



UNIVERSITE DE LILLE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG
2020

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Etude génétique par séquençage haut-débit d'une cohorte française
de jeunes patients atteints de glaucome congénital.**

Présentée et soutenue publiquement le Lundi 12 octobre à 16 heures
Au Pôle Recherche

Par Margaux RAMSKI

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Jean-François ROULAND

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Pierre LABALETTE

Madame le Docteur Céline TON VAN

Directrice de Thèse :

Madame le Docteur Claire Marie DHAENENS

AVERTISSEMENT

« La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs. »

Table des matières

Liste des abréviations	1
Résumé	2
INTRODUCTION	5
I. Zoom sur le Glaucome Congénital Primitif Isolé	7
A. Définition	7
1. Terminologie et Classification	7
2. Epidémiologie :	9
3. Génétique du GCPI : état des lieux en 2020	10
B. Physiopathogénie	14
1. L'Embryologie pour comprendre	14
2. Physiopathologie des DSA	22
3. Pathogénie propre du GCPI	24
C. Diagnostic du Glaucome Congénital Primitif isolé	25
1. Circonstances de découverte	25
2. Les signes cliniques	26
3. Examen au bloc opératoire	28
4. Diagnostics Différentiels	31
D. Traitement des GCP	32
1. Traitement chirurgical	32
2. Traitement médical	35
3. Autres aspects thérapeutiques	35
II. Spectre des DSA : phénotype et gènes connus	37
A. Irido-Trabéculodysgénésies	37
1. L'Aniridie	37
2. L'ectropion congénital de l'uvée	39
3. Syndrome d'Axenfeld-Rieger	39
B. Cornéo-Irido-Trabéculodysgénésies	43
1. Sclérocornée (Cornéo-Trabéculodysgénésie)	43
2. Syndrome de Peters (Cornéo-Irido-Trabéculodysgénésie)	44
C. Glaucomes congénitaux secondaires	46
1. Les glaucomes hérités	46
2. Les glaucomes secondaires à des pathologies acquises	50
III. L'étude génétique des glaucomes	51

A.	Brefs rappels fondamentaux de génétique	52
1.	Les modes de transmission des maladies mendéliennes	52
2.	L'avènement du séquençage génétique	57
B.	Etat des lieux en France et en Europe	59
C.	Enjeux et objectifs de notre étude	61
METHODE		63
I. Présentation du PHRC-N « CONGLAU »		63
A.	Plan expérimental	63
B.	Objectifs de la recherche	64
1.	Objectif principal	64
2.	Objectifs secondaires	64
C.	Critères d'inclusion et de non inclusion	65
1.	Critères d'inclusion	65
2.	Critères de non-inclusion	65
3.	Critères d'exclusion	66
4.	Durée de l'étude	66
D.	Collection biologique	66
II. Mise au point du panel Lillois		68
A.	Choix des gènes étudiés	68
B.	Choix de la technique	74
C.	Design du Panel	75
III. Réalisation technique d'une série		76
A.	Extraction de l'ADN	76
B.	Préparation de la librairie (96)	77
C.	Amplification par « Bridge PCR »	79
D.	Séquençage (98)	81
1.	Principe	81
2.	Couverture et profondeur	82
E.	Traitement Bio-informatique des données	83
F.	Etude des CNV	85
IV. Interprétation des résultats		86
RESULTATS		91
I. Population de notre étude		91
A.	Nombre de participants	91
1.	Patients du PHRC	91

2.	Autres patients	92
3.	Centres concernés par l'analyse	95
B.	Caractéristiques cliniques	97
1.	Caractéristiques générales	97
2.	Le phénotype	97
3.	La sévérité	98
4.	Résumé des patients analysés et leur phénotype	101
II.	Résultats moléculaires	106
A.	Résultats techniques	106
B.	Résultats moléculaires	107
1.	Généralités	108
2.	Groupe des cas résolus	111
3.	Groupe des cas partiellement résolus	114
4.	Groupe des cas non résolus	122
5.	Corrélation génotype-phénotype pour les cas porteurs de variants CYP1B1	127
6.	Corrélation génotype-phénotype pour les autres cas résolus	131
DISCUSSION		140
I.	Points forts	140
A.	Validité des résultats	140
B.	Nouvelles données	141
C.	Validité du panel d'essai	141
II.	Limites et discussion	142
A.	Les biais	142
1.	Biais d'information	142
2.	Biais d'analyses	144
B.	Discussion à propos des gènes « <i>border lines</i> » de notre panel	147
C.	Discussion à propos des cas partiellement et non résolus	151
III.	Evolution	153
CONCLUSION ET PERSPECTIVES		156
BIBLIOGRAPHIE		158
ANNEXES		170

Liste des abréviations

AG : Anesthésie générale

AIC : Angle irido cornéen

CHED : Dystrophie endothéliale héréditaire congénitale

DPP : Dystrophie postérieure polymorphe

DSA : Dysgénésie du segment antérieur

EGS : European Glaucoma Society

GAOJ : Glaucome juvénile à angle ouvert

GCP : Glaucome Congénital Primitif

GCPI : Glaucome congénital primitif isolé

GPAO : Glaucome primitif à angle ouvert

GS : Glaucome secondaire

GSS : Glaucome secondaire syndromique

ICE syndrome : Syndrome Irido Cornéo Endothélial

PIO : Pression intra oculaire

VSI : Variant de signification indéterminée

Résumé

« Etude génétique par séquençage haut-débit d'une cohorte française de jeunes patients atteints de glaucome congénital. »

Contexte

Le glaucome congénital primitif isolé (GCPI) est une pathologie oculaire rare mais potentiellement cécitante, survenant dans les premières semaines de vie, secondaire à une anomalie développementale de l'angle irido cornéen. Peu de gènes en cause ont été identifiés à ce jour, *CYP1B1* étant le plus fréquent.

Méthode

Une étude prospective sur une population quasi exhaustive des cas incidents en France a été initiée à Lille depuis avril 2013, dans le cadre d'un Programme Hospitalier de Recherche Clinique National (PHRC-N). Afin de réaliser le génotypage par séquençage haut-débit des patients atteints de glaucome congénital, un panel d'essai comprenant 150 gènes candidats a été élaboré. A ce jour, 66 patients inclus dans le PHRC ont été génotypés.

Résultats

Sur les 66 patients inclus, 63 ont été analysés avec succès et 28 ont un résultat génétique positif (44%). Parmi eux, 15 patients (24%) sont confirmés génétiquement et 13 autres (21%) sont considérés partiellement ou potentiellement élucidés. Dans ces deux groupes, les gènes les plus représentés pour le GCPI sont *CYP1B1* et *ABCB6*. Les autres gènes impliqués sont : *ADAMTSL4*, *ASB10*, *B3GALTL*, *COL18A1*, *CRYGC*, *TRPM3* et *WDR36*. D'autres phénotypes ont également été résolus, de type Axenfeld-Rieger, aniridie, mégalo cornée et des cas de glaucome syndromique.

Conclusion

Notre étude a non seulement permis d'identifier de nouveaux variants et gènes en lien avec les glaucomes congénitaux, mais elle a aussi permis d'écarter certains gènes candidats discutés dans la littérature.

Notre panel va ainsi évoluer, en adaptant la liste de gènes à séquencer, pour offrir à l'avenir et en dehors du PHRC, une analyse génétique à Lille pour les patients atteints de glaucome congénital. Le diagnostic génétique permettra une prise en charge médicale personnalisée pour les patients et leur famille.

INTRODUCTION

Le glaucome congénital primitif est une pathologie rare et potentiellement cécitante, dont la fréquence est estimée approximativement à 1/10 000 naissances en France. Son apparition résulterait d'une anomalie de développement embryologique, à l'origine d'une hypertonie intraoculaire par obstacle à l'écoulement d'humeur aqueuse. Il est en général bilatéral et asymétrique, à faible prépondérance masculine, et se manifeste dès la naissance ou au cours de la première année. Il est primordial pour les praticiens qui seront amenés à en faire le diagnostic durant leur carrière, de l'évoquer dans les plus brefs délais, afin d'en améliorer le pronostic fonctionnel.

Afin de réaliser un état des lieux des pratiques actuelles sur la prise en charge des glaucomes congénitaux en France, et d'en comprendre mieux les facteurs pronostiques, une étude prospective sur une population quasi exhaustive des cas incidents a été initiée à Lille. Elle s'intègre dans un Programme Hospitalier de Recherche Clinique National (PHRC-N) depuis avril 2013, date de début des inclusions.

Dans cette démarche, une DNAtèque a été constituée afin de réaliser un génotypage des glaucomes congénitaux en France, à partir de la création d'un « Panel de gènes candidats ».

Après avoir redéfini dans une première partie les glaucomes congénitaux et la génétique qui s'y rapporte, nous présenterons ici les résultats de ces analyses intermédiaires pour 66 patients, effectuées au laboratoire de Biologie Moléculaire, à Lille.

I. Zoom sur le Glaucome Congénital Primitif Isolé

A. Définition

1. Terminologie et Classification

Le Glaucome Congénital Primitif Isolé (GCPI) est un glaucome de l'enfant survenant dans le cadre d'une anomalie développementale de l'angle irido cornéen, appelée trabéculodysgénésie. Celle-ci entraîne une augmentation de la pression intraoculaire à l'origine de lésions oculaires graves.

Par opposition, dans le glaucome primitif à angle ouvert de l'adulte, l'hypertonie oculaire est considérée comme un facteur de risque de survenue et de progression de la neuropathie optique glaucomateuse.

Le GCPI apparaît le plus souvent au cours des premières semaines de vie, mais est sous-catégorisé en fonction de son âge d'apparition (*European Glaucoma Society* (1)) :

Néonatal : jusqu'à 1 mois de vie

Infantile : jusqu'à 2 ans

Juvénile Précoce : > 2 ans jusqu'à la puberté

Le système de classification de *Hoskins et Shaffer* (2), présenté ci-dessous, utilise une approche plus anatomique de la classification.

Il permet de distinguer les glaucomes isolés (liés à une trabéculodysgénésie), des glaucomes congénitaux primitifs associés à d'autres dysgénésies du segment antérieur (appelés neurocristopathies) : les *irido-trabéculodysgénésies*, les *cornéo-trabéculodysgénésies* et enfin les *cornéo-irido-trabéculodysgénésies*.

Il différencie également les glaucomes congénitaux secondaires syndromiques, plus rares, associés à d'autres anomalies congénitales oculaires et/ou générales, des glaucomes de l'enfant apparus secondairement dans les suites d'une pathologie acquise (tumeur, uvéite...).

Nous verrons en deuxième partie le détail de ces présentations cliniques.

Classification de Hoskins et Shaffer

- Glaucome Congénital Primitif Isolé : *Trabéculodysgénésie isolée*
- Glaucome Primitif Associé à une autre neurocristopathie :
 - *Irido-Trabéculodysgénésie* :
 - Ectropion de l'uvée
 - Axenfeld-Rieger
 - Aniridie
 - *Cornéo-Trabéculodysgénésie*
 - Mégalocornée
 - Sclérocornée congénitale
 - Embryotoxon postérieur
 - *Irido-Cornéo-Trabéculodysgénésie*
 - Anomalie de Peters
- Glaucome Secondaire
 - Syndromique : associé à des anomalies congénitales oculaires et/ou générales
 - Associé à une anomalie acquise...

Classification anatomique des Glaucomes congénitaux selon Hoskins, 1984 (2)

A l'heure actuelle, il convient de considérer l'ensemble des glaucomes congénitaux, qu'ils soient primitifs ou syndromiques, comme étant la conséquence d'une anomalie de développement embryologique, portant sur l'activation de la cascade génétique (3).

En revanche, il est nécessaire d'écarter les glaucomes acquis, qui ne sont pas en lien avec une anomalie de développement.

2. Epidémiologie :

Le GCPI est une pathologie rare, pour lequel il existe parfois un retard de diagnostic, ce qui aggrave le pronostic fonctionnel et engendre des lésions irréversibles de la cornée et du nerf optique.

Par conséquent, dans le monde, les glaucomes de l'enfant seraient responsables d'un pourcentage élevé d'enfants admis dans des institutions pour malvoyants (jusqu'à 18%) et de 5% des causes de cécité infantile (4).

La majorité des cas de GCPI se présente de manière sporadique, mais jusqu'à 40% des présentations sont familiales et suivent des modèles d'hérédité autosomique récessive à pénétrance variable (5).

L'incidence du GCPI est variable selon les pays et les groupes ethniques. Elle peut être beaucoup plus élevée dans certaines régions du Moyen-Orient, ou au sein de certaines populations fondatrices pour lesquels on observe une plus grande fréquence des unions consanguines.

En France, l'étude *d'Aziz et al.* (6) menée en région Provence-Alpes-Côte-d'Azur par l'équipe du Professeur Denis, a trouvé 71 cas sur 91 700 naissances, entre 1999 et 2014, soit une incidence de 1/13 000 naissances (environ 65 naissances par an).

De cette manière, on imagine qu'un Médecin Généraliste sera amené à diagnostiquer 1 cas de GCPI non dépisté durant toute sa carrière ; un Pédiatre 1 cas en 10 ans ; et un Ophtalmologiste 1 cas tous les 5 ans.

Par ailleurs, on note une légère prédominance masculine (65%) dans les pays occidentaux et asiatiques (7) et dans 70% des cas, l'atteinte est bilatérale.

3. Génétique du GCPI : état des lieux en 2020

Depuis les années 1980, l'hérédité du GCPI est controversée du fait de publications discordantes. D'abord, certains auteurs ont considéré que ce type de glaucome répondait à un mode de transmission autosomique récessif.

Pour preuve, dans une grande population tzigane regroupant 45 familles en Slovaquie (8), la ségrégation du phénotype était retrouvée chez environ 25% des descendants (118 individus atteints en totalité).

Deménais (9) (10) quant à lui émettait plutôt l'hypothèse d'une hérédité multifactorielle et polygénique à seuil (voir partie 3). Cependant, la confusion nosologique qui existait à cette époque a pu gêner l'interprétation des analyses qui en ont découlé.

Il est admis aujourd'hui que le GCPI obéit plutôt à une hérédité récessive autosomique à pénétrance et expressivité variable, tandis que le glaucome congénital associé aux dysgénésies antérieures obéit plutôt à une hérédité autosomique dominante.

