

Génétique du CMT : Quelle démarche diagnostic ?

P. LATOUR (Biologiste Praticien Hospitalier)

UF 34427 – Neurogénétique moléculaire
Hospices Civils de Lyon

Groupe Hospitalier EST Lyon

DES Inter régional Neurologie – Rhône Alpes Auvergne

Clermont-Ferrand 10/04/2014



CHARCOT

MARIE

TOOTH



1886

« Sur une forme particulière d'atrophie musculaire progressive souvent familiale, débutant par les pieds et les jambes, et atteignant plus tard les mains »

« The peroneal type of progressive muscular atrophy », Thèse

NEUROPATHIE PERIPHERIQUE symétrique, bilatérale
distale 'longueur dépendante' : jambes puis mains.
A ou hypo-réflexie diffuse.

MOTRICE

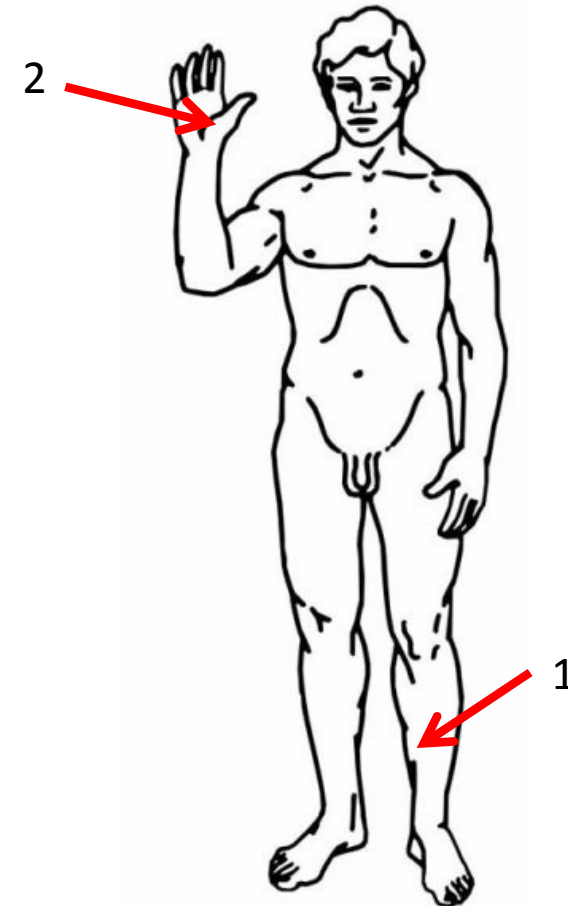
- Amyotrophie distale, rarement proximale (secondaire) ;
- Fatigabilité
- Rétractions tendineuses, déformations pieds, mains
- Troubles de la marche, perte de motricité fine

SENSITIVE (au second plan)

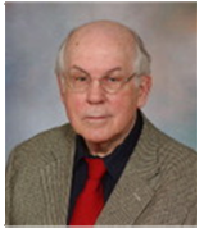
Douleurs, perte de sensibilité, ataxie proprioceptive

Egalement possibles :

- Atteinte des paires crâniennes (surdité, atrophie optique)
- Paralysies diaphragmatiques ou des cordes vocales
- Troubles de la déglutition, apnées du sommeil
- Tremblement



Fréquence : 1 / 2500



DYCK



LAMBERT



1953 Premiers Electroneuromyogrammes ENMG

1968 Classification des neuropathies périphériques

- HMSN I et II <> CMT
- HMSN III = Infancy (< 2ans)
- Par extension HSN, HMN

Table 69-1. Dyck and Lambert Classification of Hereditary Motor and Sensory Neuropathies

Type	Features
HMSN I A and B (dominantly inherited hypertrophic neuropathy)	Slow nerve conduction velocities Distal weakness, mild sensory loss Palpable nerves Decreased reflexes Pathology demonstrating segmental demyelination, remyelination, onion bulb formation, and axonal loss Autosomal dominant
HMSN II (neuronal type of peroneal muscular atrophy)	Normal nerve conduction velocities Distal weakness, mild sensory loss Nonpalpable nerves Pathology demonstrating degeneration of motor and sensory nerves Autosomal dominant
HMSN III Hypertrophic neuropathy of infancy (Déjérine and Sottas)	Delayed motor development Severe motor-sensory loss Slow nerve conduction velocities Autosomal recessive
HMSN IV Hypertrophic neuropathy (Refsum) (associated with phytanic acid excess)	Refsum's disease
HMSN V (associated with spastic paraplegia)	Spastic paraplegia present
HMSN VI (with optic atrophy)	Optic atrophy present
HMSN VII	Retinitis pigmentosa present



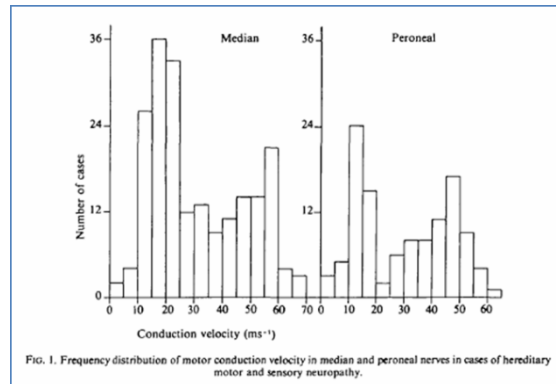
1980

Brain (1980), 103, 259-280

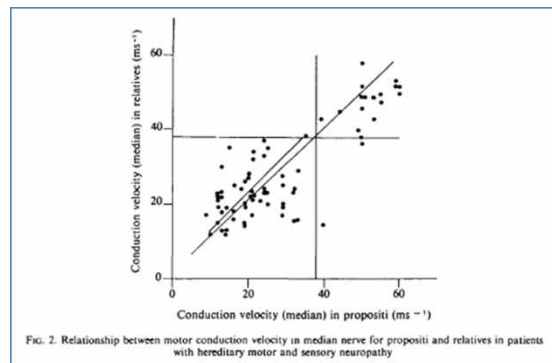
THE CLINICAL FEATURES OF HEREDITARY MOTOR AND SENSORY NEUROPATHY TYPES I AND II

by A. E. HARDING and P. K. THOMAS

HARDING THOMAS



1 - La distribution dans les HMSN des VCM est bimodale



2 - L'analyse en deux dimensions de paires familiales montre que la valeur de 38 m/s pour la **conduction nerveuses motrices du nerf médian** est celle qui permet de séparer avec le moins de cas ambigus (3/100) les formes myéliniques et neuronales de Dyck et Lambert.

La valeur seuil de 38 m/s permet d'orienter le diagnostic génétique



1966 - V. Mc Kuzick

première édition d'un recensement des maladies héréditaires (13 éditions)
sous le titre de : **Mendelian Inheritance in Man (MIM)**

Actuellement **Version en ligne** :

On-Line Mendelian Inheritance in Man : OMIM

Adresse <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/?term=CMT1A>

OMIM *Online Mendelian Inheritance in Man*

All Databases PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC OMIM

Search OMIM for CMT1A [Save Search](#)

Display Show Send to

All: 25 OMIM UniSTS: 13 OMIM dbSNP: 6

Items 1 - 20 of 25 1 of 2 Next

<input type="checkbox"/>	1: *601097. PERIPHERAL MYELIN PROTEIN 22; PMP22	GeneTests, Links
	Gene map locus 17p11.2	
<input type="checkbox"/>	2: #118220. CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE, DEMYELINATING, TYPE 1A; CMT1A	GeneTests, Links
	Gene map locus 17p11.2	

CLASSIFICATION DES GENES RESPONSABLES DE CMT

Bulletin CMT Mag - Janvier Mars 2012 (Actualisé PL)

DOMINANT

Démyélinisant

CMT1A	<i>PMP22</i>	17p12
CMT1B	<i>MPZ</i>	1q22
CMT1C	<i>LITAF</i>	16p13
CMT1D	<i>EGR2</i>	10q21
CMT1E	<i>PMP22+sur</i>	17p12
CMT1F	<i>NEFL</i>	8p21

Axonal

CMT2A1	<i>KIF1B</i>	1p36
CMT2A2	<i>MFN2</i>	1p36
CMT2B	<i>RAB7</i>	3q13
CMT2C	<i>TRPV4</i>	12q23
CMT2D	<i>GARS</i>	7p15
CMT2E	<i>NFL</i>	8p21
CMT2F	<i>HSPB1</i>	7q11
CMT2G	<i>Inconnu</i>	12q12
CMT2H	<i>MFN2 Pyr</i>	1p36
CMT2I	<i>MPZ</i>	1q22
CMT2J	<i>MPZ</i>	1q22
CMT2K	<i>GDAP1</i>	8q21
CMT2L	<i>HSPB8</i>	12q24
CMT2M	<i>DNM2</i>	19q12
CMT2N	<i>AARS</i>	16q22
CMT2O	<i>DYNC1H1</i>	19p12
CMT2P	<i>LRSAM1</i>	9q33

Intermédiaire

DI-CMTA	<i>Inconnu</i>	10q24
DI-CMTB	<i>DNM2</i>	19q12
DI-CMTC	<i>YARS</i>	1p34
DI-CMTD	<i>MPZ</i>	1q22

RECESSIF

Démyélinisant

CMT4A	<i>GDAP1</i>	8q21
CMT4B1	<i>MTMR2</i>	11q23
CMT4B2	<i>SBF2</i>	11p15
CMT4C	<i>SH3TC2</i>	5q32
CMT4D	<i>NDRG1</i>	8q24
CMT4E	<i>EGR2</i>	10q21
CMT4F	<i>PRX</i>	19q13
CMT4G	<i>HK1</i>	10q23
CMT4H	<i>FGD4</i>	12q12
CMT4J	<i>FIG4</i>	6q21

Axonal

AR-CMT2A	<i>LMNA</i>	1q21
AR-CMT2B	<i>MED25</i>	19q13
AR-CMT2C	<i>GDAP1</i>	8q21
Non nommé	<i>LRSAM1</i>	9q33
?	<i>MFN2</i>	1p36

Intermédiaire

RI-CMTA	<i>GDAP1</i>	8q21
RI-CMTB	<i>KARS</i>	16q22

LIE A L'X

CMTX1	<i>GJB1</i>	Xq13
CMTX2	<i>Inconnu</i>	Xp22
CMTX3	<i>Inconnu</i>	Xq26
CMTX4	<i>Inconnu</i>	Xq24
CMTX5	<i>PRSP1</i>	Xq22

dHMN impliqués dans le CMT

Axonal

dHMN V	<i>HSPB3</i>	5q11
--------	--------------	------



ANPGM Association Nationale des Praticiens de Génétique Médicale

Réseau neuromusculaire

Sous Groupe CMT, 6 laboratoires

Responsable : Rafaëlle BERNARD (Marseille, Timone)

Réseaux ministériels : arbres décisionnels (2007, actualisés 2011)

