d'où encore l'appellation 'array'. Le seuil de résolution de la puce est alors fonction du nombre de sondes déposées sur la lame et de la taille des vecteurs dans lesquels les sondes sont clonées. On parle alors de 'clones' pour désigner les sondes des puces utilisant des BAC. La première publication concernant la

CGH sur microarrays d'ADN date de 1998 (Solinas-Toldo, Lampel et al. 1997) et les premières applications ont essentiellement concerné le domaine de la cancérologie clinique.

Cette technique permet de caractériser des déséquilibres chromosomiques de petite taille (1 à 4 Mb) et à l'échelle pan-génomique, c'est à dire sur un très grand nombre de loci de façon simultanée, pour des patients sans aucun signe clinique évocateur d'une région chromosomique d'intérêt. Elle permet d'étudier des régions chromosomiques fréquemment altérées au cours du retard mental, en particulier les extrémités subtélomériques. Cependant la CGH-array est une technique de dépistage des remaniements chromosomiques, il est donc nécessaire après la caractérisation d'une anomalie, de vérifier celle-ci par une autre technique.

La mise au point **des microarrays ou puces d'ADN** est actuellement en plein essor dans des centres de recherche scientifique ou des sociétés de biotechnologies, essentiellement pour caractériser finement un chromosome entier, des délétions ou des duplications récurrentes, des régions subtélomériques ou des points de cassure.

#### ❖ Séquençage extensif du génome

Une stratégie en plein essor est le séquençage haut-débit (Next Generation Sequencing, NGS) qui permet le séquençage de millions de paires de bases en parallèle, induisant un coût réduit par séquence, mais nécessitant une mémoire considérable de stockage des données informatiques. Les millions de fragments séquencés sont assemblés puis alignés par rapport à une séquence de référence. Il s'agit d'une lecture statistique impliquant une marge d'erreur, et le traitement des données peut être long et délicat.

Il peut cependant être la seule stratégie envisageable en cas de pathologies non syndromiques à transmission dominante, où les mutations surviennent le plus souvent '*de novo*'.

#### d-5) Hybridation In Situ de sondes Fluorescentes (FISH)

Il s'agit d'une technique ciblée de recherche de remaniements dans une région chromosomique précise et connue. Elle peut être effectuée soit en 1<sup>ère</sup> intention en cas de signes cliniques évocateurs de syndromes connus associés à des remaniements identifiés, soit utilisée pour confirmer une anomalie détectée précédemment par une autre technique, la CGH-array par exemple.

Le principe repose sur l'hybridation de sondes constituées de séquences d'ADN connues avec des chromosomes en métaphase ou des noyaux cellulaires en interphase, fixés sur lames de verre. Les sondes utilisées ont des tailles variant de 100 à 650 Kb, cette longueur contribuant ainsi à déterminer le seuil de résolution de la technique.

### **e) Exploration génique**

L'exploration génique est une étude spécifique des gènes d'un patient à la recherche d'une anomalie connue ou non, dont le niveau d'exploration se situe à l'échelle de l'ADN. La stratégie peut varier selon le type de DI :

#### **e-1) DI syndromiques**

L'exploration génique est envisagée dans les DI syndromiques lorsque le phénotype du patient est évocateur d'un syndrome dont le gène responsable est connu. Dans ce cas, plusieurs possibilités s'offrent à nous : recherche ciblée d'une anomalie récurrente (par exemple l'amplification de triplets dans l'X fragile) ; séquençage direct du gène ; criblage non orienté des mutations à l'aide de techniques permettant la détection d'anomalies de séquence (Chromatographie liquide à haute pression en condition dénaturante (Denaturing High Performance Liquid Chromatography, DHPLC ; High Resolution Melting, HRM). Les anomalies détectées par ces techniques de criblage sont à confirmer par séquençage.

#### **e-2) DI non syndromiques**

Dans le cadre du diagnostic, la recherche d'un gène impliqué dans une DI non syndromique est bien plus délicate en l'absence de critères phénotypiques associés, d'autant plus s'il s'agit d'un cas apparemment sporadique. L'enquête familiale est importante pour établir l'arbre généalogique et éventuellement le mode d'hérédité de la maladie ainsi que la recherche d'endophénotypes chez les apparentés, ce qui pourrait orienter les recherches vers des gènes en particulier. Une étude de liaison génétique aux loci des gènes suspectés peut alors être effectuée si le nombre d'individus dans la famille est suffisant. Le séquençage direct des gènes peut aussi être envisagé.

Mais ces études sont fastidieuses et peu rentables en terme de diagnostic, et l'on espère obtenir de meilleurs résultats avec l'application de la technique de séquençage haut débit au diagnostic.

#### **e-3) Confirmation d'une anomalie vue en CGH-array**

L'exploration génique peut aussi intervenir à la suite de l'exploration génomique du patient, pour confirmer la détection d'un réarrangement par CGH-array impliquant un gène précis dont l'altération pourrait être la cause du phénotype de DI. Les principales techniques de biologie moléculaire envisageables sont la PCR quantitative, la PCR semi-quantitative, ou la 'Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification' (MLPA).

