



Faculté
de Médecine

Aix-Marseille Université



Apport du séquençage à haut débit d'un panel de gènes dans le diagnostic d'une cohorte marseillaise de myopathies distales

SEVY Amandine, JNIN décembre 2014

Thèse de médecine

Membres du Jury :

Monsieur le Professeur POUGET Jean

Président

Monsieur le Professeur ATTARIAN Shahram

Assesseur

Monsieur le Professeur LEVY Nicolas

Assesseur

Madame le Docteur SALORT-CAMPANA Emmanuelle

Directeur

Monsieur le Docteur (MCU-PH) KRAHN Martin

Assesseur

Monsieur le Docteur BARTOLI Marc

Assesseur



I. Myopathies distales

Définition :

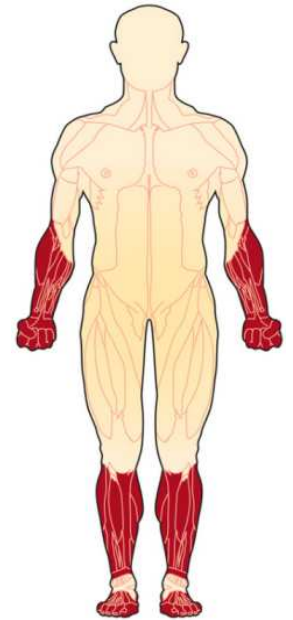
Groupe d'atteintes musculaires

Distales (mains et/ou pieds)

Génétiques

Hétérogènes

Rare (incidence variable)



	Transmission	Gène	Maladies alléliques	Age de début (années)
1. Autosomique dominant, début tardif				
Welander	AD	<i>TIA1</i>	/	50-60
Dystrophie musculaire Tibiale (myopathie d'Udd)	AD	<i>TTN</i>	LGMD 2J Myopathie et respiratoire cardiopathie	35-60
ZASPopathie (Markesbery-Griggs)	AD	<i>ZASP</i>	MMF Cardiopathie dilatée	40-50
Myotilinopathie Distale	AD	<i>MYOT</i>	LGMD1A	50-60
Alpha B Crystalline	AD	<i>CRYAB</i>	Cardiopathie Cataracte (AD) MMF	>60
VCP	AD	<i>VCP</i>	Paget (50%) DFT (30%) SLA	30-40
Atteinte des cordes vocales, pharyngée et myopathie distale	AD	<i>MATR3</i>	SLA	40
2. Autosomique dominant, début précoce				
Desminopathie	AD	<i>DES</i>	LGMD 1E Cardiopathie MMF, Stark-Kaaser	15-30
ADB Filaminopathie	AD	<i>FLNC</i>	MMF	20-40
Myopathie de Laing	AD	<i>MYH7</i>	Cardiopathie Autres myopathies	Enfance
Myopathie KLHL9	AD	<i>KLHL9</i>	/	10-20
3. Autosomique Récessif				
Myopathie distale à Nébuline	AR	<i>NEB</i>	Myopathie à bâtonnets	Enfance
Myopathie de Miyoshi	AR	<i>DYSF</i>	LGMD2B	15-25
Anoctaminopathie	AR	<i>ANO5</i>	LGMD2L	15-30
Myopathie de Nonaka	AR	<i>GNE</i>	/	20-30

Amélioration des connaissances génétiques



Plus de 20 entités regroupées sous l'appellation « myopathies distales »

Hétérogénéité

- Clinique (sélectivité, incidence, atteintes respiratoires et cardiaques associées)
- Génétique
- Allélique

Diagnostic

- Clinique
- Confirmé par l'anomalie moléculaire

Aide au diagnostic moléculaire : Deux algorithmes décisionnels

Critères **cliniques, morphologiques et histologiques**



Séquençage **ciblé** Sanger

Imagerie musculaires des membres inférieurs

Imagerie musculaires des membres inférieurs

Imagerie musculaires des membres inférieurs

Udd, 165th ENMC International Workshop: distal myopathies, 2009
Udd, 2012

Problème : 50% diagnostic moléculaire, long, fastidieux, jamais exhaustif

Hypothèse : Amélioration par **Séquençage à haut débit d'un panel de gènes**

II. Séquençage à haut débit

Séquençage à haut débit

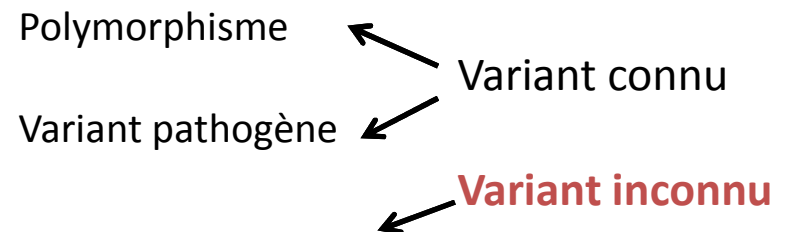
Sanger



Séquençage **simultané**

Limitations :