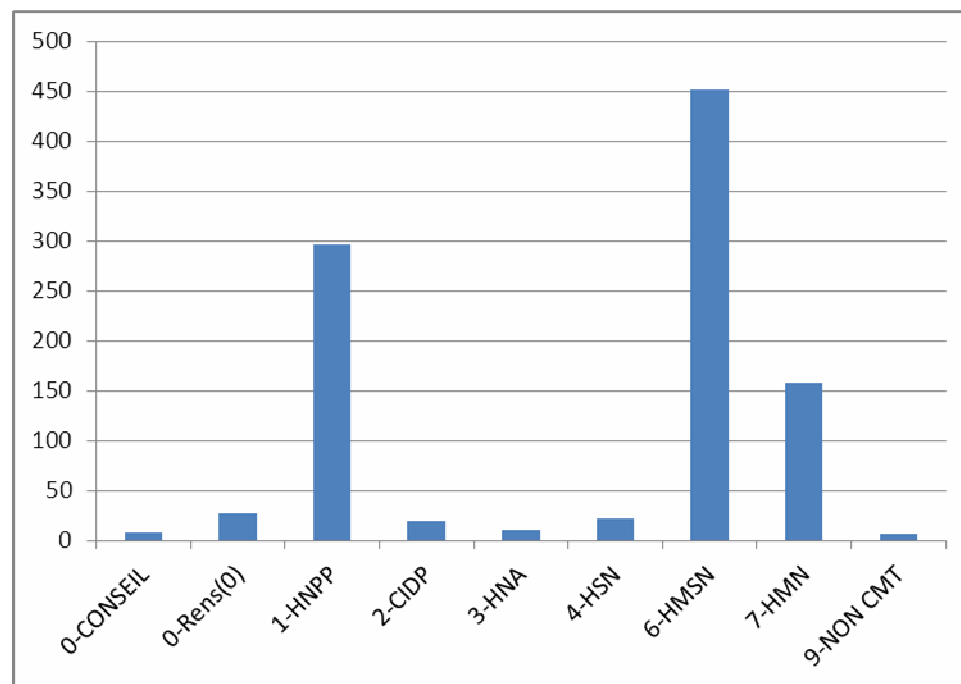
*Réseau des Laboratoires de Diagnostic Moléculaire des
Maladies Génétiques Neurologiques, Musculaires, Neurosensorielles et Retards Mentaux*

**Arbres décisionnels
Neuropathies Héritaires Sensitives et Motrice,
Maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT)**

SOMMAIRE

I. Liste des laboratoires de diagnostic moléculaire de la maladie de Charcot-Marie-Tooth.....	2
II. Rappels sur la pathologie.....	3
III. Schéma décisionnel de prescription des analyses génétiques en fonction du contexte clinique.....	4
A. Proposant.....	4
B. Apparenté non atteint.....	4
C. Diagnostic prénatal.....	4
D. Enquête familiale.....	5
E. Cas particulier des formes purement motrices (CMT « spinal »).....	5
IV. Arbres décisionnels pour l'analyse génétique chez un proposant.....	6
A. principes.....	6
B. Fiche de renseignements :.....	6
C. Fiche d'inclusion des patients suspects de CMT :.....	8
D. Fiches de stratégie d'exploration moléculaire :.....	9
E. Cas particulier des formes purement motrices (CMT « spinal ») : fiches de renseignements et de stratégie.....	16

Phénotypes - Lyon 2012-2013 (1000 cas index)



- 6 arbres décisionnels pour CMT :

3 pour CMT1 : dominant , récessif ou sporadique

3 pour CMT2 : dominant , récessif ou sporadique

- 1 arbre décisionnel pour dHMN

Pas d'arbre décisionnel pour HNPP

- **1 seul gène impliqué PMP22** :

délétions (860 cas index)

rare mutations ponctuelles (22 cas index)

-Diagnostic différentiel (formes évoluées) : essentiellement <> CMT 1

-20 cas étiquetés 'CMT' qui se sont avérés des délétions.

-Rares mutations P0 avec épisodes paralysies positionnelles

-Pas de besoin de ré-évaluation du schéma diagnostique

HMN

SMA

Table 68–1. Classification of Hereditary Motor Neuronopathy

Distribution and Type	Synonyms	Inheritance [†]	Age of Onset (years unless indicated)	Age Unable to Walk (years unless indicated)	Life Expectancy (years unless indicated)
Proximal					
Type I: Acute infantile	Werdnig-Hoffmann disease (WHD), Oppenheim disease, amyotonia congenita, SMA type I*	AR ?XL	In utero to 6 mo	Never able to walk	7–18 mo
Type II: Chronic childhood	Arrested WHD, Oppenheim disease, Kugelberg-Welander syndrome, SMA types I and II*	AR (some singletons may be new dominant mutants)	3 mo–15 yr	Median about 12 (from never to 5th decade)	18 mo–40 yr
Type III: Adult onset	Kugelberg-Welander syndrome, SMA type IV*	AR	15–60 (usually 20–40)	Rare 50+	Normal
Type IV: Juvenile onset	SMA type III*	AD	6 mo–5 yr (rarely up to 15)	Rare	Probably normal
Type V: Adult onset	SMA type IV*	AD	25–65	? 10 yr after diagnosis	20 yr after diagnosis
Bulbospinal					
	X-linked spinal + bulbar muscular atrophy	XL	15–60 (usually 20–40)	50+	Minimally limited
Distal					
Type I: Juvenile onset	Spinal form of Charcot-Marie-Tooth disease (CMT)	AD	2–20	Rare	Normal
Type II: Adult onset	Spinal form of CMT	AD	20–40	Rare	Normal
Type III: Mild juvenile	Spinal form of CMT	AR	2–10	Rare	Normal
Type IV: Severe juvenile	Spinal form of CMT	AR	4 mo–20 yr	About 30	?
Type V: Upper limb predominance	—	AD (some sporadic)	5–20	Never	Not reduced
Type VI: Severe infantile	—	AR	Infancy	Never able to walk	<1
Type VII: With vocal cord paralysis	—	AD	10–20	Rare	Probably normal
Scapuloperoneal					
Type I	—	AD	4–70	? 50+	? reduced
Type II	—	AR	2–5 (under 15)	?	?
Facioscapulohumeral					
	—	AD	Before 20	?	?
Oculopharyngeal					
	—	AD	30–40	?	?
Bulbar					
Type I: With deafness	Vialetto–van Laere syndrome	?AR	Before 20 (? males earlier)	—	20–40 (? males earlier)
Type II: Without deafness	Fazio-Londe disease, progressive bulbar palsy of childhood	AR	1–12	—	50% within 18 mo of onset

*After Emery, A. E. H.: Review: the nosology of the spinal muscular atrophies. *J. Med. Genet.* 8:481, 1971. SMA = spinal muscular atrophy.
[†]AR = autosomal recessive; AD = autosomal dominant; XL = X-linked.

Table 68–2. Classification of Spinal Muscular Atrophies

1. Proximal SMA (80%–90%)
 - Infantile and juvenile SMA (SMA I–III) (AD, AR)
 - Adult SMA (SMA IV) (AR, AD, mostly sporadic)
2. Nonproximal SMA
 - 2.1 Distal SMA (AD, AR, sporadic), predominantly involves legs, hands, or both
 - Segmental SMA or benign monomelic amyotrophy (mostly sporadic)
 - 2.2 Scapuloperoneal SMA (AD, AR)
3. Bulbar palsy
 - 3.1 Progressive bulbar palsy of childhood type Fazio-Londe (AR)
 - Bulbar palsy with deafness (Brown-Vialetto–van Laere syndrome) (AR)
 - 3.2 Adult-onset bulbar palsy (AD)
4. Spinobulbar neuronopathy type Kennedy (XL)
5. Variants of SMA
 - 5.1 Variants of infantile SMA
 - Diaphragmatic SMA (AR)
 - SMA plus pontocerebellar hypoplasia (AR)
 - SMA plus arthrogryposis and bone fractures (AR, XL)
 - SMA with myoclonus epilepsy (AR)
 - 5.2 Variants of adult-onset SMA
 - Distal SMA with vocal cord paralysis (AD) (SMA with cardiopathy)

AR = autosomal recessive; AD = autosomal dominant; XL = X-linked. From Rudnik-Schöneborn, S., de Visser, M., and Zerres, K.: Spinal muscular atrophies. In Engel, A. G., and Franzini-Armstrong, C. (eds.): *Myology: Basic and Clinical*, 3rd ed. New York, McGraw-Hill, p. 1846, 2004, with permission.

Dyck PJ, Thomas PK, eds
 Peripheral Neuropathy
 4^{ème} édition 2005

Table 1 Spinal muscular atrophies with known gene abnormalities

Type of SMA	Inheritance	Locus	Causative gene	Type of mutation	Distinguishing clinical features
Proximal SMAs					
Proximal spinal muscular atrophy (SMA)	Autosomal recessive	5q12.2–q13.	Survival motor neuron 1 (<i>SMN1</i>) [1]	Large deletions including exons 7 and 8	Most often infantile/childhood onset. Proximal greater than distal limb weakness. Intercostal and truncal weakness in severe forms. Diaphragm and facial muscles relatively spared.
Infantile SMA with arthrogryphosis	X-linked	Xp11.23	Ubiquitin-activating enzyme1 (<i>UBE1</i>) [2]	Missense: M539I, S547G	Infantile onset. Similar presentation to proximal SMA, early onset contractures.
SMA with pontocerebellar hypoplasia	Autosomal recessive	14q32	Vaccinia related kinase1 (<i>VRK1</i>) [3**]	Nonsense: R358X	Congenital or infantile onset. Diffuse weakness. Microcephaly and upper-limb ataxia. Arthrogryphosis in severe cases.
SMA type I phenotype due to mitochondrial dysfunction	Autosomal recessive	22q13	Synthesis of cytochrome oxidase 2 (<i>SCO2</i>) [4]	Missense: E140K	Similar in presentation to SMA type I with added features of cardiomyopathy, COX deficiency, and lactic acidosis.
Spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA)	X-linked	Xq12	Androgen receptor (<i>AR</i>) [5]	CAG repeat expansion in exon 1	Men only. Adult onset. Proximal and distal limb, facial, and bulbar weakness. Perioral fasciculations. Atrophy and fasciculation of tongue. Hyper-CK-emia, gynecomastia, androgen resistance, reduced fertility.
Adult onset proximal SMA (Allelic with ALS 8)	Autosomal dominant	20q13.3	Vesicle-associated membrane-associated protein, protein B (<i>VABP</i>) [6]	Missense: F59S	Adult onset. Proximal greater than distal symmetrical weakness.
Distal SMAs or hereditary motor neuropathies (HMNs)					
HMN 2A (allelic with Charcot Marie Tooth type 2L, CMT2L)	Autosomal dominant	12q24.3	Heat shock 22-kDa protein 8 (<i>HSPB8</i> or <i>HSP22</i>) [7]	Missense: K141N, K141E	Adult onset. Distal greater than proximal limb weakness. Pes cavus. Some with vocal fold and diaphragm weakness.
HMN 2B (allelic with CMT2F)	Autosomal dominant/recessive	7q11.23	<i>HSPB1</i> (<i>HSP27</i> , <i>protein B1</i>) [8]	Missense: R127W, S135F, T151I, P182L	Adult onset. Distal weakness.
HMN 2C	Autosomal dominant	5q11.2	<i>HSPB3</i> (<i>HSPL27</i> , <i>protein 3</i>) [9*]	Missense: R7S	Adult onset. Distal weakness.
HMN 4	Autosomal recessive	1p36	Pleckstrin homology domain-containing protein, family G, member 5 (<i>PLEKHG5</i>) [10]	Missense: F647S	Childhood onset. Proximal and distal weakness. No bulbar symptoms.
HMN 5A (allelic with CMT2D)	Autosomal dominant	7p15	Glycyl-tRNA synthetase (<i>GARS</i>) [11]	Missense: E71G, L129P, G240R, G526R	Adult onset. Distal arm then distal leg weakness. Thenar and first dorsal interosseus muscles affected first.
HMN 5B	Autosomal dominant	11q13	Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2 (<i>BSC2L2</i>) [12]	Missense: N88S, S90L	Variable age of onset. Weakness in distal arms progressing to distal legs. Loss of vibratory sense in legs.
HMN 7B (distal spinal and bulbar muscular atrophy with vocal fold paresis)	Autosomal dominant	2p13	p150 ^{Glued} subunit of dynactin (<i>DCTN1</i>) [13]	Missense: G59S	Adult onset. Hand (thenar muscles) then distal leg weakness. Facial weakness and vocal fold paralysis.
Scapuloperoneal SMA (SPSMA, allelic with CMT2C)	Autosomal dominant	12q24.1	Transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 4 (<i>TRPV4</i>) [14**–16**,17*]	Missense: R232C, R269C, R269H, R315W, R316C, V620I	Scapuloperoneal atrophy, developmental abnormality of bone, congenital absence of muscle, distal limb atrophy, laryngeal palsy.
Distal SMA, X-linked 3	X-linked	Xq12–q13	ATPase, Cu(2+)-transporting, alpha peptide (<i>ATP7A</i>) [18**]	Missense: P1386S, T994I	Men only. Variable onset. Distal leg and hand weakness. Pes cavus.
Spinal muscular atrophy with respiratory distress 1 (SMARD1, HMN 6)	Autosomal recessive	11q13.2–q13.4	Immunoglobulin μ -binding protein 2 (<i>IGHMBP2</i>) [19]	Various missense, nonsense, frameshift mutations, in-frame deletion, and in-frame insertion	Onset in infancy (1 – 6 months). Early diaphragm weakness. Distal greater than proximal limb weakness.