Une hérédité multifactorielle ne peut cependant être complètement exclue, puisque la majorité des cas sont *de novo* (60%).

Dans ce sens, des études récentes (11) (12) suggèrent que des altérations fonctionnelles modérées (allèles hypomorphes) de *FOXC1*, *FOXC2* et *PITX2* associées à d'autres facteurs génétiques et environnementaux, peuvent agir comme un facteur modificateur et contribuer à l'expression d'une goniodysgénésie relativement légère, vers un authentique GCPI.

A ce jour, les 3 gènes bien identifiés et communément admis pour lesquels plusieurs variants pathogènes ont été rapportés sont : *CYP1B1* (GLC3A) et *LTBP2* (GLC3D) de transmission récessive, puis *TEK* (GLC3E) de transmission autosomique dominante. Les gènes des loci GLC3B (1p36.2-36.1) et GLC3C (14q24.3) n'ont pas encore été identifiés.

Les loci impliqués dans la survenue de glaucomes primaires sont désignés par l'Human Genome Organization (HGO) par le symbole « GLC ». Les chiffres 1, 2, 3 représentent respectivement les angles ouverts, fermés et les formes congénitales.

a. *CYP1B1*, 2p22.2 (3 exons)

La proportion des GCPI attribuée à des variants pathogènes du gène *CYP1B1* varie de 20 à 100% des cas familiaux selon les séries, et jusqu'à 15% des cas simplex (13).

Plus de 150 variants délétères ont été identifiés à ce jour.

Il semblerait que certains variants soient particulièrement fréquents au sein de certaines populations (variation génétique fondatrice chez les tsiganes p.Glu387Lys (14), p.Arg390His en Inde, p.Gly61Glu en Arabie saoudite (5)).

Dans des familles saoudiennes atteintes, une pénétrance réduite a été signalée et a été attribuée à l'existence d'un locus modificateur dominant situé en 8p.22 (15).

A ce jour, il n'y a pas de corrélation génotype-phénotype cohérente qui ait été décrite. Il semblerait cependant que les cas *CYP1B1* aient nécessité plus de procédures chirurgicales pour contrôler le tonus oculaire (16), bien qu'ils aient un meilleur résultat précoce post opératoire chez les chinois (17).

Des variants délétères de ce gène ont aussi été rapportés dans des cas d'Aniridie (18), de syndrome d'Axenfeld Rieger (19), d'anomalie de Peters (20), de glaucome juvénile (21), de glaucome pseudo exfoliatif (22) ou associés à un syndrome de Sturge Weber Krabbe (23).

Des cas de glaucome primitif à angle ouvert de l'adulte ont été également rapportés pour certains patients hétérozygotes composites avec allèle hypomorphe p.Tyr81Asn.

En outre, la présence de variants hétérozygotes simples, avec une activité enzymatique relativement absente, pourrait être un facteur de risque de survenue d'un GPAO (24).

Par ailleurs, il semblerait exister un digénisme avec le gène *MYOC (GLC1A)*, résultant en un tableau de GPAO plus sévère et précoce (25) (24).

b. *LTBP2*, 14q24.3 (36 exons)

La proportion totale des cas de GCPI en lien avec une hérédité récessive pour le gène *LTBP2* représenterait environ 40% des cas dans la cohorte d'*Ali* (26).

Chez les tsiganes slovaques, la variation p.Arg299* dans *LTBP2* représente plus de la moitié des cas négatifs pour *CYP1B1* (27).

Comme pour *CYP1B1*, il n'y a pas de corrélation bien établie entre l'allèle muté et le phénotype observé.

Des variants homozygotes ont également été rapportés pour d'autres cas avec phénotypes variés, comme la mégalocornée, la microsphérophakie, l'ectopie cristallinienne, le syndrome de Weill Marchesani, le GPAO, la pseudoexfoliation capsulaire et le glaucome primaire à angle fermé (28) (29) (30) (31).

c. TEK, 9p21.2

C'est en 2017 que *Thomson et al* ont identifié 3 variants pathogènes (p.Gln236*, p.Arg494* et p.Lys249Arg) parmi une cohorte de 284 patients atteints de GCPI (32).

Souma et al décrivent plus tard 10 autres variants hétérozygotes dans une autre cohorte de 189 patients (33).

Les personnes atteintes de GCPI lié à *TEK*, de transmission dominante, présentent aussi un phénotype clinique variable. Certains patients peuvent présenter des malformations veineuses héréditaires associées.

B. Physiopathogénie

1. L'Embryologie pour comprendre

La connaissance de l'embryologie oculaire permet de mieux comprendre les phénotypes oculaires du spectre des Dysgénésies du segment antérieur, dont le GCPI fait partie.

a. L'embryogenèse (34)

A la 3^{ème} semaine, la segmentation du zygote conduit à l'élaboration d'un embryon tridermique, constitué d'une **plaque endoblastique, mésoblastique et ectoblastique**.

L'*ectoblaste*, dans sa partie crâniale, s'épaissit pour former la *plaque neurale*, à l'origine du système nerveux central. A ce stade, on distingue deux structures dérivées de l'ectoblaste, le neuro-ectoblaste (*plaque neurale*) et le reste, appelé *épiblaste*.

La plaque neurale par la suite se creuse en *gouttière neurale*, limitée latéralement par les *crêtes neurales*. C'est à ce moment qu'apparaît la première ébauche oculaire, sous forme de deux dépressions symétriques, appelées *fossettes ou diverticules optiques*.

Plus tard, la fermeture de la gouttière neurale en tube neural va donner naissance, dans sa partie antérieure, aux *vésicules cérébrales antérieures* :

- Le prosencéphale ou cerveau antérieur, qui se scinde en deux vésicules : le télencéphale (cerveau terminal), et le diencéphale,
- Le mésencéphale ou cerveau moyen,
- Le rhombencéphale ou cerveau postérieur.

Dans ce même temps, les *fossettes optiques* vont s'invaginer en regard du prosencéphale et former les *vésicules optiques primitives*, rattachées au tube neural par le *pédoncule (tige ou pédicule) optique*.

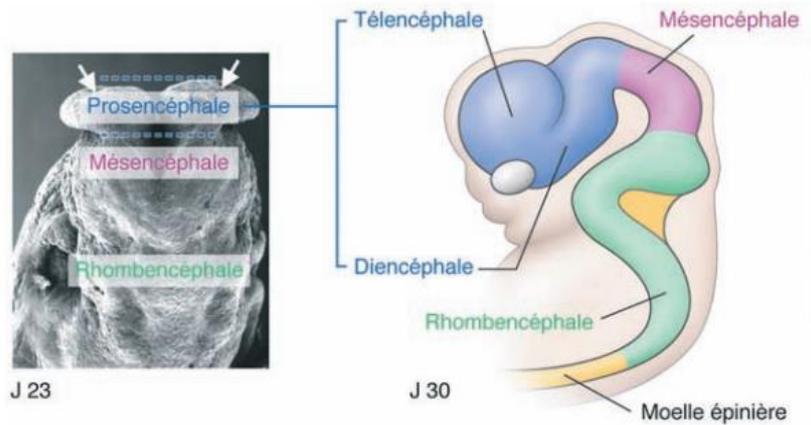


Figure 1 : Image de gauche, flèches blanches : fossettes optiques, visibles dans le neuro épithélium dès le 22^{ème} jour de gestation. Image de droite : vésicule optique gauche représentée en blanc en regard du diencephale (35)

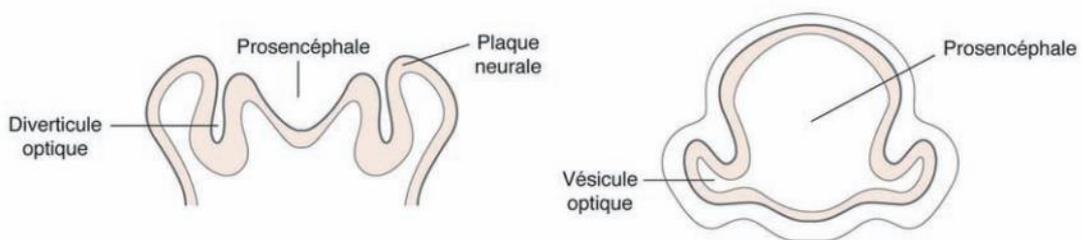


Figure 2 : Formation des vésicules optiques primitives, après fermeture de la gouttière neurale (à gauche) en un tube neural (à droite).(35)

b. L'organogenèse

De la 4^{ème} à la 8^{ème} semaine, on assiste à la formation de la *cupule optique* (ou *vésicule optique secondaire*) par aplatissement de la face antérieure de la vésicule optique primitive. Elle est accompagnée de l'apparition d'une *fente embryonnaire* (ou *colobomateuse*) sur sa face ventrale, étendue jusqu'à la tige optique.

Cette fente donne alors deux feuillets distincts en regard de la cupule optique : le feuillet externe, qui donnera l'épithélium pigmentaire rétinien, et le feuillet interne, neurosensoriel. *L'espace virtuel entre ces deux feuillets sera amené à disparaître, mais pourra être le siège éventuel a posteriori d'un décollement neurorétinien.*

A la même période, en avant de la cupule se forme un épaissement de l'épiblaste qui deviendra la *placode cristallinienne*, puis la *vésicule cristallinienne*, qui se détachera de l'ectoblaste pour former le *cristallin embryonnaire* et *foetal*.

En avant, l'épiblaste de surface tend à recouvrer son intégrité et sera à l'origine de la future cornée.

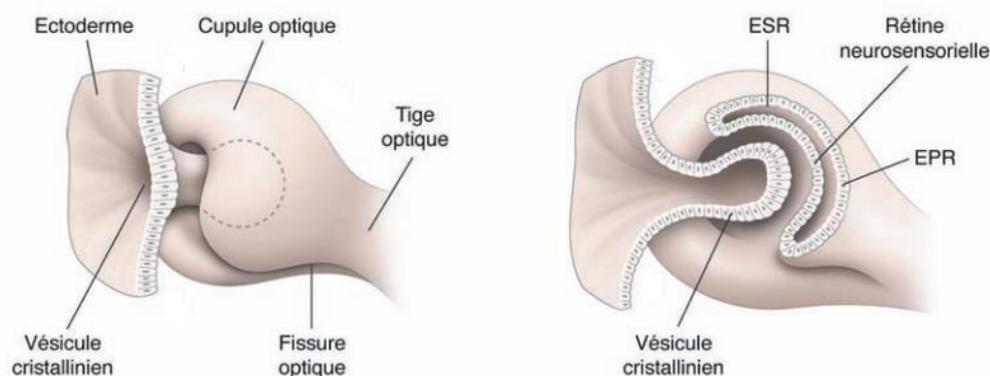


Figure 3 : Morphogenèse de la cupule optique et de la vésicule cristallinienne. ESR : Espace sous rétinien ; EPR : Epithélium pigmentaire rétinien. (35)

Autour de la cupule optique, les cellules mésenchymateuses pénètrent au sein de la fente colobomateuse pour coloniser l'espace entre la placode cristallinienne en avant et la cupule optique en arrière, à l'origine du *vitré primitif*.

L'*artère hyaloïde*, branche de l'artère ophtalmique dorsale, apparaît dès la 4^{ème} semaine et donne des branches vasculaires pour le vitré primitif, ainsi que pour la placode cristallinienne et la rétine, avec deux bourgeons principaux qui formeront les futures branches de l'artère centrale de la rétine.

De la 5^{ème} semaine jusqu'à la fin de la 6^{ème} semaine, la fente embryonnaire se referme, au milieu de la tige optique d'abord, en isolant en son centre le système hyaloïdien et mésenchymateux, qui sera à l'origine de l'artère et de la veine centrale de la rétine.

Puis la fusion de la fissure s'achève de façon simultanée en arrière (vers le cerveau) et en avant (vers la rétine), jusqu'en marge de la cupule optique, en ménageant un orifice à l'origine de la pupille.

Un défaut de fermeture de cette fente embryonnaire pourra être à l'origine d'un colobome du nerf optique et/ou chorio-rétinien, voire du segment antérieur, en fonction de sa localisation.

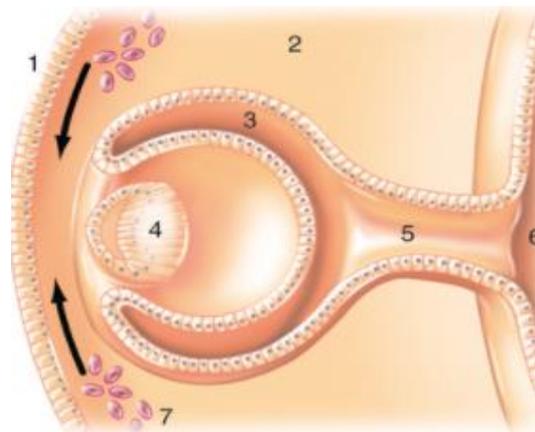


Figure 4 : Embryon à la 7^{ème} semaine de vie, coupe transversale en regard du diencephale. 1.Epiblaste 2.Mésenchyme 3.Cupule optique 4.Vésicule cristallinienne 5.Tube neural 6.Diencephale 7.Cellules issues de la crête neurale *Quoc, 2011 (36)*

c. Différenciation

Le segment antérieur

- **Les crêtes neurales**

C'est à partir de cellules issues des *crêtes neurales* que va se constituer le segment antérieur. Ces cellules, présentes au départ sur les bords latéraux de la gouttière neurale, s'isolent au moment de sa fermeture.

Vers la 8^{ème} semaine de développement, elles vont coloniser en trois vagues successives le mésenchyme primaire situé entre l'épiblaste de surface (à l'origine de l'épithélium cornéen rudimentaire) et les vésicules cristalliniennes (Figure 4).

- La 1^{ère} vague constitue l'*endothélium cornéen* et le *trabéculum*,
- La 2^{ème} vague le *stroma cornéen*
- et la 3^{ème} vague la *lame irido-pupillaire* qui se divisera en un élément périphérique, cellulaire, donnant le *stroma irien* et un élément central ou « *membrane pupillaire* » qui progressivement va régresser.

C'est en lien avec ces malformations dérivées des crêtes neurales, qu'on appelle les dysgénésies oculaires du segment antérieur « neurocristopathies ».

Il s'agit d'un terme générique, non limité à l'œil, regroupant diverses entités syndromiques, comme les Phacomatoses.