### ❖ *PCR semi-quantitative / PCR en temps réel*

Il s'agit de techniques de dosage génique par PCR en nombre de cycles limitants. Ces méthodes permettent de quantifier plus ou moins précisément un nombre de copies initial d'ADN. Ce sont des méthodes efficaces pour détecter un excès (duplication, trisomie) ou un défaut (délétion, monosomie) de matériel génétique.

### ❖ *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)*

Il s'agit d'une amplification simultanée par PCR de paires de sondes (jusqu'à 50 fragments) chacune de longueur unique et spécifique d'une séquence génique, à l'aide d'un couple d'amorces universelles, après une étape préalable de ligation des paires de sondes hybridées à l'ADN cible. L'amplification n'a lieu que si la ligation entre les paires de sondes s'est produite, elle-même n'ayant lieu qu'en présence de l'ADN cible. Cette technique n'a pas été utilisée dans mon travail.

- Boulet, S. L., L. A. Schieve and C. A. Boyle (2010). "BirthWeight and Health and Developmental Outcomes in US Children, 1997–2005." Matern Child Health J.
- Chelly, J., M. Khelfaoui, F. Francis, B. Cherif and T. Bienvenu (2006). "Genetics and pathophysiology of mental retardation." Eur J Hum Genet 14(6): 701-13.
- Conrad, D. F., D. Pinto, R. Redon, L. Feuk, O. Gokcumen, Y. Zhang, J. Aerts, T. D. Andrews, C. Barnes, P. Campbell, T. Fitzgerald, M. Hu, C. H. Ihm, K. Kristiansson, D. G. Macarthur, J. R. Macdonald, I. Onyiah, A. W. Pang, S. Robson, K. Stirrups, A. Valsesia, K. Walter, J. Wei, C. Tyler-Smith, N. P. Carter, C. Lee, S. W. Scherer and M. E. Hurles (2010). "Origins and functional impact of copy number variation in the human genome." Nature 464(7289): 704-12.
- Drews, C. D., M. Yeargin-Allsopp, P. Decoufle and C. C. Murphy (1995). "Variation in the influence of selected sociodemographic risk factors for mental retardation." Am J Public Health 85(3): 329-34.
- Durand, C. M., P. Chaste, F. Fauchereau, C. Betancur, M. Leboyer and T. Bourgeron (2008). "[Alterations in synapsis formation and function in autism disorders]." Med Sci (Paris) 24(1): 25-8.
- Feuk, L., A. R. Carson and S. W. Scherer (2006). "Structural variation in the human genome." Nat Rev Genet 7(2): 85-97.
- Flint, J. and S. Knight (2003). "The use of telomere probes to investigate submicroscopic rearrangements associated with mental retardation." Curr Opin Genet Dev 13(3): 310-6.
- Garcia-Cazorla, A., N. I. Wolf, M. Serrano, U. Moog, B. Perez-Duenas, P. Poo, M. Pineda, J. Campistol and G. F. Hoffmann (2009). "Mental retardation and inborn errors of metabolism." J Inherit Metab Dis 32(5): 597-608.
- Goleman, D. (2011). "The Brain and Emotional Intelligence: New Insights."
- Gustavson, K. H. (2005). "Prevalence and aetiology of congenital birth defects, infant mortality and mental retardation in Lahore, Pakistan: a prospective cohort study." Acta Paediatr 94(6): 769-74.
- Hastings, P. J., J. R. Lupski, S. M. Rosenberg and G. Ira (2009). "Mechanisms of change in gene copy number." Nat Rev Genet 10(8): 551-64.
- Hochstenbach, R., E. van Binsbergen, J. Engelen, A. Nieuwint, A. Polstra, P. Poddighe, C. Ruivenkamp, B. Sikkema-Raddatz, D. Smeets and M. Poot (2009). "Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands." Eur J Med Genet 52(4): 161-9.
- Itsara, A., G. M. Cooper, C. Baker, S. Girirajan, J. Li, D. Absher, R. M. Krauss, R. M. Myers, P. M. Ridker, D. I. Chasman, H. Mefford, P. Ying, D. A. Nickerson and E. E. Eichler (2009). "Population analysis of large copy number variants and hotspots of human genetic disease." Am J Hum Genet 84(2): 148-61.