CMT2 et dHMN

Classification (clinique et génétique) des HMN (SMA) : très problématique

Le diagnostic de dHMN est posé sur l'ENMG

Le diagnostic clinique différentiel est surtout entre CMT2 et dHMN (formes distales motrices pures, 'CMT spinal')

Certains gènes sont communs entre CMT2 et dHMN :

HSPB1, HSPB8, TRPV4, GARS

Mais pour 80% des cas avec mutation le phénotype ENMG est moteur pur.

Les gènes HSPB1, HSPB8, TRPV4, GARS ont une fréquence négligeable de mutations pour le CMT

CMT1 Dominant

VCM \leq 38 m/s

6 gènes :

PMP22, GJB1, MPZ, SIMPLE,
NEFL, EGR2

Dossiers élucidés: 85%

CMT2 Dominant

VCM $>$ 38 m/s

15 gènes :

MFN2, KIF1B, RAB7, TRPV4, GARS,
NEFL, HSPB1, HSPB8, AARS, DNM2,
DYNC1H1, LRSAM1, GJB1, MPZ,
YARS

Dossiers élucidés: 25%

CMT1 Récessif

VCM \leq 38 m/s

11 gènes:

GDAP1, MTMR2, SBF2, SH3TC2,
NDRG1, EGR2, PRX, HK1, FGD4,
FIG4

Pas de gène vraiment plus
fréquent

Elucidation ?? 10 %

CMT2 Récessif

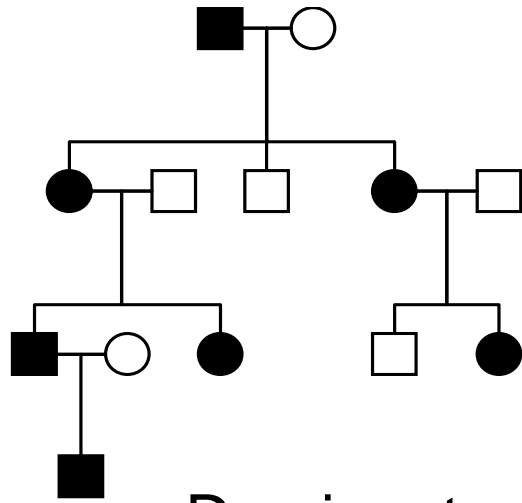
VCM $>$ 38 m/s

5 gènes:

LMNA, GDAP1, MED25, NEFL,
MFN2

Dossiers élucidés: 20%

Mode de transmission

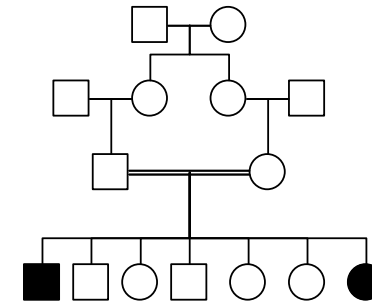


Dominant

Plusieurs patients atteints
(idéal : au moins 2 examinés)
sur plusieurs générations

1 mutation

Autosomique seulement si transmission père-fils



Récessif

2 enfants atteints
2 parents (examinés) et non atteints

2 mutations transmises
chacune par l'un des parents

Autres cas = cas sporadiques

Quelle démarche diagnostic ?

1.Efficacité de la démarche actuelle

2.Coût de la démarche

3.Validation de l'utilisation du seuil de 38 m/s

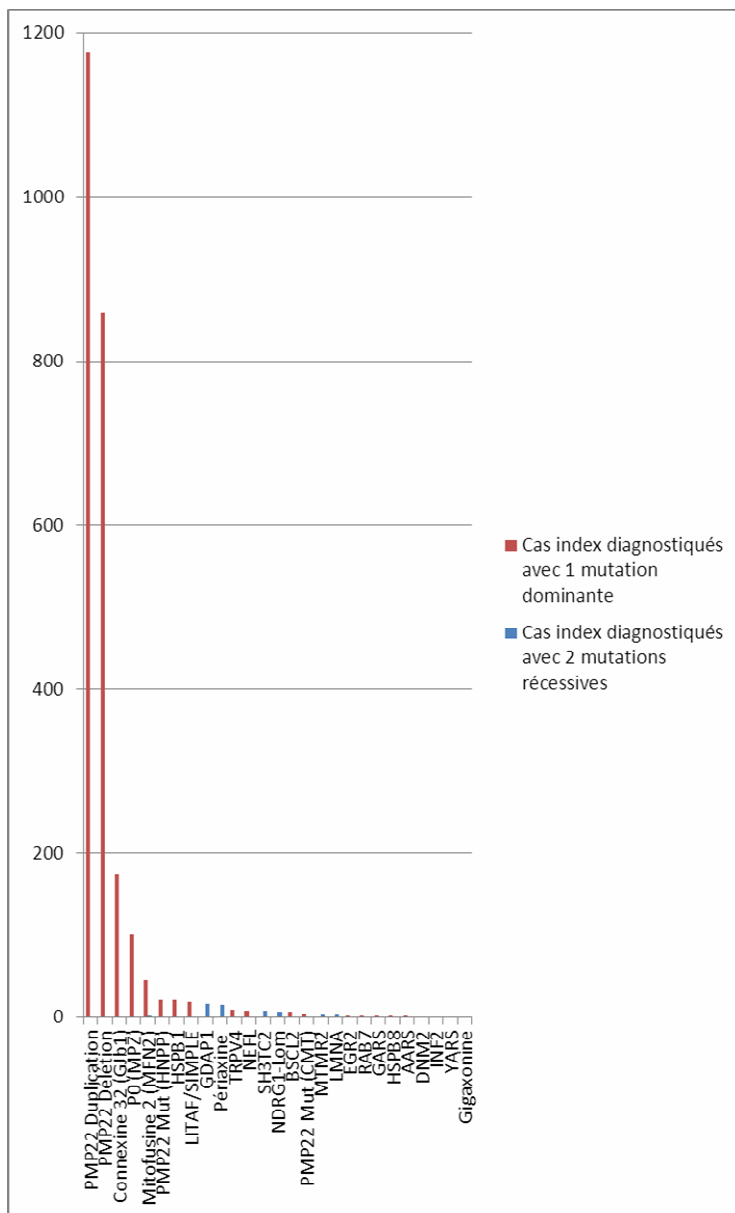
4.Gestion des cas sporadiques

5.Sélection des dossiers pour NGS

6.Evolution vers un diagnostic par séquençage nouvelle génération

2520 cas index avec diagnostic génétique établi

(Lyon 1994-2013) - Tous phénotypes : CMT – HMN - HNPP



Gène ou mutation testés	Cas index diagnostiqués avec 1 mutation dominante	Cas index diagnostiqués avec 2 mutations récessives	Total cas index positifs
PMP22 Duplication	1176		1176
PMP22 Déletion	860		860
Connexine 32 (Gjb1)	174		174
P0 (MPZ)	102		102
Mitofusine 2 (MFN2)	46	2	48
PMP22 Mut (HNPP)	22		22
HSPB1	21		21
LITAF/SIMPLE	19		19
GDAP1		17	17
Périaxine		16	16
TRPV4	9		9
NEFL	8		8
SH3TC2		8	8
NDRG1-Lom		7	7
BSC12	7		7
PMP22 Mut (CMT)	5		5
MTMR2		3	3
LMNA		3	3
EGR2	2		2
RAB7	2		2
GARS	2		2
HSPB8	2		2
AARS	2		2
DNM2	1		1
INF2	1		1
YARS	1		1
Gigaxonine		1	1
SEPT9	1		1
DCTN1	0		0
HINT1	0		0
FIG4	0		0
PLEKHG5	0		0
HSPB3	0		0
Total	2463	57	2520

Quelle démarche diagnostic ?

1. Efficacité de la démarche actuelle

2. Coût de la démarche

3. Validation de l'utilisation du seuil de 38 m/s

4. Gestion des cas sporadiques

5. Sélection des dossiers pour NGS

6. Evolution vers un diagnostic par séquençage nouvelle génération

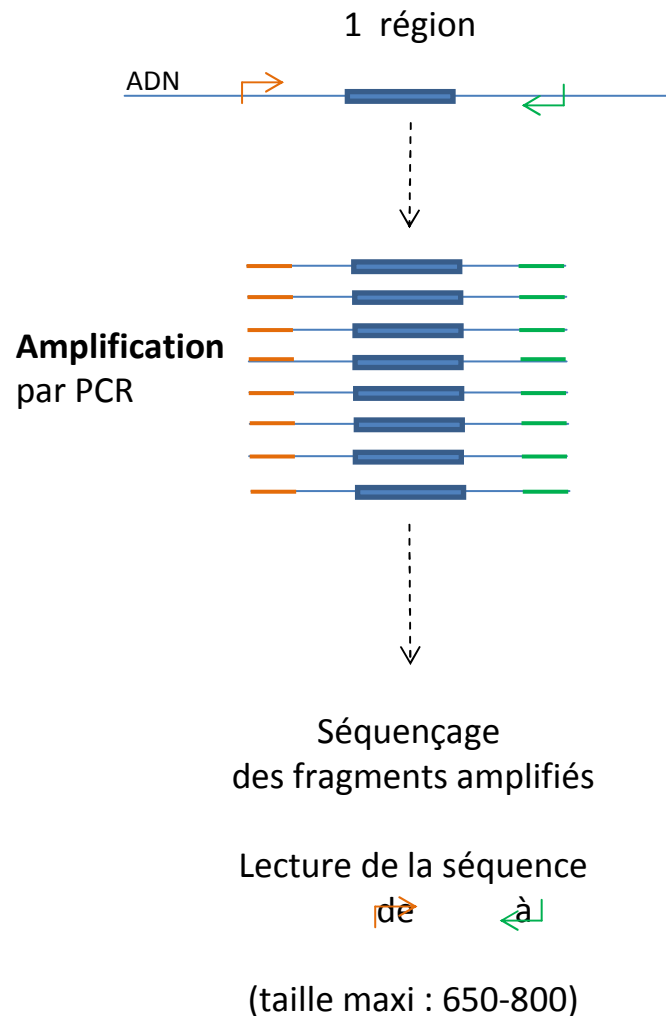
La duplication CMT1A et la délétion HNPP (Gène PMP22)

- **1991 : La duplication de la région du gène PMP22** (CMT1A) est le premier exemple historique d'implication du nombre de copies géniques (CNV) en pathologie humaine. Raeymakers (BEL) et Lupski (USA),
- **1992 : La délétion de la même région** est responsable de la neuropathie héréditaire avec hypersensibilité à la pression (HNPP Chance PF.)
- Les études ultérieures ont démontré que
 - Le dosage génique du gène PMP22, compris dans la région dupliquée ou délétée est responsable de phénotype.
 - Taille quasiment toujours la même (1,4 Mbases) (<1% de tailles alternatives).
 - Possibilité de mutations ponctuelles dans le gène PMP22 sans duplication ou délétion.