- **Les autres éléments du segment antérieur (Annexe 4)**

Concernant les autres éléments cornéens, la *membrane de Bowman*, acellulaire, apparaît vers le 4^{ème} mois de développement, par condensation des fibres de collagène du stroma antérieur.

La membrane de Descemet est individualisable également vers le 4^{ème} mois, pour laquelle la production de collagène se fait jusqu'à la naissance.

L'iris d'origine ectodermique se différencie plus tard au 3^{ème} mois, par extension des bords de la cupule optique. Il est formé de deux couches cellulaires qui vont donner les épithéliums iriens avec un feuillet antérieur qui se dépigmente et un feuillet postérieur qui va progressivement se pigmenter. Les muscles dilatateurs et constricteurs de l'iris se différencient au même moment, à partir de l'épithélium antérieur, ce qui leur confère une origine neuro-ectodermique.

Le corps ciliaire, qui sécrète l'humeur aqueuse, est d'origine ectodermique et mésodermique, et apparaît par plissement de la cupule optique à la fin du 3^{ème} mois.

Ces plissements vont donner l'épithélium ciliaire et progressivement vont se différencier en procès ciliaire, pars plana, et ora serrata au 5^{ème} mois.

Le cristallin embryonnaire quant à lui est formé par l'allongement des cellules postérieures de la vésicule cristallinienne, qui vont former le noyau embryonnaire du cristallin à la 6^{ème} semaine. A la 8^{ème} semaine, les cellules situées à l'équateur vont se transformer en fibres secondaires autour du noyau où elles vont s'unir sur la ligne médiane en avant pour former la suture en « Y », et en arrière en « Y inversé ». C'est le noyau foetal qui est ainsi visible après la naissance, et pour lequel les cellules équatoriales continuent d'assurer la croissance cristallinienne.

La capsule qui entoure le cristallin est présente précocement, originaire de la membrane basale de la placode cristallinienne.

La zonule cependant est de formation plus tardive vers 5 à 6 mois, faite de faisceaux fibrillaires d'origine ectodermique.

- **L'angle irido cornéen (Annexes 1 à 4)**

La chambre antérieure, visible autour du 5^{ème} mois, est étroite et tend à s'approfondir jusqu'à la naissance. L'angle irido cornéen est visible au même moment, dès le 5^{ème} mois, mais très immature (37), avec un iris inséré très antérieurement sur un trabéculum primaire d'origine mésenchymateuse.

C'est au **dernier trimestre** de gestation que la maturation angulaire survient, avec :

- Formation de l'éperon scléral et recul de l'insertion irienne en regard
- Dégénérescence progressive des cellules endothéliales qui tapissent l'angle et l'iris, en continuité avec les cellules endothéliales de la cornée, à partir du bord pupillaire
- Maturation du canal de Schlemm et formation de l'anneau de Schwalbe

Ce développement se poursuit pendant la première année de vie : ce qui explique les certains cas de Glaucomes Congénitaux spontanément résolutifs.

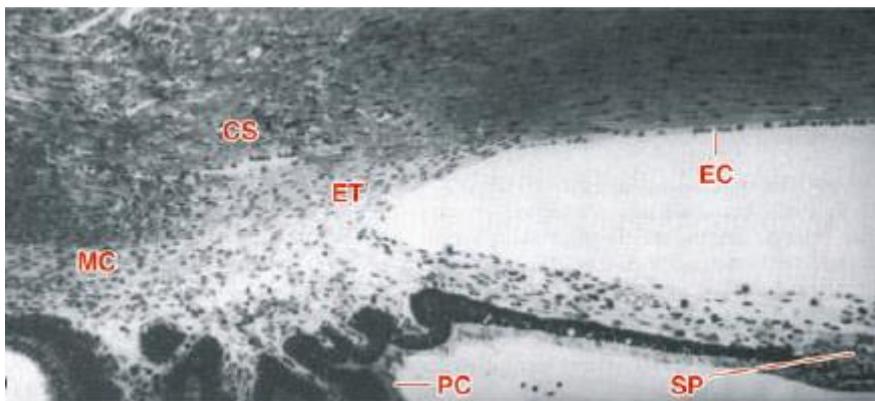


Figure 5 (1) : Photomicrographie de l'angle irido cornéen, chez un fœtus autour de 22 semaines de développement. MC : Muscle ciliaire ; CS : ébauche du canal de Schlemm ; ET : ébauche trabéculaire ; PC : Procès ciliaires ; EC : Endothélium cornéen ; SP : Sphincter pupillaire (35).

Le segment postérieur

- **Au niveau rétinien**

La différenciation de l'*épithélium pigmentaire* se fait au cours des 4 premiers mois de vie, avec l'élaboration très précoce des différents éléments : mélanosomes, mitochondries, ribosomes, complexes jonctionnels, membrane basale. Seules les villosités apicales apparaissent plus tard une fois les segments externes des photorécepteurs matures.

La différenciation cellulaire du *feuillet interne* lors de la neurogenèse, ainsi que sa structuration, commence très tôt dès 4 semaines, puis s'accélère après la fermeture de la fente embryonnaire pour se prolonger jusqu'à la naissance. Les segments externes des photorécepteurs, les disques, sont formés à partir du 4^{ème} mois de vie, lors de la ciliogenèse.

La vasculogenèse rétinienne, qui a lieu approximativement de 12 à 21 semaines, fait place à l'angiogenèse vers 17 semaines qui se poursuit jusqu'à la naissance, en périphérie rétinienne.

- **Le vitré primitif**

Il laisse place progressivement au vitré secondaire dès 6 semaines, grâce aux hyalocytes fœtaux qui vont progressivement sécréter de l'acide hyaluronique.

Ceci a pour effet de refouler le système vasculaire hyaloïdien au centre, au sein du canal de Cloquet ainsi formé, puis disparaissent complètement à 8 mois.

- **Le nerf optique**

Il est formé au départ par la tige optique dès le 1^{er} mois. Plus tard, lors de la fermeture de la fente embryonnaire, les bords de la tige optique se ferment sur les vaisseaux hyaloïdes, puis en avant vers le bord inférieur de la cupule.

Par la croissance asymétrique de la rétine temporale, le nerf est déporté du côté nasal vers la fin du 1^{er} trimestre.

La myélinisation quant à elle débute au 7^{ème} mois au niveau de la portion intracrânienne du nerf optique et se poursuit progressivement jusqu'à la lame criblée à la naissance.

2. Physiopathologie des DSA

Les différents phénotypes cliniques observables dans le spectre des DSA dépendent du moment pendant lequel survient la perturbation au bon déroulement de l'embryogenèse.

Des travaux princeps d'excision chez l'embryon de poulet (38), réalisés par *Johnston* en 1979, ont établi une première classification nosologique des anomalies malformatives du segment antérieur en lien avec les cellules dérivées des crêtes neurales . Ainsi, par exemple :

- des anomalies de *formation* engendrent une Cyclopie
- des anomalies de *migration* : GCPI, Axenfeld Rieger, Peters, Aniridie, Sclérocornée
- des anomalies de *prolifération* : l'ICE (IridoCornealEndothelial) syndrome
- des anomalies de *différenciation* : Dystrophie postérieure polymorphe

Ces perturbations sont en lien avec **un défaut des gènes de développement ou divers facteurs environnementaux, voire de cause accidentelle.**

Les gènes de développement concernés codent pour des protéines exprimées au sein des différentes structures oculaires, qui ont une implication dans certaines voies de signalisation ou de différenciation, plus ou moins cruciales pour le développement oculaire.

Les connaissances biochimiques fondamentales se rapportant à la protéine en cause permettent de comprendre par corrélation la présentation clinique ophtalmologique, plus ou moins sévère.

Pour le gène *CYP1B1* par exemple (39), la protéine synthétisée est principalement d'expression trabéculaire et ciliaire. Son activité mono oxygénase interviendrait dans le bon développement du trabéculum mature, en dégradant certaines ébauches tissulaires rudimentaires. Par ailleurs, elle interviendrait également dans le métabolisme de molécules impliquées dans certaines voies de signalisation.

Concernant le produit du gène *LTBP2*, c'est une protéine de la matrice extracellulaire fortement exprimée dans le trabéculum et le corps ciliaire, dont elle va jouer un rôle structurel important. *LTBP2* pourrait aussi entraîner un défaut d'écoulement d'humeur aqueuse par défaut d'élasticité du canal de Schlemm (40).

Concernant le gène *TEK*, il joue un rôle essentiel dans la maturation des vaisseaux sanguins du canal de Schlemm, et dans l'écoulement d'humeur aqueuse par cette voie (41)(42).

Les gènes plus fréquemment retrouvés dans le spectre des dysgénésies du segment antérieur synthétisent des protéines dont l'expression est « ubiquitaire » pour l'œil, comme *PAX6*, qui code pour un régulateur de transcription dont les différentes isoformes expliqueraient le polymorphisme des atteintes possibles liées à des variants délétères pour ce gène.

Malheureusement, ces connaissances biochimiques fondamentales ne sont encore que trop partielles.

3. Pathogénie propre du GCPI

Concernant la trabéculo-dysgénésie isolée du GCPI, des incertitudes demeurent sur l'origine anatomique de l'obstacle à l'évacuation de l'humeur aqueuse.

Selon *Barkan* (43) il s'agirait d'un *obstacle pré-trabéculaire* sous la forme d'une couche cellulaire imperméable qui ne se serait pas résorbée et qui persisterait après la naissance. Elle pourrait être cette membrane endothéliale disparaissant normalement au 3^{ème} trimestre de grossesse, ou cette fine membrane translucide visualisée parfois en goniotomie, mais dont l'existence anatomique cependant n'a pas encore été prouvée.

Deux arguments vont cependant à l'encontre de cette hypothèse :

- La survenue tardive de certains GCPI, après plusieurs mois de vie
- **L'absence, dans la littérature, d'incidence excessivement majorée de GCPI chez les enfants grands prématurés de 6 mois** (44)

D'autres auteurs émettent l'hypothèse d'un **obstacle trabéculaire**, après analyse histologique de pièces tissulaires issues de trabéculéctomie (45), dont :

- Une insertion trabéculaire de l'iris et/ou une position anormalement antérieure des corps ciliaires
- Une compression des lamelles trabéculaires voire une disparition des espaces inter trabéculaires autour du canal de Schlemm
- Un défaut d'apoptose cellulaire en regard du plancher du canal de Schlemm (*expliquant l'efficacité de la goniotomie et de la trabéculéctomie ?*)
- Ou en regard de son toit (*expliquant l'efficacité de la sclérectomie non perforante ?*)

La dysgénésie du trabéculum semble ainsi être en lien avec un développement anormal de l'angle, complexe et multifactoriel.

C. Diagnostic du Glaucome Congénital Primitif isolé

1. Circonstances de découverte

La triade de signes fonctionnels classiquement décrite est (46) :

- le larmoiement clair (*épiphora*),
- la *photophobie* (qui peut entraîner un frottement oculaire),
- le *blépharospasme*.

Ces signes sont en lien avec l'œdème cornéen épithélial secondaire à l'hypertonie oculaire. Parfois, c'est directement le changement de couleur de la cornée (aspect bleuté, voire blanc) ou sa grande taille, qui sont remarqués par les parents ou le pédiatre. Certains parents vont même considérer à tort cet aspect trompeur de « beaux et grands yeux » comme normal, surtout quand l'atteinte est bilatérale, et ne pas consulter.



Figure 6 : GCPI à droite, avec buphtalmie, *Professeur JF Rouland*

2. Les signes cliniques

a. L'œdème cornéen

Il est souvent le premier signe remarqué par les parents, secondaire à l'élévation de la PIO. L'œdème stromal chronique peut entraîner des cicatrices cornéennes séquellaires, compromettant de manière définitive le pronostic visuel.



Figure 7 : Œdème de cornée, Professeur JF Rouland

b. La buphtalmie

C'est l'augmentation harmonieuse de la taille du globe, en lien avec l'étirement cornéo scléral secondaire à l'élévation du tonus. Elle peut donner une apparence bleue à la paroi oculaire due à la visualisation de l'uvée sous-jacente. L'augmentation du diamètre cornéen (mégaloconée) et de la longueur axiale provoquent une myopie importante, source d'amblyopie fonctionnelle.

c. Les stries de Haab

Elles correspondent à des interruptions de la membrane de Descemet secondaires à l'étirement de la cornée, associées à un afflux d'humeur aqueuse dans le stroma.

Elles sont horizontales au centre et curvilignes en périphérie. Elles sont irréversibles et induisent fréquemment un astigmatisme fort, pourvoyeur d'amblyopie anisométrique.

Elles ne doivent pas être confondues avec les vergetures verticales de la membrane de Descemet induites par les traumatismes liés au forceps lors de l'accouchement.

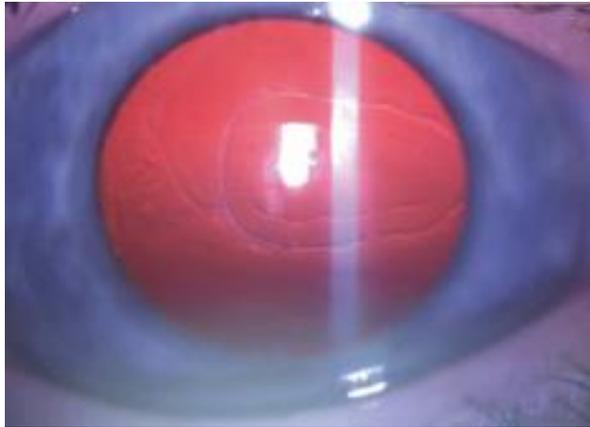


Figure 8 : Stries de Haab visualisées en lampe à fente (35)

d. Pio et Fond d'oeil

La prise du tonus à l'air ou à l'aplanation (Tonopen®) est effectuée mais souvent de réalisation difficile.

En raison de la photophobie et de l'œdème cornéen, le fond d'œil est difficile d'accès également et sera complété au bloc.

e. Après 3 ans

A partir de cet âge, la présentation clinique est différente car l'élasticité du collagène régresse. L'œil glaucomateux ne présente plus de buphtalmie ou d'opacification cornéenne par désorganisation de l'architecture du collagène stromal.

Seule l'hypertonie mesurée et l'excavation papillaire augmentée signent alors le diagnostic.