- Le Caignec, C., M. Boceno, P. Saugier-veber, S. Jacquemont, M. Joubert, A. David, T. Frebourg and J. M. Rival (2005). "Detection of genomic imbalances by array based comparative genomic hybridisation in fetuses with multiple malformations." J Med Genet 42(2): 121-8.
- Ledbetter, D. H. and C. L. Martin (2007). "Cryptic telomere imbalance: a 15-year update." Am J Med Genet C Semin Med Genet 145C(4): 327-34.
- Lee, C., A. J. Iafrate and A. R. Brothman (2007). "Copy number variations and clinical cytogenetic diagnosis of constitutional disorders." Nat Genet 39(7 Suppl): S48-54.
- Leonard, H. and X. Wen (2002). "The epidemiology of mental retardation: challenges and opportunities in the new millennium." Ment Retard Dev Disabil Res Rev 8(3): 117-34.
- Malan, V., O. Raoul, H. V. Firth, G. Royer, C. Turleau, A. Bernheim, L. Willatt, A. Munnich, M. Vekemans, S. Lyonnet, V. Cormier-Daire and L. Colleaux (2009). "19q13.11 deletion syndrome: a novel clinically recognisable genetic condition identified by array comparative genomic hybridisation." J Med Genet 46(9): 635-40.
- McLaren, J. and S. E. Bryson (1987). "Review of recent epidemiological studies of mental retardation: prevalence, associated disorders, and etiology." Am J Ment Retard 92(3): 243-54.
- Miller, D. T., M. P. Adam, S. Aradhya, L. G. Biesecker, A. R. Brothman, N. P. Carter, D. M. Church, J. A. Crolla, E. E. Eichler, C. J. Epstein, W. A. Faucett, L. Feuk, J. M. Friedman, A. Hamosh, L. Jackson, E. B. Kaminsky, K. Kok, I. D. Krantz, R. M. Kuhn, C. Lee, J. M. Ostell, C. Rosenberg, S. W. Scherer, N. B. Spinner, D. J. Stavropoulos, J. H. Tepperberg, E. C. Thorland, J. R. Vermeesch, D. J. Waggoner, M. S. Watson, C. L. Martin and D. H. Ledbetter (2010). "Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies." Am J Hum Genet 86(5): 749-64.
- Murphy, C. C. (1998). "Epidemiology of mental retardation in children." Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev. 4: 6-13.
- Redon, R., S. Ishikawa, K. R. Fitch, L. Feuk, G. H. Perry, T. D. Andrews, H. Fiegler, M. H. Shapero, A. R. Carson, W. Chen, E. K. Cho, S. Dallaire, J. L. Freeman, J. R. Gonzalez, M. Gratacos, J. Huang, D. Kalaitzopoulos, D. Komura, J. R. MacDonald, C. R. Marshall, R. Mei, L. Montgomery, K. Nishimura, K. Okamura, F. Shen, M. J. Somerville, J. Tchinda, A. Valsesia, C. Woodwark, F. Yang, J. Zhang, T. Zerjal, J. Zhang, L. Armengol, D. F. Conrad, X. Estivill, C. Tyler-Smith, N. P. Carter, H. Aburatani, C. Lee, K. W. Jones, S. W. Scherer and M. E. Hurles (2006). "Global variation in copy number in the human genome." Nature 444(7118): 444-54.
- Ropers, H. H. (2010). "Genetics of early onset cognitive impairment." Annu Rev Genomics Hum Genet 11: 161-87.
- Seidman, L. J., S. L. Buka, J. M. Goldstein, N. J. Horton, R. O. Rieder and M. T. Tsuang (2000). "The relationship of prenatal and perinatal complications to cognitive functioning at age 7 in the New England Cohorts of the National Collaborative Perinatal Project." Schizophr Bull 26(2): 309-21.

- Shaw-Smith, C., R. Redon, L. Rickman, M. Rio, L. Willatt, H. Fiegler, H. Firth, D. Sanlaville, R. Winter, L. Colleaux, M. Bobrow and N. P. Carter (2004). "Microarray based comparative genomic hybridisation (array-CGH) detects submicroscopic chromosomal deletions and duplications in patients with learning disability/mental retardation and dysmorphic features." J Med Genet 41(4): 241-8.
- Solinas-Toldo, S., S. Lampel, S. Stilgenbauer, J. Nickolenko, A. Benner, H. Dohner, T. Cremer and P. Lichter (1997). "Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances." Genes Chromosomes Cancer 20(4): 399-407.
- Stevenson, R. E. (2000). "Splitting and lumping in the nosology of XLMR." Am J Med Genet 97(3): 174-82.
- Vanneste, E., T. Voet, C. Le Caignec, M. Ampe, P. Konings, C. Melotte, S. Debrock, M. Amyere, M. Vikkula, F. Schuit, J. P. Fryns, G. Verbeke, T. D'Hooghe, Y. Moreau and J. R. Vermeesch (2009). "Chromosome instability is common in human cleavage-stage embryos." Nat Med 15(5): 577-83.
- Verkerk, A. J., M. Pieretti, J. S. Sutcliffe, Y. H. Fu, D. P. Kuhl, A. Pizzuti, O. Reiner, S. Richards, M. F. Victoria, F. P. Zhang and et al. (1991). "Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome." Cell 65(5): 905-14.
- Xu, J. and Z. Chen (2003). "Advances in molecular cytogenetics for the evaluation of mental retardation." Am J Med Genet C Semin Med Genet 117C(1): 15-24.