80% des mutations identifiées (2000 cas index / 2500)

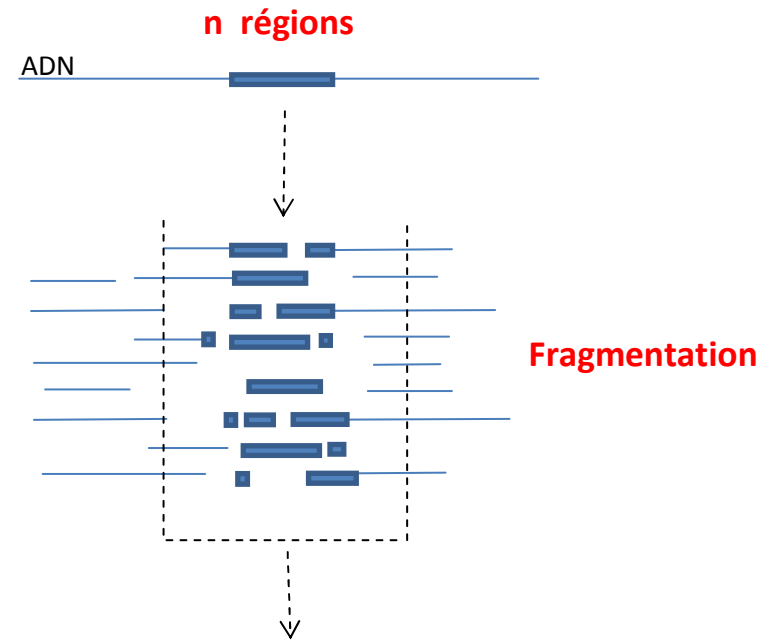
- Le diagnostic de la duplication ou de la délétion se fait
 - De **façon indirecte** (microsatellites)
 - De façon directe par **méthode MLPA** ou PCR quantitative
 - **Coût réactif < 30 euros**

Séquençage – Méthode de Sanger



'qualité' = 100

Séquençage de nouvelle génération (NGS)



- Sélection de taille (~200 bases)
- Ajout d'adaptateurs (pour capture par billes et PCR)
- **Capture des fragments** d'intérêt sur microbille (1 séquence par bille)
- Amplification clonale en émulsion (1 bille=1 machine PCR)
- Distribution des billes sur une puce (1 bille amplifiée par puits)
- Séquençage (puce) de toutes les billes (~200 bases)
- **Assemblage informatique par alignements** pour reconstituer la séquence (problème pour séquences répétées et pseudogènes)

'qualité' = 95

ATP7B - ATPase, Cu⁺⁺ transporting, beta polypeptide | GRCh37 (Chr 13)

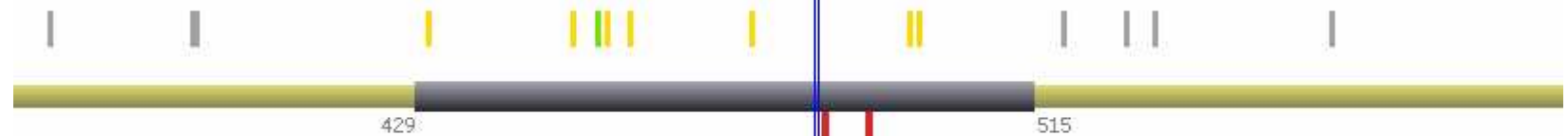
du transcrit NM_000053.3



53.3: Homo sapiens ATPase, Cu⁺⁺ transporting, beta polypeptide (ATP7B), transcript variant 1, mRNA. [i](#) [⚙](#)



bSNP | Faux-sens SwissProt [i](#) [⚙](#)



ment (R_2013_06_05...ns_BC_23.bam) [i](#) [⚙](#) Coverage Reads

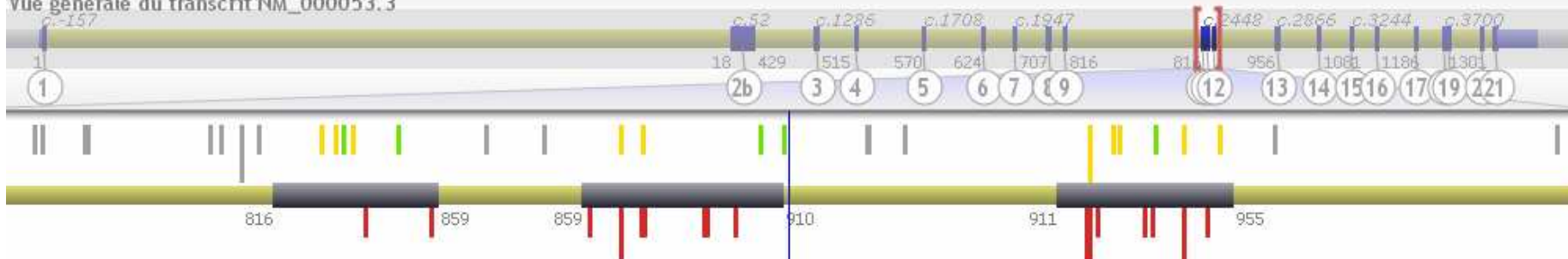
e: 472x






ATP7B - ATPase, Cu⁺⁺ transporting, beta polypeptide | GRCh37 (Chr 13)

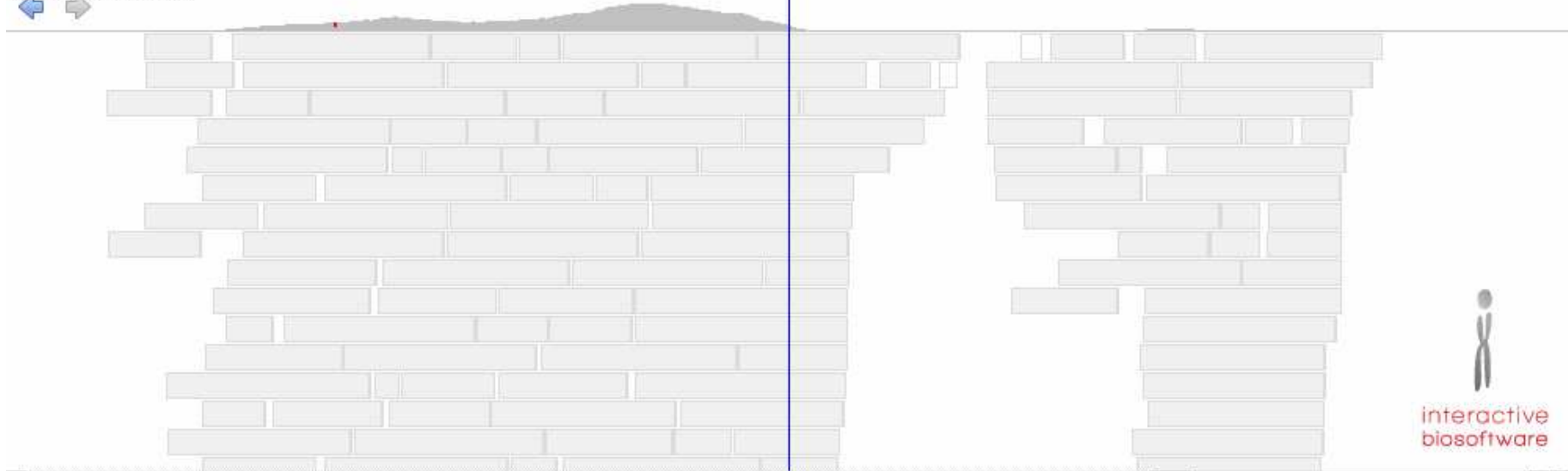
A savoir...

Vue générale du transcrit NM_000053.3



▼ BAM Alignment (R_2013_06_05...ns_BC_23.bam)   Coverage Reads 

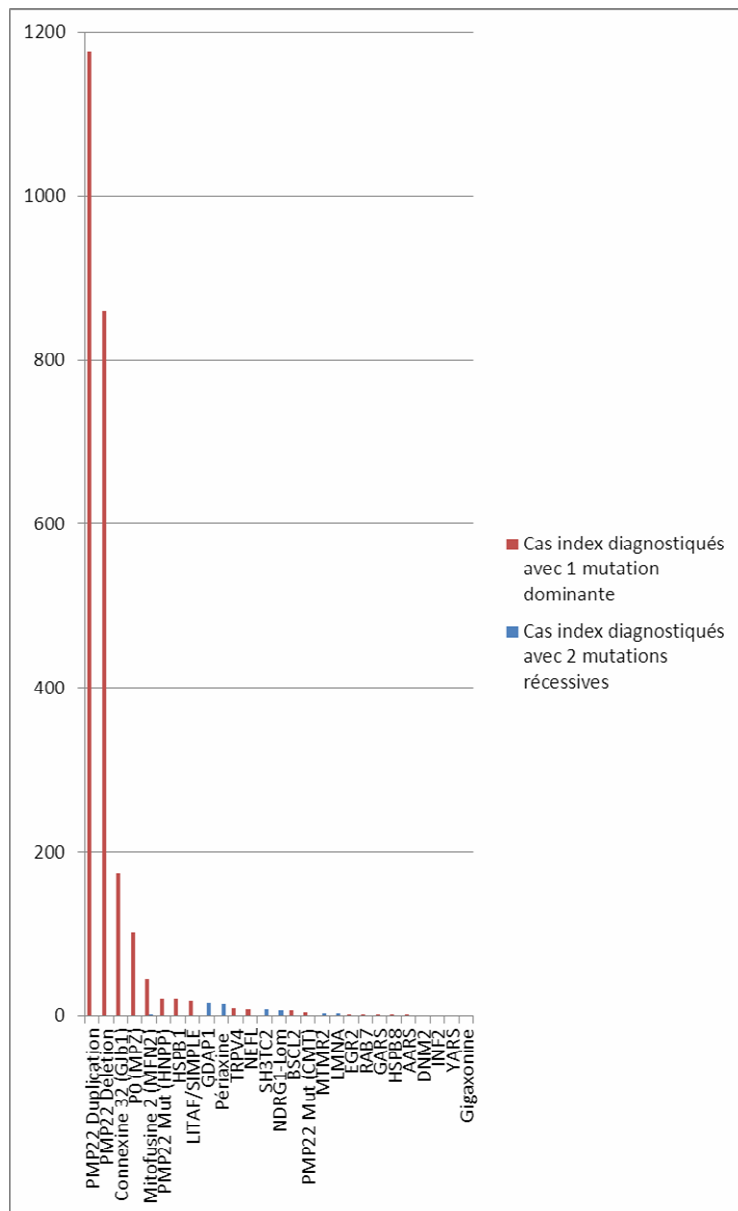
Max Coverage: 472x



- Exome avec liste de variants : devis autour de 1300-1500 euros / patient
- Duplication réactif : 10 euros (réactif)
- Séquençage Cx32+MPZ+MFN2 (réactifs) = 180 euros
- Exome (réactif) : 800 euros