3. Examen au bloc opératoire

Devant un tel tableau, l'examen sous anesthésie générale s'impose dès la suspicion de glaucome congénital. Il permettra de préciser les signes permettant d'établir de manière formelle le diagnostic. Au décours de cet examen, le traitement chirurgical sera réalisé d'emblée. Par la suite, des examens itératifs sous anesthésie générale seront effectués au cours du suivi, afin de s'assurer de l'amélioration des paramètres après traitement.

Il faudra être vigilant à relever d'éventuelles autres malformations oculaires ou faciales associées (aniridie, Axenfeld-Rieger, angiomes...).

De manière systématique, il faudra effectuer aux deux yeux :

a. La mesure du diamètre cornéen

Il existe habituellement dans le GCPI une augmentation du diamètre cornéen, souvent supérieur à 10,5 mm à la naissance et 12 mm à l'âge de 1 an (*European Glaucoma Society, EGS*).

Age	Naissance	1 an	2 ans
Diamètre cornéen normal	10 mm	11.5 mm	12 mm

b. La mesure de la pachymétrie cornéenne :

Elle est augmentée en cas d'œdème. Chez l'enfant en bonne santé, l'épaisseur cornéenne moyenne est de 557,20 +/- 47 µm. **Elle ne semble pas varier avec l'âge (47).**

c. La mesure du tonus à l'aplanation (Perkins® TonoPen®).

Sous AG, la PIO dépasse rarement les 5 mm Hg chez les nouveau-nés.

Cela ne doit pas remettre en cause le diagnostic, car l'utilisation des gaz halogénés entraîne une baisse du tonus de 30% (48), légèrement aggravée par la période de jeûne préopératoire. Aussi, du fait de l'œdème, l'hystérésis et l'épaisseur cornéenne sont modifiées, ce qui induit une sous-estimation de la PIO.

Age	0-2 ans	2-6 ans	6 ans et plus
PIO normale sous AG (47)	7.60+ 1.85 mmHg	9.59 +- 2.35 mmHg	12.19+-1.96 mmHg

d. La Biométrie : mesurée grâce à l'échographie en mode A.

La biométrie par échographie A de contact permet la mesure de la longueur axiale du globe oculaire. Celle-ci est souvent augmentée, mesurée à plus de 20 mm à la naissance ou 22 mm à l'âge de 1 an (EGS), traduisant la distension du globe secondaire à l'augmentation de la PIO.

Age	Naissance	1 an	2 ½ - 3 ans
LA normale	17 mm	20-21 mm	22-23 mm

e. La Réfraction

Elle est peu fiable sans cycloplégie, l'enfant étant laissé en myosis pour permettre l'intervention chirurgicale dans le même temps anesthésique.

f. L'examen en biomicroscopie.

On recherche une excavation papillaire avec un cup/disc $> 0,3$ ou une asymétrie du c/d entre les deux nerfs optiques de $0,2$.

C'est un signe précoce d'augmentation du tonus, et réversible chez l'enfant, qui apparaît plus rapidement et à des pressions plus faibles que chez l'adulte.

Les nourrissons normaux ne présentent aucune excavation. Cependant, une excavation physiologique peut apparaître la première année. Dans ce cas, l'aspect est moins suspect, avec une excavation ronde à grand axe horizontal.

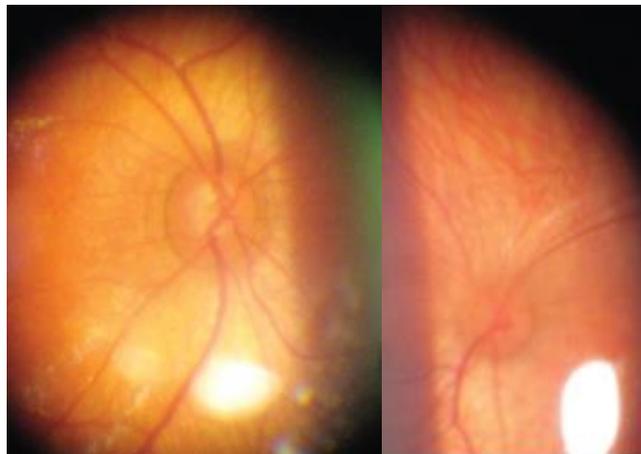


Figure 9 : GCPI sur l'image de gauche, avec nerf optique excavé. L'image de droite montre un nerf optique normal (46)

g. La Gonioscopie :

Elle peut retrouver un angle immature avec un anneau de Schwalbe ou un éperon scléral peu visible, une bande ciliaire courte et un trabéculum pâle. L'iris peut être hypoplasique en périphérie et avoir une insertion antérieure.

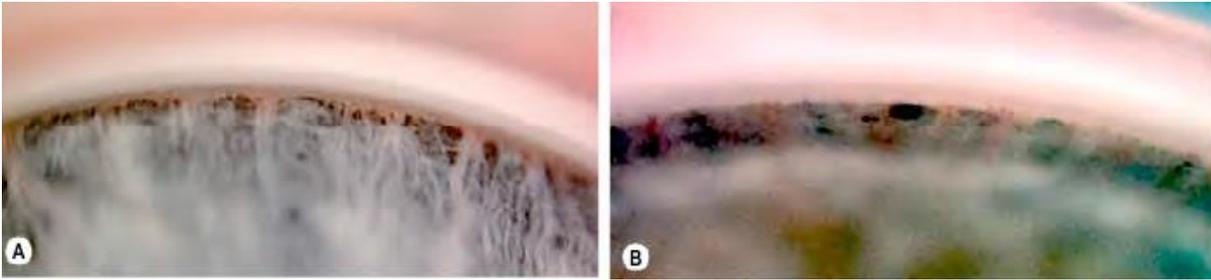


Figure 10 : A) = Angle irido cornéen normal chez un nourrisson. Racine de l'iris et bande ciliaire bien visibles, trabéculum et éperon scléral différenciés mais encore difficilement discernables. B) = Angle très immature, iris hypoplasique par endroit. Bande ciliaire non visible (49).

h. Echographie en mode B et/ou UBM :

Si l'œdème de cornée ne permet pas la visualisation correcte des structures oculaires.

4. *Diagnostics Différentiels*

Certains diagnostics différentiels sont trompeurs, et miment au départ un GCP.

Il faudra penser à éliminer :

- Devant un larmolement : une imperforation du canal lacrymo-nasal.
- Devant un élargissement apparent du globe :
 - **Une mégalocornée isolée congénitale liée à l'X.** Elle correspond à une augmentation isolée du diamètre cornéen, sans autres anomalies. Il pourrait s'agir d'un éventuel glaucome débutant spontanément résolutif.
 - **Une myopie forte axiale.** Il faudra rechercher dans ce cas d'autres anomalies pour évoquer une éventuelle cause syndromique à cette myopie précoce.
- Devant une opacité cornéenne :
 - **Les dystrophies endothéliales** de type : dystrophie postérieure polymorphe (DPP), dystrophie endothéliale héréditaire congénitale (CHED),
 - Les **maladies métaboliques** dont les Mucopolysaccharridoses : qui peuvent aussi se compliquer d'un glaucome secondaire, par envahissement trabéculaire,
 - **Anomalie de Peters ou autres DSA**, avec ou sans glaucome associé.

D. Traitement des GCP

Au début des années 1900, le GCPI semblait incurable. L'introduction de la goniotomie en 1938 par *Barkan* et l'amélioration des techniques chirurgicales peu après ont radicalement changé le pronostic du glaucome congénital, à condition que la chirurgie soit réalisée dans les plus brefs délais.

1. Traitement chirurgical

Le traitement chirurgical est nécessaire pour la quasi-totalité des patients.

Les trois procédures chirurgicales classiquement réalisées en première intention dans le GCP sont la **goniotomie, la trabéculotomie et la trabéculectomie** (50), bien qu'il n'y ait pas de recommandation concernant le choix chirurgical.

a. La goniotomie

Elle est possible seulement en cornée claire. Si l'œdème stromal empêche une visualisation adéquate des structures angulaires, la conversion en trabéculotomie doit être envisagée.

Elle consiste en une incision *ab interno* du trabéculum en vision directe, à l'aide d'une lentille.

Une aiguille 30 Gauge est introduite par la cornée à 1 mm du limbe selon un plan parallèle à l'iris, puis pénètre délicatement le tiers antérieur du trabéculum, juste en arrière de la ligne de Schwalbe. Une incision circonférentielle est alors effectuée, étendue sur un rayon de 4 à 5 heures.

Les complications éventuelles sont l'hyphéma, la formation de synéchies antérieures périphériques et l'iridodialyse.

b. La trabéculotomie

Elle peut s'effectuer même en cas de cornée opaque, contrairement à la goniotomie, car elle aborde directement le canal de Schlemm par voie externe.

Pour se faire, une fois le canal de Schlemm mis en évidence, un trabéculotome y est inséré et mis en rotation dans la chambre antérieure pour effondrer le trabéculum et la paroi interne du canal de Schlemm. La répétition du geste, de part et d'autre de l'ouverture du canal, permet d'ouvrir 120 à 180° d'angle.

Il existe une variante qui permet de réaliser une trabéculotomie circonférentielle, sur 360° en une seule séance (51). Une autre variante encore est pratiquée au moyen d'une substance viscoélastique injectée en pression dans le canal de Schlemm, afin de rompre son plancher, limitant les risques de prolifération fibreuse cicatricielle dans l'angle (cause d'échec chirurgical) (52).

c. La trabéculectomie

La trabéculectomie est une chirurgie filtrante qui consiste à réséquer, après réalisation d'un volet scléral, un bloc sclérolimnique comprenant le trabéculum et le canal de Schlemm. L'utilisation de la trabéculectomie dans le glaucome pédiatrique est plus délicate encore que chez l'adulte, principalement en raison des risques des antimétabolites (blébite, endophtalmie, fragilisation sclérale...) et de la difficulté à gérer les bulles chez les jeunes enfants, du fait d'un risque de cicatrisation excessive.

d. La sclérectomie profonde non perforante (SNP)

Il s'agit d'une ablation sélective de la membrane trabéculaire externe (MTE), sans ouverture de la chambre antérieure, ce qui permet une décompression douce du globe, limitant le risque d'hypotonie oculaire immédiate. Sa réalisation est d'autant plus délicate. Cependant, son indication est controversée en cas de GCPI car l'obstacle à l'écoulement de l'humeur aqueuse est classiquement interne (53).

e. Chirurgie combinée

On peut associer la trabéculotomie à une chirurgie filtrante de type trabéculectomie ou sclérectomie profonde non perforante. Deux voies d'évacuation de l'humeur aqueuse sont ainsi créées, ce qui est utile dans les cas de glaucomes réfractaires.

f. Alternatives

En cas de glaucome réfractaire, il est possible d'envisager :

- Des procédures cyclo destructives, au laser diode notamment,
- Des techniques « Micro Invasive Glaucoma Surgery » (MIGS) :
Implants suprachoroïdiens (StarFlo®), par voie *ab externo*, par exemple (54).
- Des chirurgies filtrantes *ab externo* avec bulle de filtration postérieure utilisant des implants de drainage (Baerveldt, Molteno et valve d'Ahmed),
- Des greffes de cornéen en cas d'opacité séquellaire. Elles sont transfixiantes, du fait des altérations de l'endothélium associées.

2. Traitement médical

Le traitement chirurgical en urgence est indispensable, mais il peut être utile de proposer en attendant la chirurgie un traitement médical hypotonisant.

- Seuls les analogues des prostaglandines ont l'autorisation de mise sur le marché (AMM) chez le nourrisson et l'enfant, dont le latanoprost et le travoprost.
- Les β -bloquants peuvent être utilisés en l'absence de contre-indication.
- Les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique par voie locale n'ont pas non plus de contre-indications, ils sont le plus souvent utilisés en deuxième intention.
- La brimonidine (agoniste α -2 adrénergique) est en revanche contre-indiquée en raison d'effets indésirables graves : somnolence, détresse respiratoire...

3. Autres aspects thérapeutiques

- Correction optique totale et rééducation de l'amblyopie par pénalisation de l'œil dominant,
- Prise en charge de la malvoyance avec projet éducatif spécifique si besoin,
- Associations de patients,
- Aide des structures médicosociales en cas de besoin.

II. Spectre des DSA : phénotype et gènes connus

A. Irido-Trabéculodysgénésies

1. L'Aniridie

a. Génétique connue

Il s'agit d'une malformation oculaire congénitale sévère héritée de manière autosomique dominante dans 2/3 des cas, avec une pénétrance élevée et une expression variable. Pour 1/3 des cas, la survenue est sporadique.

Les gènes de développement incriminés sont entre autres *FOXC1*, *PITX2*, *CYP1B1* (18) et *PAX6* (55). **C'est le gène *PAX6* qui est le plus souvent retrouvé. Il code pour un facteur de transcription phylogénétiquement très conservé, utile au bon développement structurel de l'œil (56).**

L'Aniridie est retrouvée par ailleurs dans deux formes syndromiques sévères :

- Le WAGR syndrome (*Wilms tumor, Aniridia, Genital anomalies, Mental Retardation*), en lien avec une **microdélétion 11p13** emportant le gène suppresseur de tumeur *WT1*, contigu au gène *PAX6* (syndrome des gènes contigus).
Il est donc fortement recommandé de pratiquer un caryotype haute résolution et un dépistage par échographie rénale trimestrielle en cas de délétion 11p13 associée.
- Le syndrome de Gillespie avec hypotonie, hypoplasie cérébelleuse progressive, ataxie, et déficience cognitive. Bien que le gène *PAX6* puisse être en cause, il a été identifié récemment des variants délétères du **gène *ITPR1***, 3p26.1 (57).

b. Phénotype

Le phénotype comprend :

- Une hypoplasie irienne : allant de l'ébauche rudimentaire à une structure presque complète d'un iris fin



Figure 11 : Aniridie partielle bilatérale, *Professeur JF Rouland*

- Le glaucome, présent **jusqu'à 75 % des cas**, est lié à un défaut de différenciation angulaire ou secondaire à une obstruction trabéculaire par du tissu irien rudimentaire, à l'origine de synéchies antérieures qui vont fermer l'angle (58). Il survient en général **après l'âge de 5 ans**,
- Les anomalies cornéennes : ulcère épithélial, conjonctivalisation cornéenne sur insuffisance en cellules souches limbiqes,
- Une hypoplasie fovéale associée (responsable d'un nystagmus) ou hypoplasie du nerf optique,
- De manière variable : cataracte, aphakie congénitale, membrane pupillaire persistante, colobomes.

