

**Titre complet de recherche :**  
**Identification des facteurs génétiques de susceptibilité au syndrome d'Asperger**

**Direction du Projet :** Pr Thierry Bienvenu, Genetics, Pathophysiology and Pharmacological Approaches of Mental Spectrum Disorders, Institut Cochin, Inserm U1016, 24 rue du Faubourg Saint Jacques, 75014 Paris, France

L'autisme est un trouble du développement dont le diagnostic est basé sur l'observation de perturbations qualitatives dans les domaines des interactions sociales réciproques et de la communication et sur celle du caractère restreint, répétitif des comportements, des intérêts et des activités (Classification Internationale des Maladies, CIM10). Le diagnostic de l'autisme est actuellement clinique. Il n'existe aucun marqueur biologique et aucun test diagnostique connus à ce jour.

Une variation clinique porte le nom de syndrome d'Asperger décrit par Lorna Wing en se fondant sur les premières observations cliniques de Hans Asperger datant de 1944. Il s'agit d'un trouble de la personnalité (avec des troubles de la communication, troubles des interactions sociales réciproques, troubles du comportement, troubles sensoriels, troubles de la prosodie, et troubles de la pragmatique) caractérisé par une quasi-absence de retard de langage et par un développement cognitif normal (Wing, Psychol Med 1981). Dans le manuel DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder), ce syndrome était individualisé, mais dans la nouvelle version DSM-V, ce syndrome a été inclus dans la section des troubles du spectre autistique. Les études épidémiologiques sont peu nombreuses et estiment l'incidence à environ 2,6 enfants pour 10,000 (Fombonne et Tidmarsh, 2003 ; Fombonne 2005) avec un excès de garçons.

Les bases physiopathologiques de ce syndrome sont encore mal connues. L'observation de formes familiales a suggéré l'implication de facteurs génétiques dans la survenue de cette affection (Vollkmar et Klin, 1995 ; Ghaziuddin, 2005). De rares études de liaison génétique entre la survenue de l'affection et des marqueurs polymorphes génétiques ont mis en évidence l'existence de loci de prédisposition sur les chromosomes 1, 3, 13 et 17 (Ylisaukko-Oja et al. 2004 ; Stone et al. 2004). Par ailleurs, l'identification de translocations chromosomiques chez quelques rares patients a suggéré l'existence de gènes impliqués sur le bras court du chromosome 17 (Anneren et al. 1995 ; Tentler et al. 2003). Toutefois, à ce jour, les gènes de ces régions chromosomiques susceptibles d'être impliqués dans la survenue de ce syndrome sont méconnus.

Le développement récent des techniques d'hybridation génomique comparative (CGH array) et des technologies de séquençage nouvelle génération (NGS) permettant de séquencer l'ensemble des régions codantes des gènes (exome) et la totalité du génome (whole genome) nous assure la possibilité de détecter des remaniements moléculaires de petite et de grande taille. De nombreux travaux de séquençage ont été ainsi initiés au cours de ces dernières années identifiant de nouveaux gènes impliqués dans les autismes. Toutefois, dans ces travaux, les critères d'inclusion sont larges et des individus autistes avec ou sans retard de langage, avec ou sans déficit cognitif, garçons ou filles, sont ainsi inclus. Ainsi, le nombre de cas de syndrome d'Asperger résolus sur un plan génétique est

limité et est de l'ordre de quelques dizaines (Sebat et al. 2007 ; Sato et al. 2012 ; Warrier et al. 2013 ; Boccuto et al. 2013 ; Wisniewiecka-Kowainik et al. 2013 ; Pinto et al. 2014 ; Durdiakova et al. 2014). Les quelques rares gènes impliqués se nomment *SHANK3*, *CYFIP1*, *SHANK1*, *GABRB3* et *NRXN1*. Ces gènes codent essentiellement pour les protéines impliquées dans le fonctionnement de la synapse.

Notre projet, compte tenu de l'hétérogénéité phénotypique de l'affection et de l'hétérogénéité génétique de ces affections, est de nous focaliser sur le syndrome d'Asperger et d'inclure dans notre projet que les individus autistes ne présentant ni retard de langage ni déficit cognitif (critères DSM-IV). L'objectif est ainsi d'avoir une cohorte de patients homogène. Nous porterons par ailleurs une attention plus particulière aux formes familiales, c'est-à-dire aux familles dans lesquelles plusieurs individus du 1<sup>er</sup>, 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> degré sont affectés par des troubles du comportement, même si tous les individus ne sont pas diagnostiqués de façon fiable comme atteints de syndrome d'Asperger (âge, genre,..).

La participation à l'étude ne comporte qu'un prélèvement de sang (10ml sur EDTA) effectué pour extraire de l'ADN, afin de rechercher dans un premier temps un syndrome de X fragile (amplification de triplets CGG dans le gène *FMR1*) (recommandations de la haute autorité de santé, [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/recommandations\\_autisme.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/recommandations_autisme.pdf)). Cet examen de génétique standard, systématiquement effectué dans le cadre du diagnostic de cette affection, est réalisé, en pratique courante, dans le service de Biochimie et Génétique Moléculaire du Pr Thierry Bienvenu, situé à l'hôpital Cochin à Paris (Bâtiment Jean Dausset, Hôpital Cochin, 27 rue du Faubourg Saint Jacques, 75014 Paris). Le reste de l'échantillon d'ADN ayant servi aux examens de cette étude est ensuite stocké à -20°C, dans ce service, pour des compléments d'analyses génétiques.

Dans le cadre de la recherche, nous souhaiterions pouvoir utiliser la partie de l'ADN restante pour des travaux de recherche qui ont pour but de mieux connaître les bases moléculaires de ce syndrome et d'identifier les facteurs génétiques qui en favorisent la survenue. Ces recherches comportent l'analyse de caractéristiques génétiques en rapport avec la survenue de ce syndrome.

Les analyses seront réalisées en deux temps : 1- une analyse d'un panel de gènes ciblés préalablement impliqués dans l'autisme (NGS-ciblé), puis 2- une analyse de la totalité des régions codantes des gènes (~30,000 gènes).

Dans le cas des formes sporadiques ou isolées, l'hypothèse d'une mutation *de novo* est privilégiée. Dans cette situation, l'étude nécessite d'étudier systématiquement l'individu atteint et ses deux parents, afin de pouvoir identifier les mutations présentes chez le sujet atteint et absentes chez les parents sains. L'analyse des parents est en effet nécessaire pour réduire le nombre des mutations identifiées (quelques milliers à quelques dizaines de milliers) à celles uniquement présente chez l'individu affecté. En moyenne, 2 à 10 mutations *de novo* sont observées chez chaque individu. L'objectif de ce travail est de montrer un excès de mutations *de novo* dans certains gènes, notamment des gènes codant pour des protéines impliquées dans la formation et/ou le fonctionnement des synapses. L'utilisation d'outils bioinformatiques puissants nous permet à ce

jour d'accéder à ces résultats. La preuve de l'implication des gènes est ensuite obtenue par des analyses *in vitro* étudiant les conséquences fonctionnelles des mutations identifiées dans différents modèles cellulaires murins ou humains. Ces analyses sont beaucoup plus longues et coûteuses et nécessiteront des investissements financiers spécifiques.