2520 cas index avec diagnostic génétique établi

(Lyon 1994-2013) Tous phénotypes : CMT – HMN - HNPP



Gène ou mutation testés	Cas index diagnostiqués avec 1 mutation dominante	Cas index diagnostiqués avec 2 mutations récessives	Total cas index positifs	Nombre de fragments séquencés (codant)	Maintien dans la stratégie 'Sanger'	Evolution vers NGS
PMP22 Duplication	1176		1176	0	●	
PMP22 Déletion	860		860	0	●	
Connexine 32 (Gjb1)	174		174	2	●	
PO (MPZ)	102		102	6	●	
Mitofusine 2 (MFN2)	46	2	48	14	●	
PMP22 Mut (HNPP)	22		22	5	●	
HSPB1	21		21	3	●	
LITAF/SIMPLE	19		19	3	●	
GDAP1		17	17	6	●	
Périaxine		16	16	14	● G	
TRPV4	9		9	13	●	
NEFL	8		8	6	●	
SH3TC2		8	8	20	● G	
NDRG1-Lom		7	7	1	● GC	
BSCL2	7		7	1	● C	
PMP22 Mut (CMT)	5		5	5	●	
MTMR2		3	3	15	●	
LMNA		3	3	1	● GC	
EGR2	2		2	5	(●)	
RAB7	2		2	5	● C	
GARS	2		2	17		●
HSPB8	2		2	3	(●)	
AARS	2		2	22		●
DNM2	1		1	2	● C	
INF2	1		1	2	● C	
YARS	1		1	13		●
Gigaxonine		1	1	11		●
SEPT9	1		1	2	● C	
DCTN1	0		0	1		●
HINT1	0		0	3	●	
FIG4	0		0	21		●
PLEKHG5	0		0	23		●
HSPB3	0		0	1	●	
Total	2463	57	2520			

Quelle démarche diagnostic ?

1.Efficacité de la démarche actuelle

2.Coût de la démarche

3.Validation de l'utilisation du seuil de 38 m/s

4.Gestion des cas sporadiques

5.Sélection des dossiers pour NGS

6.Evolution vers un diagnostic par séquençage nouvelle génération

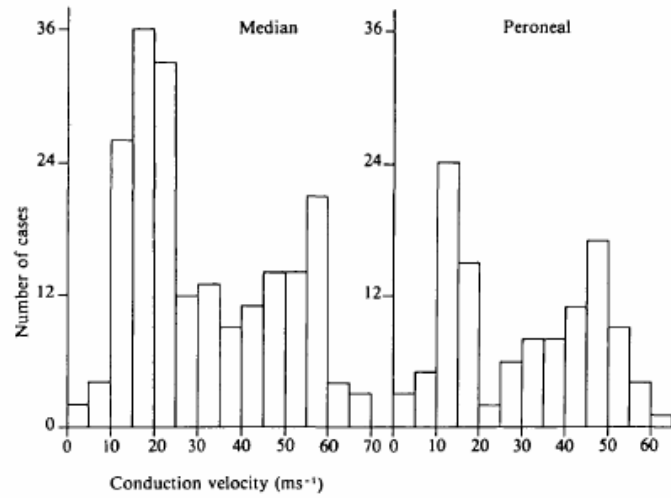


FIG. 1. Frequency distribution of motor conduction velocity in median and peroneal nerves in cases of hereditary motor and sensory neuropathy.

A. E. HARDING and P. K. THOMAS *Brain* (1980), 103, 259-280

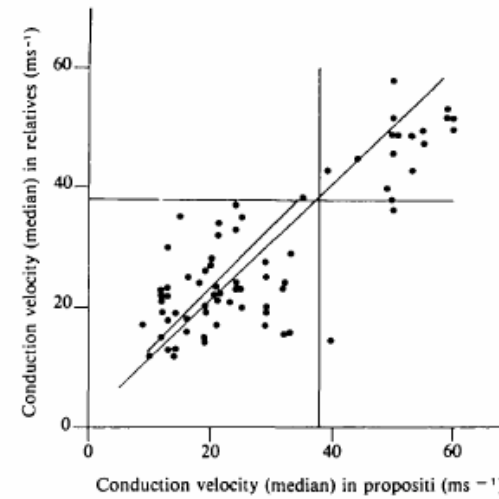
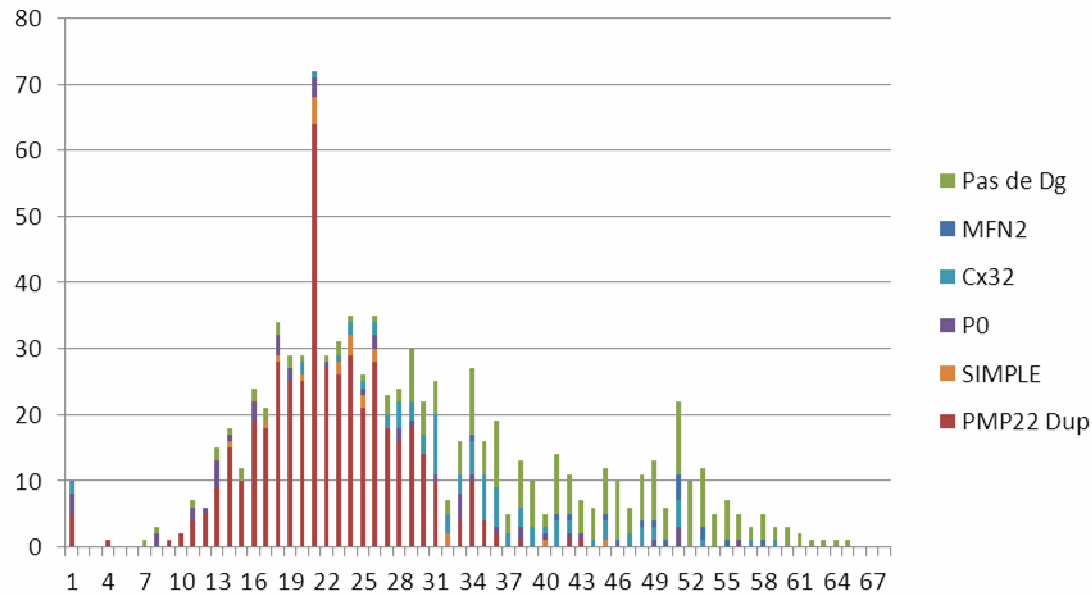
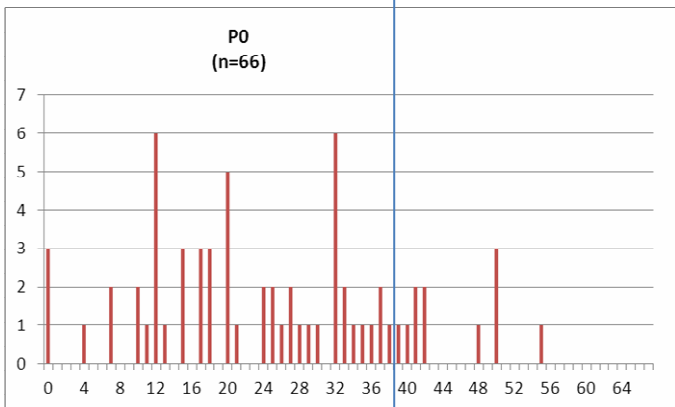
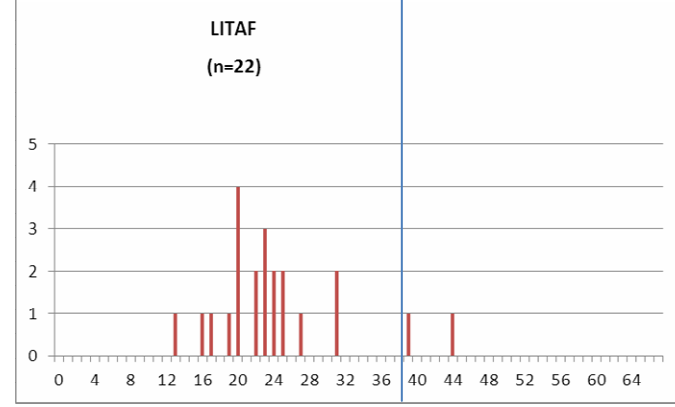
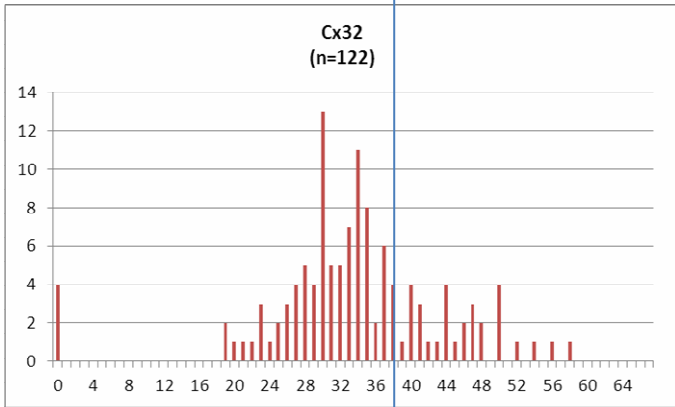
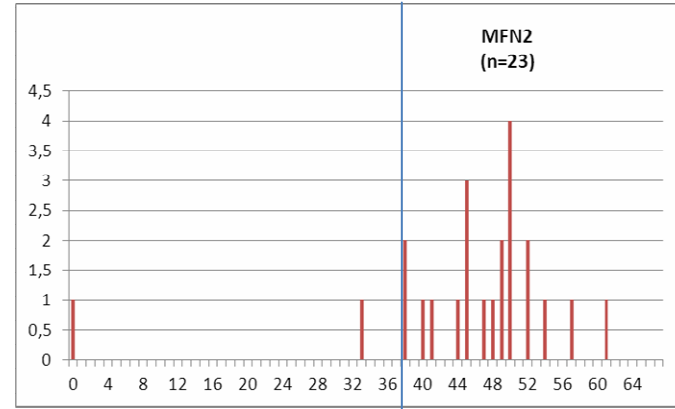
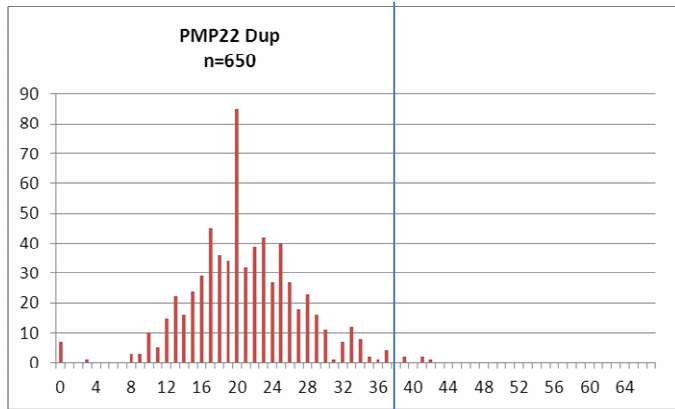


FIG. 2. Relationship between motor conduction velocity in median nerve for propositi and relatives in patients with hereditary motor and sensory neuropathy

A. E. HARDING and P. K. THOMAS *Brain* (1980), 103, 259-280

CMT - Formes dominantes 860 cas index avec VCNM (Lyon 1994-2013)