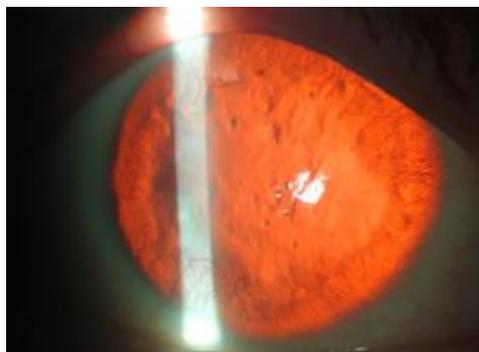


Figure 12 : Aniridie totale et insuffisance limbique responsable d'opacités et de néovascularisation cornéenne, *Professeur JF Rouland*

2. L'ectropion congénital de l'uvée

L'épithélium postérieur de l'iris déborde de façon anormale sur le rebord pupillaire et couvre de manière variable la surface antérieure de l'iris, n'allant que très rarement jusqu'à sa racine. Il est souvent unilatéral et associé à un glaucome congénital tardif voire juvénile. La chirurgie filtrante est le plus souvent nécessaire.

Il peut être associé à des atteintes syndromiques, nombreuses, comme la Neurofibromatose, le syndrome de Prader-Willi...



Figure 13 : Ectropion congénital de l'iris, plus discret sur l'image de gauche, Professeur JF Rouland

3. Syndrome d'Axenfeld-Rieger

Historiquement, on décrivait deux entités cliniques différentes, celle d'Axenfeld, et celle de Rieger, en raison des descriptions successives qui en ont été faites par leur auteur respectif. Mais il est actuellement considéré **que toutes ces caractéristiques sont des variations d'une même entité clinique plus ou moins sévère, l'anomalie d'Axenfeld-Rieger.**

a. Génétique connue

Le mode de transmission est autosomique dominant avec une pénétrance complète et une expressivité variable. Les principaux gènes en cause codent pour des facteurs de transcription et orchestrent le développement des cellules de la crête neurale : **PITX2**, **FOXC1** dans plus de 50 % des cas (59), mais aussi *PAX6*, *FOXE3*, *EYA*, *PITX3* et *CYP1B1* ... (22).

b. Phénotype

Il s'agit d'une atteinte bilatérale et relativement symétrique en général.

Il existe :

- Un embryotoxon postérieur, c'est-à-dire un épaissement et un déplacement antérieur de la ligne de Schwalbe, sous forme d'une ligne grise parallèle au limbe,
- Des adhérences entre l'iris et la cornée au niveau de l'angle, entraînant une corectopie,
- Une hypoplasie irienne, une atrophie focale de l'iris (polycorie),
- Un ectropion de l'uvée,
- Des vestiges de la membrane pupillaire embryonnaire,
- Moins souvent : microsphéropachie, microphthalmie, microcornée, staphylome, sclérocornée,
- Le **glaucome est présent dans 50 % des cas** : il peut être présent dès la naissance ou se développer après plusieurs années, plus souvent après 5 ans.

Le mécanisme du glaucome est lié à des anomalies du développement angulaire ou à une fermeture secondaire.



Figure 14 : Embryotoxon postérieur (flèche bleue) et synéchies irido cornéennes angulaires,
Professeur D Denis (7)

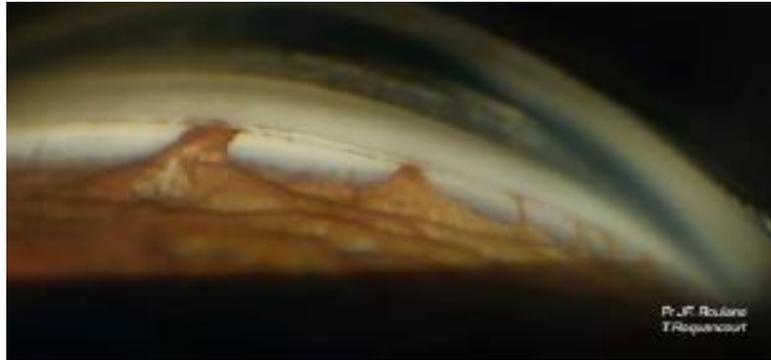


Figure 15 : Gonioscopie montrant l'insertion des synéchies iriennes antérieures sur la ligne de Schwalbe, *Professeur JF Rouland.*

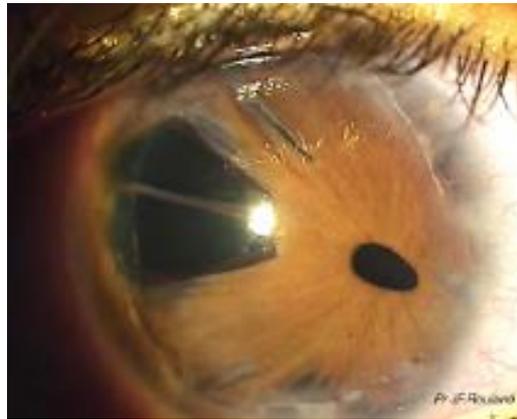


Figure 16 : Corectopie et trou irien. *Professeur JF Rouland*

On peut être en présence d'anomalies systémiques associées (Syndrome d'Axenfeld-Rieger), regroupant (29) des malformations :

- dentaires : microdontie des incisives supérieures;
- faciales : hypoplasie mandibulaire, élargissement de la base du nez, hypertélorisme,
- ombilicales : défaut de régression du tissu péri-ombilical confondu avec une hernie,
- urogénital : hypospadias,
- ORL : surdité,
- cérébrales : syndrome de la selle turcique vide, hypoplasie de l'hypophyse entraînant un retard de croissance par déficit en hormone de croissance, méningiome...
- cardiaques : anomalies des gros troncs aortiques.



Figure 17 : Morphotype caractéristique d'un enfant avec syndrome de Rieger. Microdontie, hypoplasie mandibulaire, base du nez large avec hyperthélorisme apparent.(59)

B. Cornéo-Irido-Trabéculodysgénésies

1. Sclérocornée (Cornéo-Trabéculodysgénésie)

Il s'agit d'un défaut d'organisation des fibres de collagène de la cornée, qui ne prennent pas une disposition normale régulière et parallèle, permettant la transparence optique.

La cornée prend alors un aspect opaque et vascularisé, à l'instar de la sclère.

Elle peut être partielle avec une zone claire centrale.

La courbure cornéenne est souvent diminuée, la plupart des auteurs considérant d'ailleurs de ce fait la *cornea plana* et la sclérocornée comme deux manifestations phénotypiques d'une même entité.

Elle peut être isolée ou associée à d'autres malformations oculaires comme la microphthalmie ou la microcornée, et se compliquer de glaucome, par dysgénésie trabéculaire et/ou fermeture angulaire.

La sclérocornée peut être sporadique ou héréditaire, plutôt de transmission autosomique dominante. Plusieurs gènes ou locus chromosomiques sont en cause :

- Parmi les gènes de développement, associant microphthalmie ; anophthalmie ; colobomes : *BMP4*, *FOXE3*, *GJA8*, *RAX*, *SIX6*, *SOX2*, *PAX6*, *PXDN* (60) (61) (62) (63) (64),
- *HCCS*, en Xp22.31 : microphthalmie-sclérocornée associée à un syndrome MIDAS (*Microphthalmie, aplasie dermique, sclérocornée*) ou MLS (*Microphthalmia with Linear Skin Defects*) (65) (66),
- en 18q21.3, voire 22q11.2 (syndrome de Di George) (67).

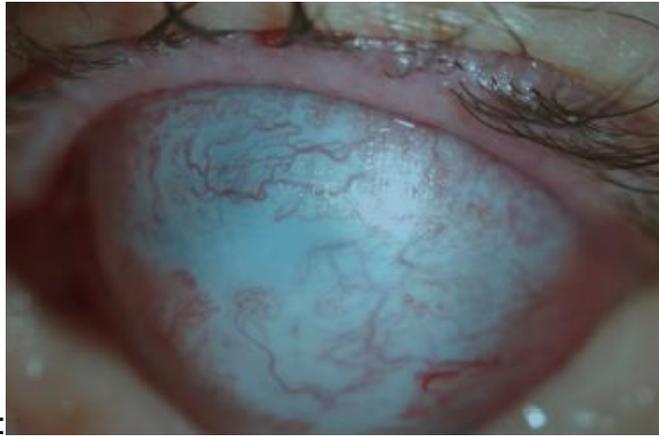


Figure 18 : Sclérocornée totale, avec buphtalmie. Professeur JF Rouland

2. Syndrome de Peters (Cornéo-Irido-Trabéculodysgénésie)

On différencie l'anomalie de Peters de type 1, de type 2 (ou *anomalie de Von Hippel*) et le syndrome de « Peters plus ».

a. Anomalie de Peters 1

Le génotype dans l'anomalie de Peters de type 1 est variable, selon qu'elle soit associée à d'autres anomalies oculaires ou générales syndromiques. Il est décrit à la fois une hérédité autosomique dominante et récessive, avec plusieurs gènes impliqués : *CYP1B1*, *PAX6*, *PITX2*, *PITX3*, *FOXE3*, *FOXC1*, *TFAP2A*, *FLNA*, *SLC4A11*, *HCCS*, *COL4A1*... (68).

L'anomalie de Peters comprend :

- Une opacité cornéenne annulaire, plus ou moins large (*leucome*), qui correspond histologiquement à une zone de discontinuité dans la membrane de Descemet et l'endothélium, avec un amincissement du stroma postérieur en regard.
- Des ponts iriens reliés aux bords de cette opacité,
- De manière variable : cataracte, colobome, microphthalmie, persistance du vitré primitif...

Elle est **unilatérale dans 50 % des cas et peut se compliquer d'un glaucome d'emblée ou secondairement.**



Figure 19 : Anomalie de Peters 1. *Image de gauche* : Opacité centrale éclaircie, synéchie irido cornéenne en regard. *Image de droite* : Leucome central étendu. (8)

b. Syndrome de Peters plus

L'entité syndromique dénommée « Peters-plus » associe :

- une atteinte cardiaque inconstante (foramens perméables, sténose aortique ou pulmonaire, bicuspidie pulmonaire),
- un nanisme,
- un retard mental avec agénésie du corps calleux, microcéphalie,
- une dysmorphie dont les fentes labiales, palatines et fistules pré auriculaires.

La génétique a bien identifié le gène responsable de ce syndrome, la plupart des individus affectés étant **homozygotes pour un variant pathogène du site d'épissage dans l'intron 8 (c.660+1G>A) du gène *B3GLCT (B3GALTL)*** (69).

c. Anomalie de Peters 2, ou anomalie de Von Hippel

Plus sévère que le type 1, on note un amincissement majeur de la cornée avec ectasie et risque de perforation. La chambre antérieure est effacée, et le cristallin est apposé directement à la face postérieure de la cornée. De cette façon, en plus de la dysgénésie trabéculaire, un mécanisme de fermeture de l'angle par blocage pupillaire peut favoriser la survenue d'un glaucome sévère, peu contrôlable.

C. Glaucomes congénitaux secondaires

1. Les glaucomes hérités

D'après Hoskins (1984), les GCS sont une entité à part, associés à d'autres malformations oculaires congénitales et/ou à des manifestations systémiques syndromiques.

En fonction de l'atteinte oculaire, un mécanisme multifactoriel peut être à l'origine du glaucome apparaissant secondairement, pouvant combiner :

- une authentique trabéculodysgénésie,
- une fermeture secondaire de l'angle, avec ou sans blocage pupillaire (ectopie, luxation, synéchies antérieures...),
- un envahissement angulaire (cellules endothéliales, mélanocytes, infiltration neurofibromateuse),
- une hyperpression veineuse épisclérale.

Nous avons vu précédemment que **le GCPI et autres DSA peuvent s'intégrer dans des pathologies syndromiques complexes** (Sturge Weber, Syndrome de Rieger), **associés parfois à d'autres malformations oculaires précipitant la survenue d'une hypertonie oculaire** (synéchies, cataractes, microphthalmie dans l'anomalie de Peters par exemple).

Dans ce sens, il est admis que certains GC secondaires associés à diverses malformations oculaires et/ou générales, combinent une authentique composante dysgénésique associée à un autre mécanisme, celui de la fermeture angulaire par exemple.

Il n'est donc pas aisé de classer le GC d'après Hoskins, puisque selon le mécanisme et l'atteinte oculaire prédominante, il peut s'agir à la fois d'un GC primitif ou secondaire...

En réalité, bien que la pathogénie du GC peut varier, il vaut mieux considérer les GC primitifs et les GC dits « secondaires » comme étant tous deux la conséquence d'une anomalie portant sur l'activation de la cascade génétique pendant le développement embryologique.

Ainsi, la diversité des phénotypes rencontrés pourrait dépendre du type de gènes affectés et de leurs conséquences moléculaires.

Quant à la sévérité des atteintes, elle pourrait dépendre du moment où ces gènes ont été touchés pendant l'embryogenèse et de l'intensité du défaut génétique.

En revanche, il convient d'écarter les glaucomes secondaires à une pathologie acquise (uvéite, traumatisme...), sans lien avec un trouble développemental.

Ci-après, nous avons représenté la liste non exhaustive des dysgénésies oculaires pouvant se compliquer de GS, et les syndromes malformatifs qui s'y rapportent. Nous avons détaillé la génétique connue pour chaque évènement ou pathologie syndromique.