- Couverture inférieure
- Difficultés d'interprétation des données
- Ethique (mutations fortuites)



III. Etude

Objectifs

Validité du séquençage d'un panel de gènes pour le diagnostic des myopathies distales
Amélioration du **rendement** diagnostique de notre cohorte marseillaise

Patients et méthodes

Sujets inclus : **37 cas index** (54 patients, 17 apparentés)
Myopathies distales



Séquençage **Sanger ciblé** selon

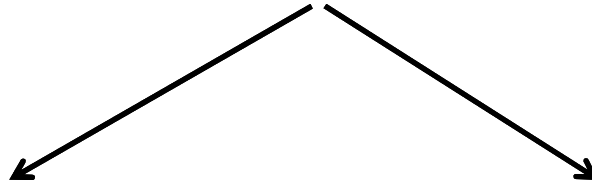
- Phénotype clinique
- Morphologie
- Histologie
- Disponibilité du séquençage (*NEB*), accessibilité (*TTN*)

Sujets inclus : **37 cas index** (54 patients, 17 apparentés)
Myopathies distales



Séquençage **Sanger ciblé** selon

- Phénotype clinique
- Morphologie
- Histologie
- Disponibilité du séquençage (NEB), accessibilité (*TTN*)



Diagnostic moléculaire
54 % des cas index (20)

Sans diagnostic moléculaire
46 % des cas index (17)

Sujets inclus : **37 cas index** (54 patients, 17 apparentés)
Myopathies distales

Séquençage **Sanger ciblé** selon

- Phénotype clinique
- Morphologie
- Histologie
- Disponibilité du séquençage (NEB), accessibilité (*TTN*)

Diagnostic moléculaire
54 % des cas index (20)

Sans diagnostic moléculaire
46 % des cas index (17)

Contrôle
6 cas index

Panel de 298 gènes
maladies neuromusculaires

Test
17 cas index

Interprétation des données

Test
17 cas index

Concertation multidisciplinaire

Neurologues cliniciens

Généticiens

Bioinformaticiens

Anatomopathologistes

Radiologues

—————→ Corrélations phénotype/génotype

Interprétation des données

En concertation multidisciplinaire

Quatre groupes définis selon leur degré de certitude diagnostique :

	Corrélation phénotype Variant/gène	Pathogénicité bioinformatique	Pathogénicité démonstrée
Certain	X	X	X
Probable	X	X	/
Possible	X	/	/
Sans diagnostic	/	/	/

Résultats

Sujets inclus : **37 cas index** (54 patients, 17 apparentés)
Myopathies distales

Diagnostic moléculaire
54 % des cas index (20)

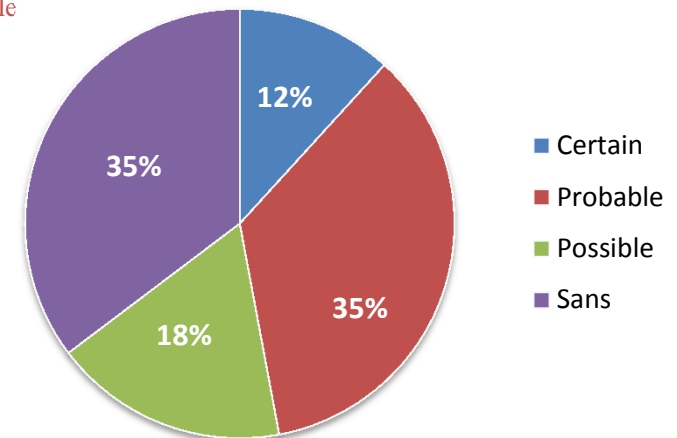
Sans diagnostic moléculaire
46 % des cas index (17)