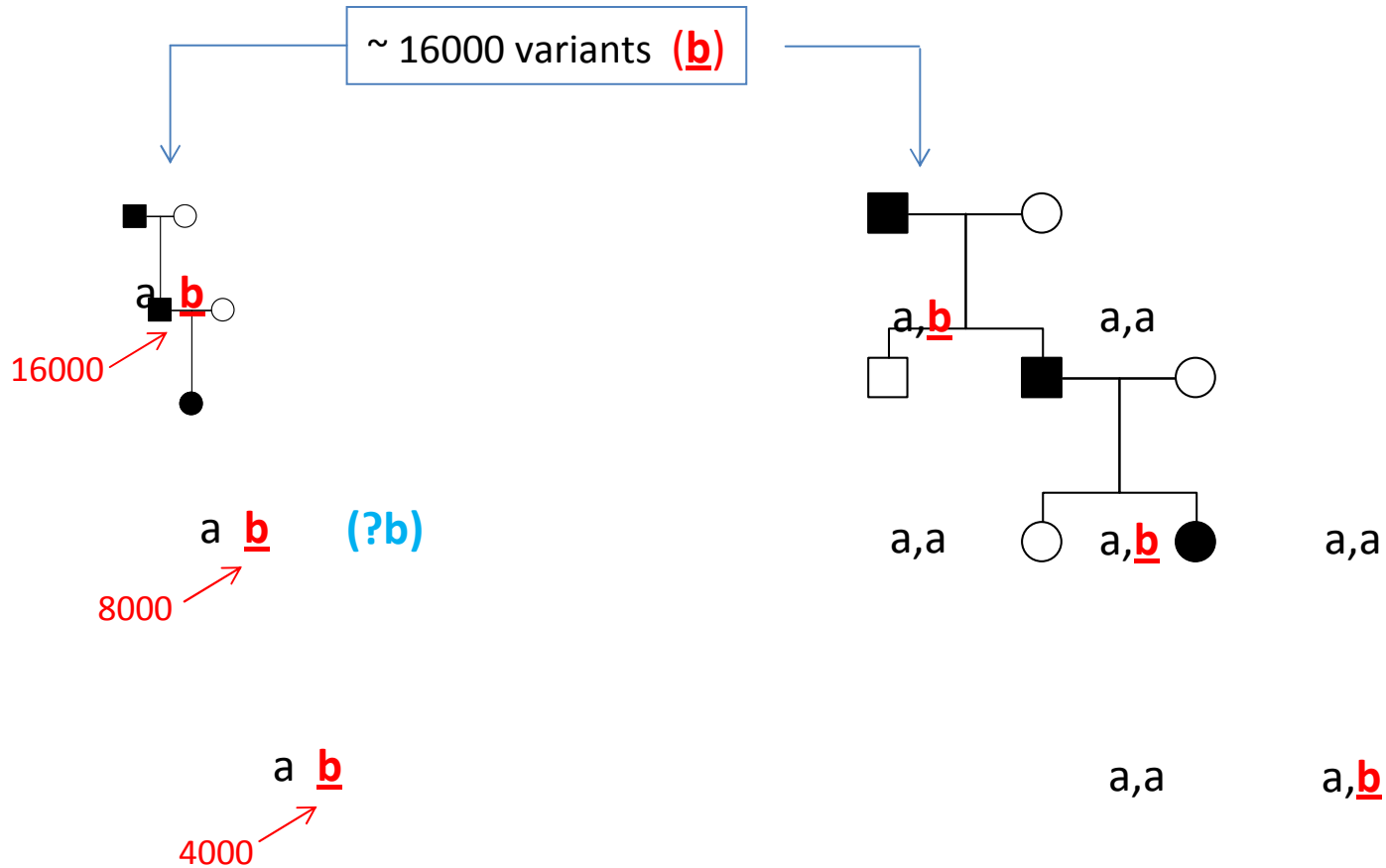


Distributions des VC motrices (MSup)
par rapport à la valeur de 38 m/s
pour les 5 protéines les plus souvent mutées

Quelle démarche diagnostic ?

1. Efficacité de la démarche actuelle
2. Coût de la démarche
3. Validation de l'utilisation du seuil de 38 m/s
- 4. Gestion des cas sporadiques**
5. Sélection des dossiers pour NGS
6. Evolution vers un diagnostic par séquençage nouvelle génération

Exome et maladies dominantes



Exemple d'une famille avec
7 personnes prélevées, 5 examinées
Rapport de vraisemblances :
hasard / non hasard = 1 : 8
(soit ~2000 variants)

(Lod score : 0,90)

CMT - Cas sporadiques

Exemples de 7 dossiers avril 2014 (duplication CMT1A négative)

Age au Pvt	Sexe	Origine	Csg	Famille	Clinique + EMG	VC Nerf Moteur Msup	Signes +	Elements 'contre'	Gènes Sanger	Suivi / Classé	(NGS)
7	M	Turc	Oui	SA/2 2P/BS	SM	45			GDAP1 (MFN2) (LMNA)	Suivi	Oui (?)
48	M			?SA/8 P? 2E/BS	CMT (axonal?) Pieds très creux	50			(Cx32) P0	Classé	Non
46	F			SA/1 2P/BS 0 Enf	CMT2 sans EMG			Retard mental Nystagmus 'pendulaire' (non syndromiques)	Cx32 P0	Classé	Non
60	F			SA/3 2E/BS		36	Tremblement ROT(-)	DNID + PR	Cx32 MFN2 P0	Classé	?
17	M			SA/3 2P/BS	dHMN>CMT Pieds creux (Minf)		Neuropathie récurrente optique		HSPB1 (HSPB8) (HSPB3)	Classé	?
56	M			Sans Indication	CMT1 dominant Pauci symptomatique	25			Cx32 P0	Classé	Non
58	F	Maroc	Non	5E/BS P(SI)	Début 16a Déambulateur 46a	13			P0 EGR2 (NEFL) (SIMPLE) Gène CMT1-AR	Suivi	Oui (?)

Gestion des cas sporadiques (CMT)

1. Recherche duplication CMT1A

2. Analyses complémentaires limitées (séquençage Sanger), au cas par cas, en tenant compte de :

- Âge et durée d'évolution, (sexe).
- Liste limitative de gènes fréquents :
PMP22, P0, Cx32, MFN2, GDAP1, HSPB1,
- Liste limitative de mutations récurrentes et fréquentes :
NDRG1, PRX, BSCL2, SH3TC2, TRPV4

3. NGS ? > Ré-évaluation (adresser en conseil génétique ?)

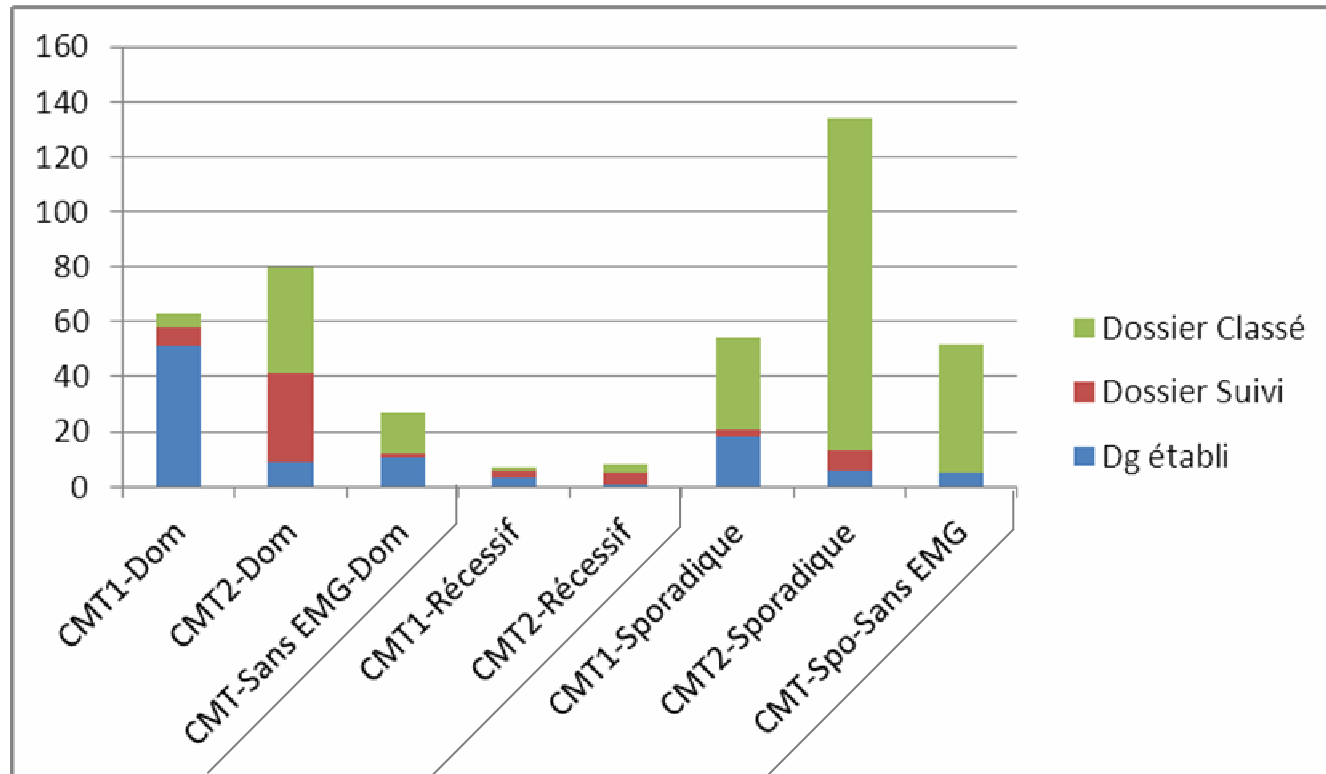
- **Éléments cliniques 'contre' (à préciser) (besoin de critères d'exclusion)**
- Possibilités d'étude familiale (examens+prélèvements envisageables)
- Reconsidération si cas familiaux avérés (et examinés ?)

Quelle démarche diagnostic ?

1. Efficacité de la démarche actuelle
2. Coût de la démarche
3. Validation de l'utilisation du seuil de 38 m/s
4. Gestion des cas sporadiques
- 5. Sélection des dossiers pour NGS**
6. Evolution vers un diagnostic par séquençage nouvelle génération

Où en est le diagnostic CMT ?