Figure 20 : Syndrome de Sturge Weber Krabbe et glaucome congénital ipsilatéral, avec œdème de cornée (35)

Malformations oculaires congénitales	Syndrome	Transmission
Microphthalmie, Microcornée, Cataracte, Colobomes...	Non spécifique, associations nombreuses	AD, voire AR ou lié à l'X Nombreux cas sporadiques <u>Gènes du développement :</u> ADAMTSL4, BMP4, CHX10, CYP1B1, EYA1, FNBP4, FOXC1, FOXC2, FOXE3, GDF3, GDF6, GPATCH, LTBP2, MAB21L2, MAF, MFRP, MSX2, OTX2, PAX2, PAX6, PIX2, PITX3, PRSS56, PXDN, RAX, SH3PX2DB, SIX6, SOX1, SOX2, STRA6, TENM3, RAX, VSX1...
Cataractes Héritaires	Isolées	AD, AR : CRYAA, CRYBA4, CRYGB, CRYGC, CRYGD
	Syndrome de Lowe (oculo-cérébro-rénal) : cataracte bilatérale, glaucome, microphthalmie	Récessif lié à l'X, OCRL1
	Syndrome d'Alport (néphropathie-surdité)	Récessif COL4A3, COL4A4, COL4A5
	Trisomie 13, 18, 21	
Microsphérophakie	Weill Marchesani (brachycéhalie-dactylie)	AD, FBN1 AR, ADAMTS10, ADAMTS17, LTBP2
Ectopie, luxation du cristallin	Isolée	AD, FBN1 ou AR ADAMTSL4
	Marfan (grande taille, scoliose, myopie)	AD, FBN1
	Homocystinurie (retard mental, thromboses)	AR, CBS
Microcorie	Isolée	AD, microdel 13q32.1
	Syndrome de Lowe, Marfan...	
Colobomes	Isolés ou associés à d'autres malformations oculaires	<i>Gènes du développement</i>
	Syndrome Rein Colobome (myopie, microphthalmie, colobome rétinien et du NO...)	AD, PAX2
Nanophthalmie	Isolée ou associée à d'autres dysgénésies	AR, MFRP, PRSS56, TMEM98
Nævus d'Ota	x	<i>Sporadique dans la majorité des cas</i>
DPP	x	COL8A2, ZEB1, VSX1...
CHED	x	SLC4A11
Persistance du vitré Primitif	Peu spécifique, associations nombreuses	<i>Gènes du développement</i>
Dysplasie vitréo rétinienne	Dystrophie musculaire de Walker Warburg	AR, POMT1, POMGNT1, POMT2, B3GNT1, COL4A1
	Maladie de Norrie (surdité, retard mental)	Récessif lié à l'X, NDP

Phacomatoses	Signes associés	Transmission
Neurofibromatose de type 1	Nodules de Lish, gliomes des voies optiques, neurofibromes, taches café au lait, anomalies squelettiques, glaucome souvent plus tardif	AD, <i>NF1</i>
Sturge Weber Krabbe	Hémangiome leptoméningé et dans le territoire du V, hémangiome choroïdien ipsilatéral, glaucome congénital	<i>Sporadique, non hérité</i> <i>Variant somatique GNAQ</i>
Autres Sd polymalformatifs avec anomalies de développement oculaire +- Glaucome congénital	Signes associés	Transmission
Dysplasie oculo-dento-digitale	Anomalies crâniofaciales et des membres, DSA, microphthalmie, microcornée...	AD, <i>GJA1</i>
Sd d'Alagille	Cholestase, sténose des artères pulmonaires, anomalies vertébrales, dysmorphie, dysplasie rénale, DSA, rétinopathie pigmentaire	AD, <i>JAG1</i>
Sd branchio-oculo-facial	Fentes branchiales hémangiomateuses, fentes labiales, surdité, Peters, colobomes, cataracte	AD, <i>TFAP2A</i>
Sd OFCD	Syndrome oculo-facio-cardio-dentaire avec microphthalmie, cataracte, glaucome	Dominant lié à l'X, <i>BCOR</i>
Sd oculo-auriculaire	Malformation de l'oreille externe, DSA, microphthalmie, dystrophie rétinienne	AR, <i>HMX1</i>
Sd de Melnick Needles	Ostéodysplasie fronto-oto-palato-digitale avec Peters, Sclérocornée	Dominant lié à l'X, <i>FLNA</i>
Sd MIDAS	Aplasie dermique, microphthalmie, sclérocornée	Dominant lié à l'X, <i>HCCS</i>
Sd de Noonan	Petite taille, dysmorphie, anomalies cardiaques congénitales, cataracte, microcornée et autres DSA	AD, <i>PTPN11</i>
Nail Patella Syndrome	Onycho-ostéo-dysplasie et anomalies rénales, hypertonie et glaucome infantile	AD, <i>LMX1B</i>
Sd de Pierson	Syndrome néphrotique congénital et DSA, microcorie, microphthalmie	AR, <i>NPHS5 (LAMB2)</i>
Sd de Rubinstein Taybi	Petite taille, pouces et orteils trapus, cataracte, colobomes, GC	AD, <i>CREBBP</i>

<u>Autres anomalies</u>	<u>Glaucomes Congénitaux secondaires hérités, non malformatifs</u>	
Mucopolysaccharidoses	Pas de dysgénésie angulaire ou de malformations oculaires. Troubles métaboliques à l'origine de l'envahissement trabéculaire et du GCS.	AR, gènes nombreux
Rétinoblastome	GCS par fermeture de l'angle par poussée postérieure tumorale ou d'origine néovasculaire	AD, <i>RB1 Mutation somatique Hérité (surtout si bilatéral) ou sporadique</i>

2. Les glaucomes secondaires à des pathologies acquises

Il convient de distinguer les glaucomes congénitaux précédemment évoqués des glaucomes secondaires à une pathologie acquise, sans lien avec une anomalie de développement.

Il en existe une grande variété, comprenant entre autres :

- Les glaucomes de l'aphaque ou du pseudophaque après chirurgie de cataracte,
- Glaucomes uvéitiques (arthrite juvénile idiopathique par exemple),
- Traumatiques,
- Cortisoniques,
- Glaucomes par fermeture de l'angle, avec ou sans blocage pupillaire : ICE syndrome,
- Glaucomes néovasculaires : Rétinopathie du prématuré...

III. L'étude génétique des glaucomes

Oublions d'abord le vieil adage « 1 gène = 1 maladie » devenu obsolète.

En effet, les progrès en génétique moléculaire ont permis de constater une grande hétérogénéité des maladies héréditaires.

- **L'hétérogénéité phénotypique** d'abord :

Une même maladie peut se présenter sous différentes formes cliniques, du fait de la pénétrance incomplète, de l'expressivité variable, de l'existence de gènes modificateurs, des facteurs d'environnement...

- **L'hétérogénéité génique** :

Des gènes différents sont responsables d'une même maladie, et pour un même gène correspondent différentes pathologies, avec des modes de transmission différents.

- **L'hétérogénéité allélique** :

Différentes variations d'un même gène peuvent être responsables d'un même phénotype ou au contraire de maladies distinctes.

Plusieurs mécanismes peuvent expliquer cet apparent paradoxe. L'*épissage alternatif* par exemple : une variation génétique peut toucher certaines isoformes de la protéine, tandis que d'autres isoformes sont épargnées, ne comportant pas le domaine muté.

A. Brefs rappels fondamentaux de génétique

On considère qu'il existe 4 groupes de maladies génétiques : (70)

- Les maladies mendéliennes, dont les modes de transmission suivent les lois de Mendel.
- Les maladies mitochondriales : les femmes seulement transmettent les mitochondries pathologiques à tous leurs enfants.
- Les aberrations chromosomiques : anomalie de nombre (trisomies, microdélétions, microduplications) ou de structure (translocations).
- Les maladies à hérédité multifactorielles ou polygéniques : elles sont dues à de nombreux facteurs génétiques et d'environnement, dont l'effet individuel est faible. On parle d'hérédité polygénique « à seuil ». Les allèles impliqués ne sont pas délétères, mais confèrent une susceptibilité accrue à la maladie.

1. Les modes de transmission des maladies mendéliennes

Ils se déduisent des études familiales (analyses de ségrégation).

a. Les maladies dominantes autosomiques

Elles surviennent chez des sujets hétérozygotes pour un variant délétère. De cette union naîtra une fois sur deux un enfant atteint. Il s'agit d'un mode héréditaire facile à reconnaître car des sujets sont atteints à chaque génération.

Toutefois, un sujet malade peut naître de parents normaux par la survenue d'une « *néo mutation* ». En outre, des parents non porteurs peuvent avoir plusieurs enfants atteints du fait d'une **mosaïque gonadique** chez l'un des deux parents, qui est porteur d'un clone de cellules reproductrices mutées.

La *pénétrance* peut être incomplète (un sujet porteur du gène délétère ne présente pas la maladie) et l'*expressivité* variable (la sévérité est variable pour un même variant pathogène).

b. Les maladies récessives autosomiques

Les maladies récessives autosomiques surviennent chez des sujets homozygotes ou hétérozygotes composites pour un variant délétère. Ces maladies sont rares, mais la fréquence des hétérozygotes simples dans la population est relativement élevée.

En effet, pour certaines maladies, la fréquence allélique pour un variant délétère peut être supérieure à 1 % dans la population générale, donnant l'impression d'un mode de transmission dominant. On parle de *pseudodominance*.

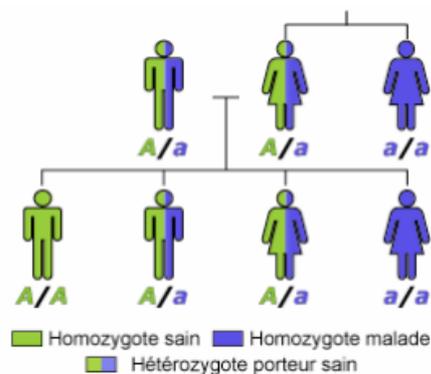


Figure 21 : Schéma de l'hérédité autosomique récessive. A chaque nouvelle conception, le risque d'un enfant malade est de $\frac{1}{4}$.(71)

c. Hérédité liée à l'X

Les maladies récessives liées à l'X se manifestent toujours chez le sujet de sexe masculin. En effet, l'état homozygote pour le variant délétère est très rare chez les femmes. Elles peuvent manifester cependant quelques signes de la maladie lorsqu'elles sont conductrices à l'état hétérozygote.

Le risque pour la descendance varie en fonction du parent porteur. **Il n'y a jamais de transmission de père à fils.**

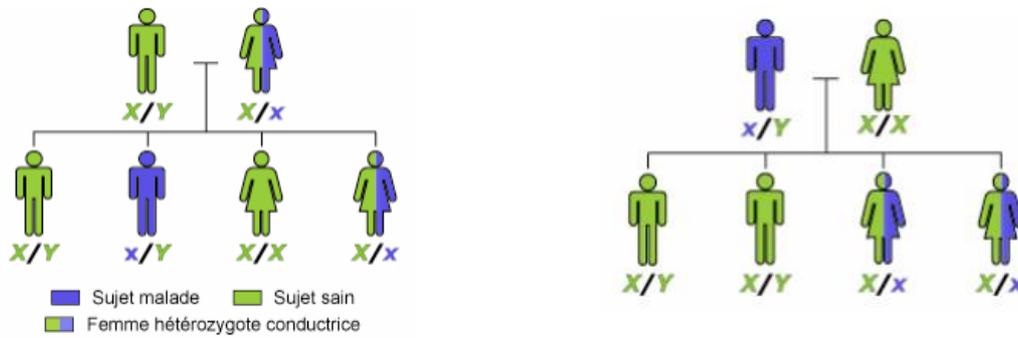


Figure 22 : *Image de gauche* : Transmission par la mère : 50% des filles sont conductrices et 50% des garçons sont atteints. *Image de droite* : Transmission par le père : 100% des filles sont conductrices et 100% des garçons sont sains (71)

Dans les maladies dominantes liées à l’X, les femmes ne sont plus seulement conductrices mais atteintes, avec une notion de pénétrance et d’expressivité variable, selon que le chromosome X porteur de l’allèle pathologique est inactivé dans un grand nombre de cellule ou non.

C’est pourquoi le phénotype reste en général plus sévère chez les hommes.

Ce phénomène d’inactivation de l’X a lieu très tôt au cours du développement, et de manière aléatoire dans chaque cellule.

d. Exceptions aux lois de Mendel

- **Variants instables :**

Ils correspondent aux expansions au fil des générations de répétitions tri nucléotidiques, entraînant une aggravation de la symptomatologie, voire un début plus précoce de la maladie. Ce dernier phénomène porte le nom d’*anticipation*.

- **Empreinte parentale :**

L’expression de certains gènes autosomiques est différente selon leur origine paternelle ou maternelle.

Pour les gènes soumis à l'empreinte (inactivation) paternelle, seul l'allèle maternel est exprimé, et inversement. *Ce fait peut expliquer la pénétrance incomplète ou l'expressivité variable de certaines maladies dominantes.*

- **Disomie uniparentale**

Exceptionnellement, les deux chromosomes d'une paire peuvent être hérités du même parent. On parle d'*hétérodisomie* en présence des deux chromosomes homologues d'un même parent, ou d'*isodosomie* s'il s'agit des deux copies d'un seul chromosome.

Ainsi, la disomie uniparentale peut expliquer des cas de transmission père-fils d'une maladie liée à l'X, de manifestation d'une maladie récessive chez un enfant dont un seul parent est hétérozygote, ou encore de développement d'une maladie liée à l'empreinte parentale.

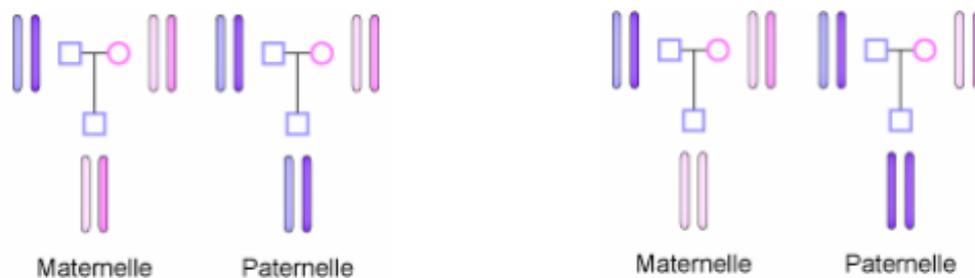


Figure 23 : Hétérodisomie (Image de gauche) et Isodisomie (Image de droite) (72)

- **Mosaïcisme lié à un variant survenu à un stade de développement précoce**

C'est une variation génétique qui s'est produite dans une des cellules de l'embryon à un stade précoce du développement.

L'individu développe deux types de cellules, porteuses ou non du variant pathogène, et peut présenter des manifestations cliniques de la maladie modérées ou localisées.

- **Hérédité digénique**

C'est la double hétérozygotie, autrement dit un allèle muté à l'état hétérozygote sur deux gènes différents. Ce mode de transmission semble minoritaire.

- **Triallélisme ou digénisme tri-allélique**

C'est l'état homozygote (ou hétérozygote composite) pour un variant d'un gène autosomique récessif, associé à un autre variant sur un 3^{ème} allèle à l'état hétérozygote.