6 cas index

**Panel de 298 gènes
maladies neuromusculaires**

17 cas index

Kaplan J et al., The 2014 version of the gene table



1. Diagnostic certain : 2 cas index, 12% des cas index

P1 (F) : 45 ans, atteinte initiale de la loge postérieure de jambe

Evolution: faiblesse de la ceinture scapulaire

Deux variants *CAPN3* c.477C>T (p.Tyr159Tyr), Délétion exons 7-8-9

Etudes fonctionnelles RT-PCR

Altération épissage, saut d'exon

Mutation génomique, délétion exons

P2 (M) : 36 ans, steppage asymétrique

Variant *TTN* c.87430T>C (p.Cys29144Arg) connu

Pfeffer et al. Brain, 2012

Phénotype de **myopathie avec atteinte respiratoire précoce**

2. Diagnostic probable : 6 cas index, 7 patients 35% des cas index

P3 (F) / P4 (M) : Phénotype clinique/radiologique/histologique de myopathie de Miyoshi

2 variants *DYSF*

Non mis en évidence pas les techniques antérieures (SSCP)

DYSF: c.1168G>A (p.Asp390Asn) controversé

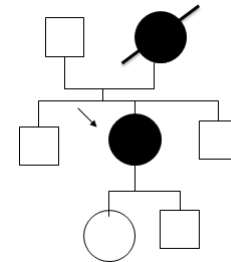
P5 (F):

Steppage à l'âge de 26 ans

Atteinte respiratoire précoce

Transmission autosomique dominante

Histologie : Corps cytoplasmiques

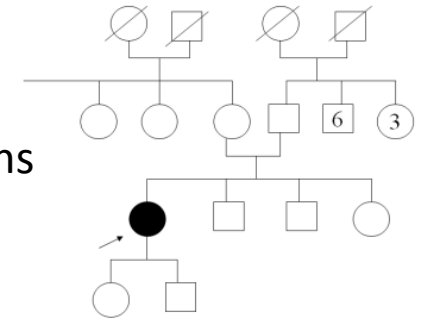


Nouveau variant *TTN* **p.Gly29223Arg**

Mutation pathologique rapportée **p.Gly29223Asp**

—————> **Myopathie avec atteinte respiratoire précoce**

2. Diagnostic probable



P6 (F) : 20 ans : Steppage prédominant à droite, abolition ROT achilléens

Amyotrophie loge antéro-externe

ENMG : Détection : mixte

Histologie : Centralisations nucléaires, vacuoles bordées

Variante dans *AARS*, **neuropathies motrices héréditaires**

P7 (F) : 37 ans, atteinte bilatérale des muscles intrinsèques de la main

Pas d'atteinte des membres inférieurs

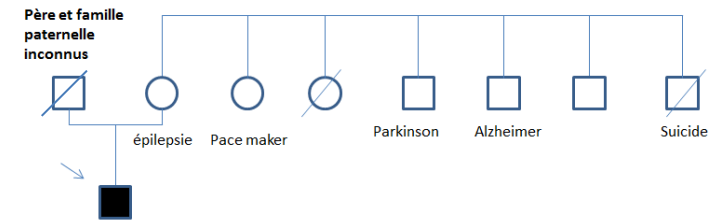
Variante *KLHL9* Cirak et al., Brain, 2010

P8 (M) : 24 ans, faiblesse des extenseurs des doigts

Secondairement, atteinte proximale

Histologie: **Inclusions cytoplasmiques**

Variante *KBTBD13* Sambuughin, 2010



P9 (M) : 40 ans, faiblesse de la loge antéro-externe de jambe, cardiomyopathie hypertrophique

Variante *CAV3*: c.216C>G préalablement décrit, controversé

McNally, Hum Mol Genet, 1998

Discussion

Avantages du panel

Séquençage **simultané** des gènes des algorithmes

Gènes **non accessibles en routine** : *TTN*

Nouveaux gènes : *KBTBD13, KLHL9*

Gènes **atypiques** mais possibles, phénotypes proximaux : *CAPN3, CAV3, KBTBD13*

Diagnostic différentiel : *AARS*

Non diagnostiqués : 53%

Défaut de technique : régions introniques, variations de copies (Del, Ins, Dup)

Gènes non découverts donc absents du panel, gène mitochondriaux

Nécessité de confirmation : **Etudes de ségrégation**, études fonctionnelles

Conclusion

Sujets inclus : **37 cas index** (54 patients, 17 apparentés)
Myopathies distales

Diagnostic moléculaire
54 % des cas index (20)

Sans diagnostic moléculaire
46 % des cas index (17)

17 cas index

Panel de 298 gènes
maladies neuromusculaires

Diagnostic moléculaire :
47% des cas index (8)

Sans Diagnostic moléculaire :
9 cas index

Rendement diagnostique total
76 % des cas index (28/37)

Merci

Pour votre attention

A « l'équipe multidisciplinaire »