425 dossiers de CMT (cas index) – [2012-2013]



Diagnostic génétique établi : 104

Analyses négatives et dossier Suivi : **57 (candidats NGS)**

Analyses négatives et dossier classé : 264

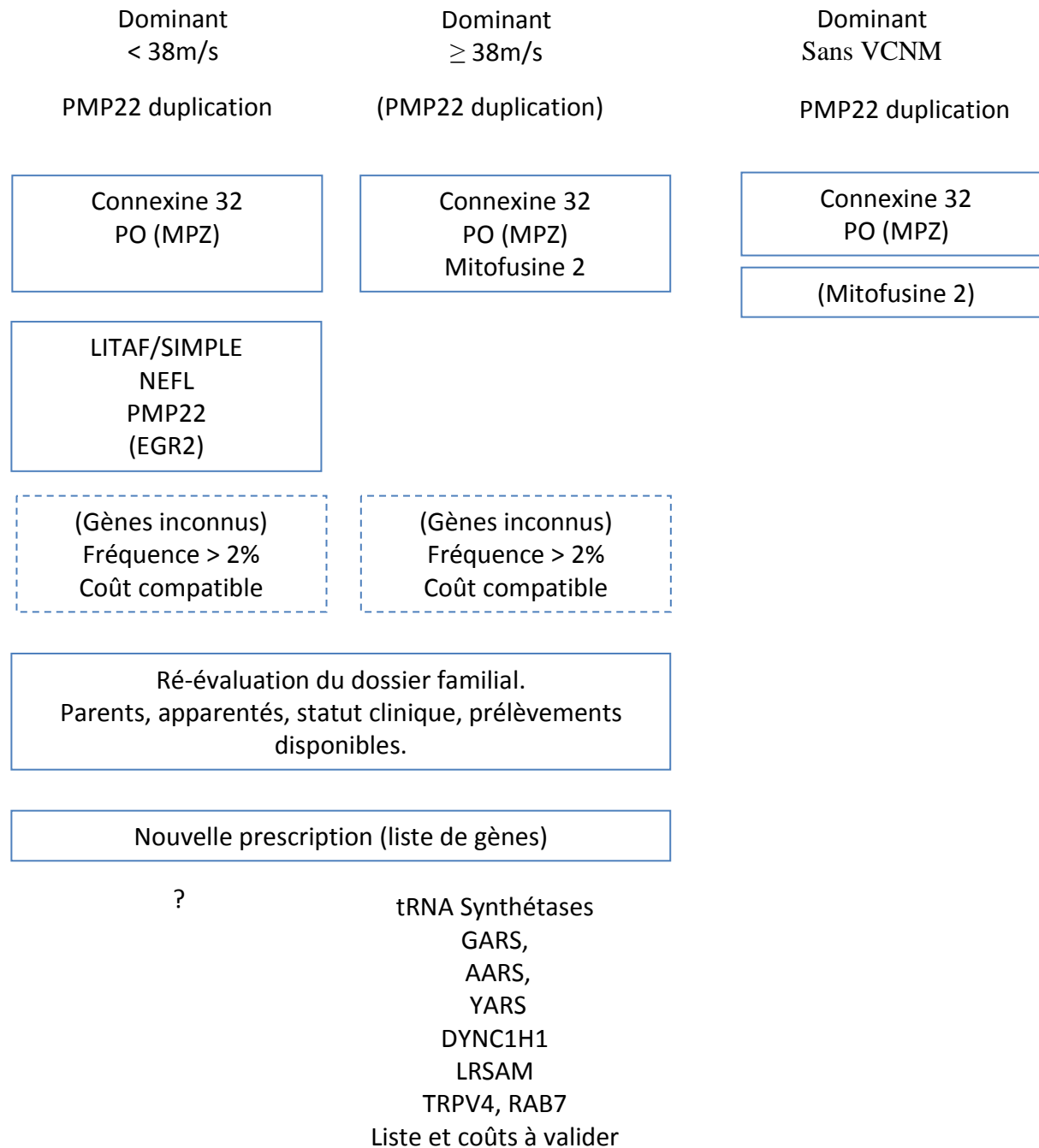
Quelle démarche diagnostic ?

1. Efficacité de la démarche actuelle
2. Coût de la démarche
3. Validation de l'utilisation du seuil de 38 m/s
4. Gestion des cas sporadiques
5. Sélection des dossiers pour NGS
6. **Evolution vers un diagnostic avec séquençage nouvelle génération**

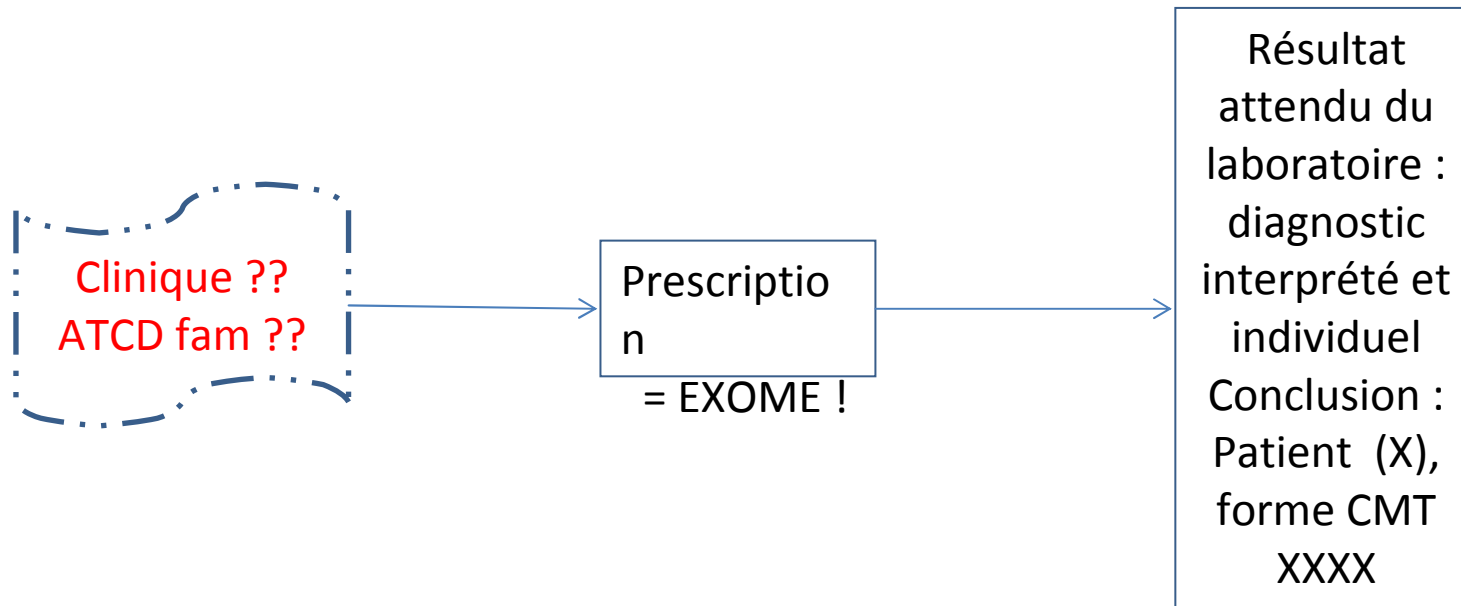
Mise à jour des arbres décisionnels méthode de Sanger

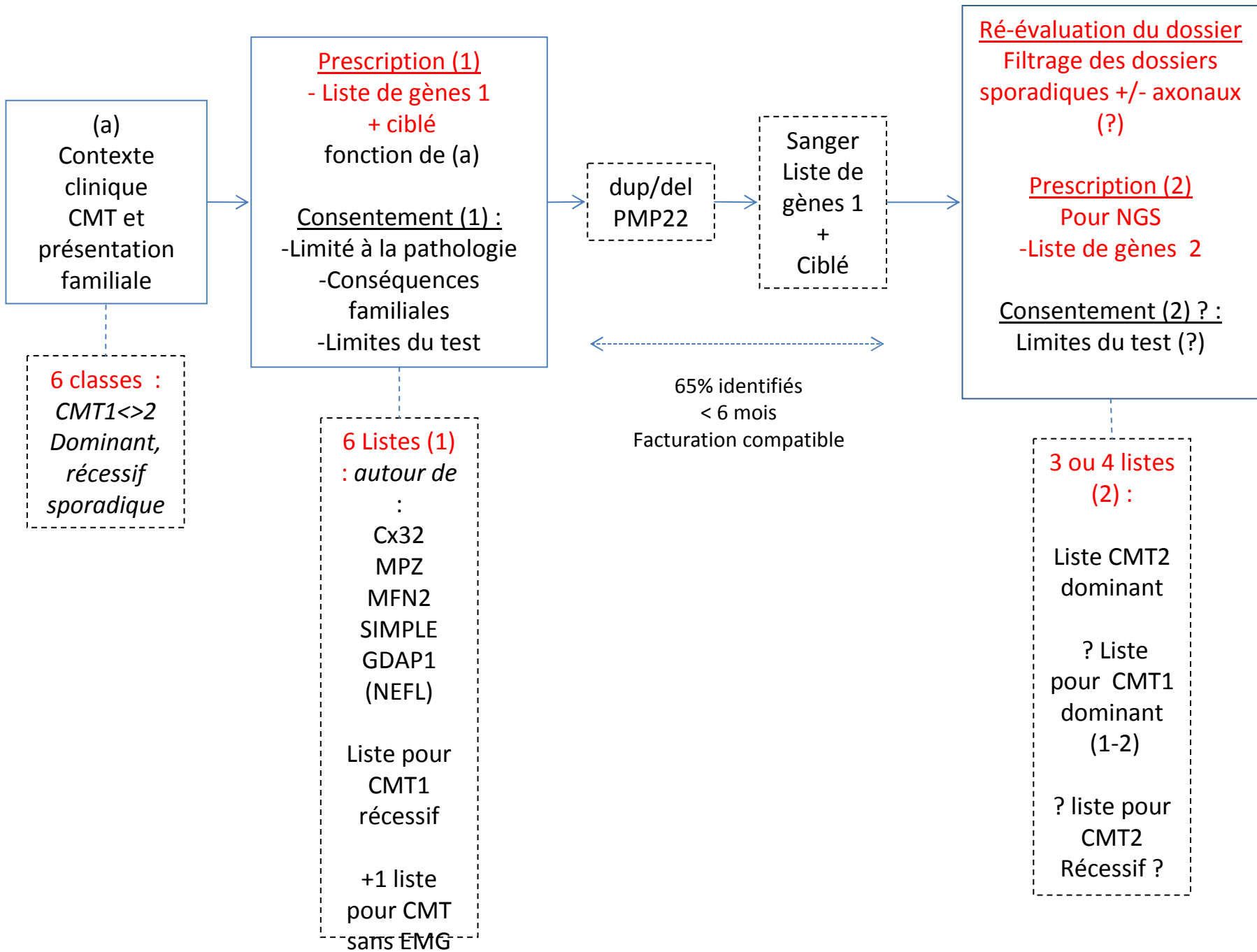
		Diagnostic neurologique (1)	HNPP (clinique)		HMSN (clinique)						HMN (Clinique+ENMG)								
		Diagnostic neurologique (2)			HMSN1 (<38m/s)			HMSN2 (≥38m/s)			HMSN sans VCNM médian			dHMN Minf		dHMN MSUp		SPSMA / arthrogryposes	
		Présentation familiale	familial	sporadique	dominant	récessif	sporadique	dominant	récessif	sporadique	dominant	récessif	sporadique	familial	sporadique	familial	sporadique	familial	sporadique
MLPA+/-	135 €	PMP22 Duplication / Délétion	•	•	•		•	(•)		(•)	•		•						
Sanger		Connexine 32 (Gjb1)			•		•	•		•	•		•						
Sanger		PO (MPZ)	(•)		•		•	•		•	•		•						
Sanger		Mitofusine 2 (MFN2)						•	•	•									
Sanger		PMP22 Mut (HNPP ou CMT)	•		•		•												
Sanger		LITAF/SIMPLE			•		•												
Sanger		NEFL			•		•												
Sanger		EGR2			(•)		(•)												
Sanger		HSPB1												•	•				
Sanger		HSPB8												(•)	(•)				
Sanger		HSPB3												(•)	(•)				
Sanger		TRPV4												•	•			•	•
Sanger		BSCL2														• (C)	• (C)		
Sanger		GDAP1							•	•									
Sanger		SH3TC2					• (G)			• (G)									
Sanger		Périaxine					• (G)			• (G)									
Sanger		NDRG1-Lom					• (G)			• (G)									
Sanger		MTMR2																	
Sanger		LMNA							• (G)										
Sanger		DNM2			• (C)		• (C)	• (C)					• (C)						
Sanger		INF2			• (C)		• (C)												
NGS	1 500 €		Non	Non	Oui	Oui	?	Oui	Oui	?				?				?	
					10% des cas	65% des cas		70%	65% des cas										
					5 / an	5 / an		20 / an	5 / an										

Arbre en cours....