Cette hérédité est rarement décrite mais constitue un pont entre l'hérédité mendélienne et l'hérédité polygénique, soulevant l'hypothèse de **facteurs génétiques modificateurs du phénotype**.

2. L'avènement du séquençage génétique

La première méthode de séquençage de l'ADN a été développée par le chimiste britannique *Frederick Sanger* dans les années 1970 (73), pour laquelle il a reçu le prix Nobel en 1980. Le principe était d'initier la polymérisation de l'ADN à l'aide d'une ADN polymérase, en utilisant une petite amorce oligonucléotide complémentaire du fragment d'ADN à séquencer.

Plus tard, en 1987, Kary Mullis, découvreur de la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) développe une technique capable d'amplifier des milliards de copies de fragments d'ADN en se basant sur le principe de répllication de l'ADN à l'aide d'une polymérase (74).

De 1990 à 2003, *l'Human Genome Project*, qui a pour but de séquencer l'intégralité du génome humain, a permis d'identifier 25 000 gènes (contre les 100 000 attendus par les prédictions, soit 1.2 % du génome) comprenant 18 000 exons et 3.25 milliards de bases nucléotidiques (75).

Depuis, les techniques ne cessent de se multiplier.

Des techniques de séquençages dites « à haut-débit » ou NGS (*Next Generation Sequencing*), sont développées pour dépister des variations ponctuelles ou petites insertions/délétions, ainsi que des grands réarrangements géniques (grandes insertions ou délétions de plus d'un exon), qui ne peuvent être reconnues par le séquençage Sanger (76).

Grâce à ces techniques, on peut analyser plusieurs gènes pour plusieurs patients en une seule réaction de séquençage.

D'ailleurs, l'étude entière du génome est maintenant réalisable en moins d'un jour de réaction analytique. Certains industriels envisagent même sa banalisation dans les quelques années à venir, en terme d'accès, de coût et de temps...

A ce jour, on peut décrire 3 approches de séquençage haut-débit :

- Une étude ciblée sur quelques gènes d'intérêt : on parle de *panels de gènes*,
- Une étude de l'ensemble des régions codantes du génome (exons) : *Whole Exome Sequencing*,
- Une étude de l'ensemble du génome : *Whole Genome Sequencing*.

B. Etat des lieux en France et en Europe

Actuellement en France, l'analyse des GCPI s'intègre dans des grands panels d'étude des glaucomes congénitaux associés à des dysgénésies oculaires.

Il n'y a plus d'analyse ciblée proposée des gènes *CYP1B1*, *LTBP2* ou *TEK*.

D'autre part, le gène *MYOC* n'est pas analysé en France, mais dans d'autres pays voisins en Europe.

Deux laboratoires en France réalisent ces analyses :

- A l'Hôpital Necker à Paris : « Panel du diagnostic de l'aniridie et de la dysgénésie oculaire » (51 gènes)
- Au CHU de Toulouse : « Panel du diagnostic des pathologies du développement oculaire » (24 gènes)

	Liste des maladies associées	Liste des gènes étudiés (<i>figurent en gras les gènes communs aux deux panels</i>)
Panel NGS Paris	Aniridie isolée Syndrome d'Axenfeld-Rieger Anomalie de Peters, Peters plus Aphakie primaire congénitale Glaucome congénital Glaucome secondaire à une sphérophakie/ectopie du cristallin et mégalocornée Microphthalmie-anophthalmie-colobome isolée Mégalocornée isolée congénitale Nanophthalmie	<i>ABCB6</i> , <i>ADAMTS10</i> , <i>ADAMTS17</i> , <i>ADAMTS9</i> , <i>ADAMTSL4</i> , <i>ALDH1A3</i> , <i>ATOH7</i> , <i>B3GLCT</i> , <i>BMP4</i> , <i>BMP7</i> , <i>C12ORF57</i> , <i>CHRD1</i> , <i>COL4A1</i> , <i>COL4A2</i> , <i>CYP1B1</i> , <i>FOXC1</i> , <i>FOXE3</i> , <i>FRMD7</i> , <i>GDF3</i> , <i>GDF6</i> , <i>GJA1</i> , <i>HMX1</i> , <i>LTBP2</i> , <i>MAB21L2</i> , <i>MAF</i> , <i>MFRP</i> , <i>MITF</i> , <i>MSX2</i> , <i>OTX2</i> , <i>PAX6</i> , <i>PITX2</i> , <i>PITX3</i> , <i>PRSS56</i> , <i>PXDN</i> , <i>RARB</i> , <i>RAX</i> , <i>RBP4</i> , <i>SALL2</i> , <i>SIX6</i> , <i>SMOC1</i> , <i>SOX1</i> , <i>SOX2</i> , <i>STRA6</i> , <i>TEK</i> , <i>TENM3</i> , <i>TFAP2A</i> , <i>TMEM98</i> , <i>TRIM44</i> , <i>VAX1</i> , <i>VSX2</i> , <i>YAP1</i> .
Panel NGS Toulouse	Même spectre de pathologies	<i>ALDH1A3</i> , <i>B3GLCT</i> , <i>BCOR</i> , <i>C12ORF57</i> , <i>CYP1B1</i> , <i>FOXC1</i> , <i>FOXE3</i> , <i>MAB21L2</i> , <i>MFRP</i> , <i>OTX2</i> , <i>PAX2</i> , <i>PAX6</i> , <i>PITX2</i> , <i>PITX3</i> , <i>PRSS56</i> , <i>PXDN</i> , <i>RARB</i> , <i>RAX</i> , <i>SIX6</i> , <i>SMOC1</i> , <i>SOX2</i> , <i>STRA6</i> , <i>TENM3</i> , <i>VSX2</i> .

En Europe, la plupart des analyses proposées ciblent le séquençage de *CYP1B1*, *LTBP2*, *TEK*, *MYOC* et les gènes connus des glaucomes de l'adulte, qui peuvent donner des formes juvéniles : *ASB10* (GLC1F), *NTF4* (GLC1O), *OPTN* (GLC1E) et *WDR36* (GLC1G).

Des panels sont aussi réalisés, dont un à Madrid (*Hereditary Glaucoma*), pour lequel les gènes *BEST1* (77) (78), *CANT1* et *SBF2* (79) (80) sont également séquencés.

D'autres panels réalisés en Allemagne incluent de très nombreux gènes de développement (382 gènes).

Aux Pays Bas, le diagnostic moléculaire est proposé par séquençage exomique complet (*Molecular Diagnosis of Vision Disorders, WES*).

C. Enjeux et objectifs de notre étude

Dans le cadre du PHRC-N dédié à l'analyse des enfants atteints de GCPI en France, nous avons développé notre propre méthode de recherche par séquençage haut-débit des variations génétiques pouvant être impliquées dans cette population.

Les principaux objectifs de notre étude, qui vise à identifier une cause génétique, sont de :

- Pouvoir donner des informations aux familles sur l'origine de la maladie.
- Enrichir les données épidémiologiques sur la proportion des glaucomes congénitaux hérités, et la fréquence des gènes retrouvés.
- Discuter de l'imputabilité de nouveaux gènes identifiés dans notre nouveau panel.
- Etudier les corrélations génotype-phénotype.
- Isoler des gènes ou des variants de mauvais pronostic.
- Evaluer la pertinence du panel d'essai au sein de la population d'intérêt, l'améliorer secondairement en vue d'une poursuite des investigations dans le cadre du PHRC et au-delà.
- Pouvoir mettre en place un suivi médical adapté : certains gènes pouvant être impliqués dans des formes syndromiques, il sera possible de surveiller l'apparition de certains signes et d'organiser une prise en charge pédiatrique spécialisée.
- Permettre des consultations de conseil génétique, afin d'évaluer le risque de récurrence pour les enfants à venir.
- Dans certains cas, la possibilité d'un diagnostic prénatal ou préimplantatoire sera discutée.
- Mieux aborder encore les mécanismes physiopathologiques liés aux gènes étudiés, qui permettra à l'avenir d'envisager de nouveaux horizons thérapeutiques (thérapie génique, biothérapie, thérapie cellulaire... ?).

METHODE

I. Présentation du PHRC-N « CONGLAU »

L'étude CONGLAU est une étude de cohorte prospective épidémiologique et multicentrique sur une population des cas incidents de GCPI en France.

A. Plan expérimental

L'ensemble des sites prenant en charge les patients atteints de glaucomes congénitaux en France ont été associés à notre étude au départ. Cependant, 4 centres n'ont pas ouvert : Nice, Nancy, Montpellier et le centre ophtalmologique des Quinze-Vingts à Paris.

La participation à cette étude est donc proposée à tous les enfants français pour lequel il existe une suspicion de glaucome congénital, hormis pour ces quatre centres. Les centres investigateurs sont au nombre de 26 au total (Annexe 8).

Une cohorte quasi exhaustive de patients présentant un glaucome congénital sera ainsi constituée.

Ainsi, ont été inclus sur une durée de 4 ans tous les patients pour lesquels la suspicion de glaucome congénital a mené à un examen sous anesthésie générale. Seuls les patients pour lesquels le diagnostic de glaucome congénital a été confirmé ont été par la suite suivis au long cours.

Un cahier d'observation anonymisé (Annexes 5 et 6) rigoureusement consigné par les membres investigateurs pour l'ensemble de la prise en charge et du suivi est demandé.

L'ensemble de ces données sont consultables par l'investigateur principal sur la plateforme numérique *Ennov Clinical* dédiée aux rapports de cas (*e-crf, electronic case report forms*).

B. Objectifs de la recherche

1. Objectif principal

Mise en évidence d'une relation entre l'âge au diagnostic et l'acuité visuelle à l'âge de 4 ans des yeux atteints de glaucome congénital.

2. Objectifs secondaires

- Evaluation du pronostic des yeux atteints de glaucome congénital en termes d'acuité visuelle et de pression intraoculaire. Etude de l'intégration scolaire et sociale des sujets.
- Etude de facteurs pronostiques :
 - Délais de prise en charge,
 - Type de glaucome congénital,
 - Gravité du tableau initial,
 - Type de chirurgie réalisée.
- Etude épidémiologique :
 - Incidence des glaucomes congénitaux en France,
 - Circonstance de découverte (premiers signes, personne à l'origine de la découverte, médecin consulté en premier),
 - Description de la population étudiée (sexe, antécédents familiaux, type d'hérédité, âge à la découverte du diagnostic).
- Etat des lieux de la prise en charge des glaucomes congénitaux en France : étude du suivi, de la prise en charge médicale, chirurgicale et orthoptique.

- **Réalisation d'une DNathèque** : constitution d'une base de prélèvements pour réalisation de génotypage dans le cadre de la recherche des gènes responsables des glaucomes congénitaux. Etude des relations phénotypes/génotypes. Recherche d'un impact pronostique et thérapeutique.

C. Critères d'inclusion et de non inclusion

1. Critères d'inclusion

- Garçons ou filles âgés de moins de 4 ans.
- Français ou résidant en France (pour comparaison avec les données INSEE).
- Pour lesquels la suspicion d'un glaucome congénital conduit à la réalisation d'un examen ophtalmologique sous anesthésie générale.
- Obtention d'un formulaire de consentement éclairé, daté, et signé des parents ou du représentant légal documentant qu'il(s) a/ont été informé(s) de tous les aspects de l'étude.
- Obtention du consentement oral de l'enfant si ce dernier est en âge de comprendre.
- Etre ayant droit d'assuré social.

2. Critères de non-inclusion

- Absence de suspicion de glaucome congénital.
- Patient ayant déjà bénéficié d'une intervention pour prise en charge d'un glaucome congénital.
- Refus de participer de l'enfant ou de ses parents.

3. Critères d'exclusion

Patients pour lesquels au terme de l'examen initial sous AG le diagnostic de glaucome congénital n'est pas retenu. Le diagnostic différentiel posé est alors consigné dans le cahier d'information et le suivi du patient est alors assuré normalement par l'équipe soignante.

4. Durée de l'étude

- Durée de la période d'inclusion : 8 ans, débutée en avril 2013.
- Durée de la participation à l'étude pour un sujet : résultat de l'objectif principal à l'âge de 4 ans, il est ensuite prévu de suivre au long cours les patients sans restriction de temps.
- Durée de la recherche : 12 ans, pour l'objectif principal.

D. Collection biologique

Pour chaque sujet inclus, un prélèvement sanguin de 2 x 2.5 mL sur tube EDTA est réalisé après signature parentale du consentement à la recherche biomédicale (Annexe 7). Les prélèvements anonymisés sont acheminés dans un délai de 4 heures à la structure qui en assurera la conservation sur site, à -80°C.

Plus tard, le rapatriement vers le Centre de Ressources Biologiques du CHU de Lille est dévolu à un transporteur agréé afin d'en assurer la cryoconservation.

Le stockage et la centralisation des produits biologiques sont ainsi coordonnés par le CRB, grâce à un logiciel de gestion qui permet une traçabilité rigoureuse de chaque échantillon (Databiotec®). La température de stockage est contrôlée par des enregistrements continus et un congélateur de secours est disponible afin de pallier rapidement à toute panne.

L'extraction de l'ADN est réalisée sur place, dans le service de Biologie Moléculaire à Lille, qui est chargée de la recherche biomédicale résultante.

A terme, si des éléments subsistent jusqu'à ce que le sujet atteigne sa majorité, ce dernier sera recontacté et il lui sera demandé de signer un nouveau consentement. La collection et les éléments subsistants après analyse seront déclarés auprès du Ministère en charge de la Recherche, et intégrés à la déclaration d'activités de conservation d'éléments biologiques humains à visée scientifique du CHU de Lille.

II. Mise au point du panel Lillois

A. Choix des gènes étudiés

Pour ce travail, nous avons choisi de travailler en panel de gènes.

De première intention, une étude exhaustive semblait préférable, afin de pouvoir étudier une plus grande partie du génome et donc augmenter nos chances de trouver une anomalie génétique impliquée dans la pathologie du patient.

De surcroît, le nombre de patients à analyser étant raisonnable, il n'y avait pas de réelle limite imposée par crainte de diminuer la couverture ou la profondeur des analyses.