Arbre en cours...





http://biobook.chu.lyon.fr

The screenshot shows the Easily BioBook 2012 interface in Microsoft Internet Explorer. The search bar contains 'cmt' and the results show 25 items. The table below lists the search results:

Libellé	Laboratoire	Synonymes	Nature de prélèvement
Charcot-Marie-Tooth - Cas...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	CMT	Sang veineux
Charcot-Marie-Tooth - CMT1A ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Peripheral Myelin Protein 22	Sang veineux
Charcot-Marie-Tooth - CMT1B ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	MPZ (P0); Myelin Protein Zero	Sang vein
Charcot-Marie-Tooth - CMT1C ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	SIMPLE / LITAF	Sang vein
Charcot-Marie-Tooth - CMT1D ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Early Growth Response 2	Sang vein
Charcot-Marie-Tooth - CMT2A2...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Mitofusine 2	Sang vein
Charcot-Marie-Tooth - CMT2B ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	RAB7	Sang vein
Charcot-Marie-Tooth - CMT2C ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	TRPV4	Sang vein
Charcot-Marie-Tooth - CMT2D ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Glycyl-tRNA Aminoacyl-Transferase	Sang vein
Charcot-Marie-Tooth - CMT2E ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Neurofilament Light	Sang vein
Charcot-Marie-Tooth - CMT2F ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Heat Shock Protein 27 kDa	Sang vein

The interface also shows the 'Hôpitaux Est' logo and navigation buttons like 'Recherche avancée' and 'Nouvelle recherche'.

The screenshot shows the Easily BioBook 2012 interface in Microsoft Internet Explorer. The search bar contains 'HMN' and the results show 7 items. The table below lists the search results:

Libellé	Laboratoire	Synonymes	Nature de prélèvement
Charcot-Marie-Tooth - HMN2A ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Heat Shock Protein 27 kDa	Sang veineux
Charcot-Marie-Tooth - HMN2B ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Heat Shock Protein 22 kDa	Sang veineux
Charcot-Marie-Tooth - HMN2C ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Heat Shock Protein	Sang veineux
Charcot-Marie-Tooth - HMN4 ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	PLEKHG5	Sang veineux
Charcot-Marie-Tooth - HMN5A ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Sépine	Sang veineux
Charcot-Marie-Tooth - HMN5A ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Glycyl-tRNA Aminoacyl-Transferase	Sang veineux
Charcot-Marie-Tooth - HMN7B ...	CBPE - BIOCH BIOLOGIE MOLEC	Dynactine 1	Sang veineux

The interface also shows the 'Hôpitaux Est' logo and navigation buttons like 'Recherche avancée' and 'Nouvelle recherche'.

Examen recherché :

-CMT

-HMN

-Nom du gène

Facility BioBank 2012 - Microsoft Internet Explorer fourni par les FCS

http://easily.bioeasy.fr/medecins/les-cent/

Facility BioBank 2012

easily
 Perspectives Centre de France
 Version : 1.0.0

Examen recherché : cent


Recherche avancée >>> | Réviser les préférences | Nouvelle recherche

25 résultat(s) de la recherche

CBPE - BIOPH BIOLOGIE MOLEC... | 25 - NEUROLOGIE MOLECULE - [24427] | 04 72 12 16 32 (12 16 32)

Charcot-Marie-Tooth - Cas Index - Stratégie générale

CM1

Pré Analytique		Analytique	Informations complémentaires
<p>1 Conditionnement</p>  <p>TUBE 8074 43 PET MAUVE 12075 VIDE 4PL, Ref 80 268270 / HDL 220430</p> <p>Nature du prélèvement : Sang veineux Qnt optimale à prélever : 4 ml</p> <p>Conditions de prélèvement</p> <p>Prélever de préférence en début de semaine. Conserver à +4°C, si le prélèvement ne peut pas être acheminé dans les 12 heures. Sujet possible du prélèvement en cas de non respect des modalités pratiques (voir le document pdf). Rappel des éléments obligatoires : consentement, prescription rigoureuse, identification précise du prescripteur et du patient.</p>	<p>Acheminement</p> <p>Délai max. d'acheminement : 3 jours</p> <p>Conditions de transport :</p> <p>Température : T. AMBIANTE</p>	<p>Prescriptible en urgence : Non</p> <p>Délai moyen de réalisation : > 4 semaines</p> <p>Principe de méthode : Détection d'acides nucléiques</p> <p>Méthode : Séquençage (Sanger) Détection de mutations au NGS : microsatellites, MLPA, PCR quantitative - Voir fiche jointe pour la stratégie, les gènes impliqués et la facturation</p> <p>Code UDIENC :</p> <p>Conditionnement par le laboratoire</p>	<p>Sécurité classeur :</p> <p>Documents téléchargeables :</p> <ul style="list-style-type: none"> CM1 Gènes étudiés - Indications d'étude - Colation CM1 Modalités pratiques à respecter - mai 2012 CM1 Arbre décisionnel national - mai 2011 <p>Fiche de demande : CM1 UPDES CARDIOLOGUE NEUROLOGUE REF 807513</p> <p>Catégorie Nomenclature (à titre indicatif) :</p> <p>Contact : Laitur P</p> <p>Ajouter aux favoris</p>

Hôpital Est

demarrer | 04/02/2012 | 04/02/2012 | Facility BioBank 2012



Hospices de Lyon

Laboratoire de Neurogénétique Moléculaire
Centre de Biologie Est

59 Boulevard Pinel - 69677 BRON Cedex

Philippe LATOUR Tél : 04.72.12.96.89 – philippe.latour@chu-lyon.fr

Muriel BOST Tél : 04.72.12.96.90 – muriel.bost@chu-lyon.fr

Secrétariat : Tél : 04.72.12.96.32 Secrétariat Fax : 04.72.12.97.20

FICHE DES MODALITES POUR UNE ETUDE GENETIQUE

Article 16-11 du Code civil et articles L 1131-1 et L 1131-3 DU Code de la Santé Publique, modifiés selon la Loi de Bioéthique n° 2004-800 du 6 août 2004.

Décret n° 2013-527 du 20 juin 2013 relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale.

1) Prescription (ordonnance) signée avec :

- Nom, prénom, adresse postale détaillée et n° de téléphone du médecin prescripteur.
- Nom de famille, nom de jeune fille, prénom, sexe, date de naissance de la personne à qui l'analyse est prescrite.
- Analyses demandées ou pathologie concernée.

2) Joindre obligatoirement le consentement légal pour analyses génétiques.

- Un modèle Hospices Civils de Lyon est téléchargeable à partir du catalogue Biobook.
- Un modèle spécial est à utiliser pour la chorée de Huntington.
- Contacter impérativement Mme BOST avant tout diagnostic pré-symptomatique de chorée de Huntington.

Le prélèvement ne sera pas traité en cas d'absence des éléments ci-dessus.

3) Conditions de prélèvement :

- Prélever 2 tubes de sang total sur EDTA (2 tubes de 5 ml ou de 7ml).
- Conserver les tubes à température ambiante ou à +4°C dans l'attente de l'envoi.
- Ne pas congeler. Ne pas centrifuger.
- Envoyer à l'adresse ci-dessus à température ambiante (poste ou transporteur).
- Un délai d'acheminement inférieur à 3 jours est préconisé.
- Aucun tube non étiqueté ne sera traité. Noter la date et les initiales du préleveur.

4) Le prélèvement sanguin devra être accompagné d'un courrier médical précisant les signes neurologiques, et des renseignements suivants :

- Un arbre généalogique ou contexte familial.
- Signes extra neurologiques : pour la dystrophie myotonique de Steinert et PROMM, et pour l'ataxie de Friedreich.
- Résultats d'électromyogramme ou VCNM (maladie de Charcot Marie Tooth).

5) Renseignements pour la facturation :

- Patient hospitalisé (ou consultant) hors Hospices Civils de Lyon : joindre un bon de commande ou une prise en charge des services économiques de l'établissement hospitalier.
- Patient suivi en ville et prélevé par un laboratoire privé : la facturation est adressée directement au laboratoire qui se charge de recouvrer le règlement du patient. L'analyse ne sera pas effectuée en cas d'absence des coordonnées du laboratoire préleveur.

6) Pour les patients Hospices Civils de Lyon, remplir et joindre la fiche de demande:

- Modèle : Biochimie Spécialisée - CPBE Neurobiologie, référence HCL 607519.

Version mars 2014

HOSPICES CIVILS DE LYON



Hôpitaux de Lyon

CONSENTEMENT EN VUE D'UN EXAMEN A FINALITE MEDICALE DES CARACTERISTIQUES GENETIQUES CHEZ UNE PERSONNE

Article 16-11 du Code civil et articles L. 1131-1 et L. 1131-3 DU Code de la Santé Publique, modifiés selon la Loi de Bioéthique n° 2004-800 du 6 août 2004.

Décret n° 2013-527 du 20 juin 2013 relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à finalité médicale.

Je/ nous soussigné(e/s).....

- personne majeure
- parent(s) ou tuteur(s)/curateur(s) de : Nom.....

Prénom.....
Né(e) le.....

Reconnais(sons) avoir été informé(e/s) par le Docteur
ou....., conseiller(e) en génétique (sous la responsabilité du Dr)

- de la finalité, des limites et du degré de fiabilité du test génétique proposé
- des conséquences familiales du résultat de cet examen.

J'ai / nous avons également été informé(e/s) qu'en cas d'identification d'une anomalie génétique
 chez moi-même chez mon/notre enfant chez la personne susnommée,

Je serai / nous serons tenus d'informer les membres de ma/notre famille qui ont un risque d'être porteurs de cette anomalie et de la transmettre à leur descendance et qui pourraient bénéficier d'une prévention et/ou d'une prise en charge. J'ai / nous avons été informé (e/s) des conséquences d'un éventuel refus de transmettre cette information. Cette information pourra, si je refuse / nous refusons de la transmettre moi / nous-même, être transmise par le médecin prescripteur dans les conditions fixés par la loi.

Cette analyse concerne le diagnostic de.....

Elle se fera par des praticiens agréés dans un laboratoire agréé à cet effet. Les résultats de cette analyse me/nous seront transmis et expliqués par le médecin qui me l'a prescrite.

J'autorise / nous autorisons la conservation d'ADN, de lymphocytes ou de fibroblastes dans une bibliothèque, à des fins

- médicales diagnostiques
- de recherche, de manière anonyme

On m'a/nous a expliqué que ces analyses peuvent révéler d'autres affections que celles recherchées. Si je/nous le souhaite/souhaitons, ces informations me/nous seront transmises si elles comportent un bénéfice direct en l'état actuel de nos connaissances, c'est-à-dire si elles apportent une possibilité de prévention et/ou de traitement.

Je/nous souhaite/souhaitons en être informé(e/s) je/nous ne souhaitons pas en être informés

Fait à..... Le.....Signature

ATTESTATION DE CONSULTATION DE GENETIQUE

Je soussigné(e), Docteur ou....., conseiller(e) en génétique (sous la responsabilité du Dr)

Atteste avoir apporté à la / aux personne(s) sus-nommée(s) les informations nécessaires à la compréhension de la nature et de la finalité de l'analyse, conformément aux articles R. 145-15-4 et R. 145-15-5 du code de la Santé Publique et aux conséquences familiales éventuelles de cette étude, conformément au décret n° 2013-527 du 20 juin 2013.

Fait à..... Le.....Signature
et tampon du prescripteur