Nous avons établi une première sélection de gènes à étudier, fréquemment impliqués dans les glaucomes congénitaux primitifs isolés et associés aux dysgénésies du segment antérieur. Afin de ne pas méconnaître un éventuel digénisme, comme décrit pour le gène *MYOC*, nous avons décidé d'inclure dans le panel d'étude **les gènes mis en cause dans le GPAO de l'adulte.**

En outre, comme énoncé précédemment, nous avons fait le choix de considérer les GCP et les GC secondaires comme une « même entité génétique » éventuelle, portant sur la cascade de gènes de développement lors de l'embryogenèse.

De ce fait, ont été inclus dans notre panel les syndromes connus pour être associés à des malformations oculaires pouvant se compliquer de glaucome secondairement (tableau des glaucomes héréditaires secondaires, pages 48-49).

Dans ce sens, nous avons sélectionné certains gènes des panels français et européens se rapportant au spectre étendu des dysgénésies oculaires.

De surcroît, nous avons réalisé une analyse bibliographique étendue.

D'après les études de séquençage pangénomique notamment ((68) (81) (82) (83) (84) (85)), nous avons inclus de manière large l'ensemble des gènes qui pouvaient être incriminés, de près ou de loin, dans la genèse des glaucomes congénitaux.

150 gènes composent ainsi notre panel d'essai lillois, dont 3 appartenant au génome mitochondrial (*MT-CO2*, *MT-ND1* et *MT-ND2*).

Gène	Phénotype	Hérédité	Chromosome	Transcrit majeur	OMIM
ABCB6	Colobomes	AD	2q35	NM_005689.3	605452
ACVR1C	GCPI	NC	2q24.1	NM_145259.2	608981
ADAMTS10	Weill Marchesani	AR	19p13.2	NM_030957.3	608990
ADAMTS17	Weill Marchesani	AR	15q26.3	NM_139057.3	607511
ADAMTSL1	GCS, DSA	AR	9p22.2-p22.1	NM_001040272.5	609198
ADAMTSL3	GCPI	NC	15q25.2	NM_207517.2	609199
ADAMTSL4	Ectopie cristallinienne et DSA	AR	1q21.2	NM_019032.5	610113
ALDH1A3	Anophtalmie, microphthalmie	AR	15q26.3	NM_000693.3	600463
ANO7	GCPI	NC	2q37.3	NM_001001891.3	605096
ASB10	GAOJ et GPAO	AD	7q36.1	NM_001142459.1	615054
ATOH7	Hyperplasie du vitré Primitif <i>"Aniridie et dysgénésie oculaire"(Necker)</i>	AR	10q21.3	NM_145178.3	609875
B3GALTL (B3GLCT)	Peters plus	AR	13q12.3	NM_194318.3	610308
B3GNT1 (B4GAT1)	Syndrome de Walker-Warburg et DSA	AR	11q13.2	NM_006876.2	605517
BCOR	OFCD (Syndrome oculo-facio-cardio-dentaire)	Dom lié à l'X	Xp11.4	NM_017745.5	300485
BEST1	DSA	AR, AD	11q12.3	NM_004183.3	607854
BMP4	DSA	AD	14q22.2	NM_001202.5	112262
BMP7 (86)	<i>Expression trabéculaire dans études fondamentales</i>	AD	20q13.31	NM_001719.2	112267
BNIP2	Glaucome syndromique	NC	15q22.2	NM_004330.3	603292
BRMS1	GCPI	NC	11q13.2	NM_015399.3	606259
BTA1F1	GCPI	NC	10q23.32	NM_003972.2	605191
C12ORF57	DSA	AR	12p13.31	NM_138425.3	615140
CANT1	Dysplasie de Desbuquois et GAOJ	AR	17q25.3	NM_138793.3	613165
CCT5	Glaucome syndromique	AR	5p15.2	NM_012073.4	610150
CHRDL1	Mégalocornées liée à l'X	Réc lié à l'X	Xq23	NM_001143981.1	300350
CHX10 (VSX2)	DSA	AR	14q24.3	NM_182894.2	142993
COL18A1	GAOJ	AD, AR	21q22.3	NM_130445.3	120328
COL4A1	DSA	AD	13q34	NM_001845.5	120130
COL8A2	Dystrophie postérieure polymorphe	AD	1p34.3	NM_005202.3	120252
CPAMD8	DSA	AR	19p13.11	NM_015692.3	608841
CREBBP	Syndrome de Rubinstein-Taybi	AD	16p13.3	NM_004380.2	600140
CRYAA	Cataracte congénitale et DSA	AD, AR	21q22.3	NM_000394.3	123580
CRYBA4	Cataracte congénitale et DSA	AD	22q12.1	NM_001886.2	123631
CRYGB	Cataracte congénitale et DSA	AD, AR	2q33.3	NM_005210.3	123670
CRYGC	Cataracte congénitale et DSA	AD	2q33.3	NM_020989.3	123680
CRYGD	Cataracte congénitale	AD	2q33.3	NM_006891.3	123690
CSNK2A2	GCPI	NC	16q21	NM_001896.3	115442
CYP1B1	GCPI	AR	2p22.2	NM_000104.3	601771
DEM1 (EXO5)	GCPI	NC	1p34.2	NM_022774.2	618601
EGR-α (KLF10)	Candidat pour le locus GLC1D (87)	NC	8q22.3	NM_005655.3	601878
ELL3	Glaucome syndromique	NC	15q15.3	NM_025165.2	609885
EYA1	DSA	AD	8q13.3	NM_000503.5	601653
FAM120A	GCPI	NC	9q22.31	NM_014612.4	612265
FAM120AOS	GCPI	NC	9q22.31	NM_198841.3	-

FBN1	Weill Marchesani	AD	15q21.1	NM_000138.4	134797
FGFR2	Syndrome de Crouzon ou Pfeiffer + Peters associé	AD	10q26.13	NM_000141.4	176943
FKHR (FOXC1A) (FOXC1) (88)	<i>Etude fondamentale : réduction de l'expression de FOXC1 entraîne une diminution de l'expression de FKHR dans des cellules trabéculaires en culture</i>	NC	13q14.11	NM_002015.4	136533
FLNA	Syndrome de Melnick-Needles et DSA	Réc ou Dom lié à l'X	Xq28	NM_001456.3	300017
FNBP4	Microphthalmie, DSA	AR	11p11.2	NM_015308.4	615265
FOXC1	GCPI avec ou sans DSA	AD	6p25.3	NM_001453.2	601090
FOXC2	GCPI	AD	16q24.1	NM_005251.2	602402
FOXE3	DSA	AD, AR	1p33	NM_012186.2	601094
FRMD7	"Aniridie et dysgénésie oculaire"(Necker)	Lié à l'X	Xq26.2	NM_194277.2	300628
FXN	Ataxie de Friedreich et glaucome congénital	AR	9q21.11	NM_000144.4	606829
GAL3ST3	GCPI	NC	11q13.1	NM_033036.2	608234
GATA6	GCPI	NC	18q11.2	NM_005257.5	601656
GDF3	Syndrome de Klippel-Feil, DSA	AD	12p13.31	NM_020634.2	606522
GDF6	Syndrome de Klippel-Feil, DSA	AD, AR	8q22.1	NM_001001557.3	601147
GJA1	Dysplasie oculodentodigitale et GCS	AD, AR	6q22.31	NM_000165.4	121014
GJA8	DSA	AD	1q21.2	NM_005267.4	600897
GLIS3	GCPI	AR	9p24.2	NM_152629.3	610192
GNAQ	Sturge Weber Krabbeet	Variant somatique	9q21.2	NM_002072.4	600998
GNB5	GCPI	AR	15q21.2	NM_016194.3	604447
GPATCH3	GCPI	NC	1p36.11	NM_022078.2	617486
GPR12	GCPI	NC	13q12.13	NM_005288.3	600752
HCCS	Syndrome MIDAS et DSA	Dom lié à l'X	Xp22.2	NM_005333.4	300056
HEY1	GCPI	NC	8q21.13	NM_012258.3	602953
HMX1	DSA	AR	4p16.1	NM_018942.2	142992
JAG1	Syndrome d'Alagille et DSA	AD	20p12.2	NM_000214.2	601920
LMX1B	Nail Patella Syndrome et glaucome	AD	9q33.3	NM_002316.3	602575
LOXL1	Glaucome exfoliatif	AD	15q24.1	NM_005576.3	153456
LRRC4	GCPI	NC	7q32.1	NM_022143.4	610486
LTBP2	GCPI et DSA	AR	14q24.3	NM_000428.2	602091
MAB21L2	DSA	AD, AR	4q31.3	NM_006439.4	604357
MAF	DSA	AD	16q23.2	NM_005360.4	177075
MAFA	GCP ou secondaire	AD	8q24.3	NM_201589.3	610303
MAP6	GCPI	NC	11q13.5	NM_033063.1	601783
MFRP	DSA	AR	11q23.3	NM_031433.3	606227
MITF	COMMAD (colobome, ostéopétrose, microphthalmie, macrocéphalie, albinisme et surdité) + DSA	AD, AR	3p13	NM_000248,3	156845
MSX2	DSA	AD	5q35.2	NM_002449.4	123101
MTMR13 (SBF2)	Maladie de Charcot-Marie-Tooth et GC	AR	11p15.4	NM_030962.3	607697
MYOC	Digénisme GCPI, GPAO	AD	1q24.3	NM_00261.1	601652
NDP	Maladie de Norrie et DSA	Réc ou Dom lié à l'X	Xp11.3	NM_000266.3	300658
NF1	Neurofibromatose	AD	17q11.2	NM_000267,3	613113
NPHS1	Syndrome néphrotique et GC syndromique	AR	19q13.12	NM_004646.3	602716

NPHS5 (LAMB2)	Syndrome de Pierson et DSA	AR	3p21.31	NM_002292.3	150325
NTF4	GAOJ et GPAO	AD	19q13.33	NM_006179.4	162662
OCRL1	Syndrome de Lowe et GCS	Réc lié à l'X	Xq26.1	NM_000276,3	300535
OPA1	<i>Diagnosis of congenital glaucoma and primary adult open-angle glaucoma (panel Barcelone)</i>	AD, AR	3q29	NM_015560.2	605290
OPA3	<i>Diagnosis of congenital glaucoma and primary adult open-angle glaucoma (panel Barcelone)</i>	AD, AR	19q13.32	NM_025136.3	606580
OPA7	<i>Diagnosis of congenital glaucoma and primary adult open-angle glaucoma (panel Barcelone)</i>	AR	11q14.1	NM_032273.3	612988
OPTN	GAOJ, GPAO, GPN	AD	10p13	NM_021980.4	602432
OTX2	Anophtalmie et DSA	AD	14q22.3	NM_172337.2	600337
PAX2	Syndrome rein-colobome	AD	10q24.31	NM_003987.4	167409
PAX6	DSA	AD	11p13	NM_000280.4	607108
PGAM5	GCPI	NC	12q24.33	NM_001170543.1	614939
PHIP	GCPI	AD	6q14.1	NM_017934.6	612870
PITX2	GCPI +- DSA	AD	4q25	NM_153427,2	601542
PITX3	DSA	AD, AR	10q24.32	NM_005029.3	602669
PLD4	Variant rare	NC	14q32.33	NM_001308174.1	618488
POMGNT1	Syndrome de Walker-Warburg et DSA	AR	1p34.1	NM_017739,3	606822
POMT1	Syndrome de Walker-Warburg et DSA	AR	9q34.13	NM_007171,3	607423
POMT2	Syndrome de Walker-Warburg et DSA	AR	14q24.3	NM_013382.5	607439
PRPH	GC et phénotype complexe général rapporté (79)	AD, AR	12q13.12	NM_006262.3	170710
PRSS56	Nanophtalmie et DSA	AR	2q37.1	NM_001195129.1	613858
PTPN11	Syndrome de Noonan et DSA	AD	12q24.13	NM_002834,4	176876
PXDN	DSA	AR	2p25.3	NM_012293.2	605158
RAD54B	GCPI	NC	8q22.1	NM_012415.3	604289
RARB	PDAC syndrome : Pulmonary hypoplasia, diaphragmatic hernia, anophtalmia/microphtalmia, cardiac defect	AD, AR	3p24.2	NM_000965.4	180220
RAX	Microphtalmie, anophtalmie	AR	18q21.32	NM_013435.2	601881
RBP4	Microphtalmie, anophtalmie	AD, AR	10q23.33	NM_006744.3	180250
RNASEH2C	Syndrome Aicardi Goutières et GCS	AR	11q13.1	NM_032193.3	610330
SALL2	DSA	AR	14q11.2	NM_005407.2	602219
SH3PXD2B	Syndrome de Frank-Ter Haar et GC	AR	5q35.1	NM_001017995.2	613293
SHH	Microphtalmie, anophtalmie	AD	7q36.3	NM_000193.3	600725
SIX6	DSA	AR	14q23.1	NM_007374.2	606326
SLC4A11	CHED2	AR, AD	20p13	NM_032034.3	610206
SLC4A3	GCPI	NC	2q35	NM_201574.2	106195
SLC4A4	GAOJ	AR	4q13.3	NM_003759.3	603345
SMAD7 (89)	<i>Etudes fondamentales, expression trabéculaire et atténuée la voie de signalisation TGF Beta</i>	NC	18q21.1	NM_005904.3	602932
SMOC1	Microphtalmie avec anomalies des membres	AR	14q24.1	NM_001034852.2	608488
SND1	GCPI	NC	7q32.1	NM_014390.3	602181
SOX1	<i>Microphtalmie chez les souris homozygotes (90), Panel Dysgénésie oculaire et aniridie (Necker)</i>	NC	13q34	NM_005986.2	602148
SOX2	Microphtalmie, anophtalmie	AD	3q26.33	NM_003106.3	184429
STRA6	Microphtalmie, anophtalmie	AR	15q24.1	NM_022369.3	610745
SYND2 (SDC2)	candidate pour le locus GLC1D (87)	NC	8q22.1	NM_002998.3	142460

TAL1	GCPI	NC	1p33	NM_003189.5	187040
TAS1R2	GC et phénotype complexe général rapporté (79)	NC	1p36.13	NM_152232.2	606226
TBK1	GPAO ou GPN précoce et sévère	AD	12q14.2	NM_013254.3	604834
TCF7L2	GCPI	AD	10q25.2	NM_030756.4	602228
TECTA	GCPI	AD, AR	11q23.3	NM_005422.2	602574
TEK	GCPI	AD	9p21.2	NM_000459.4	600221
TENM3	DSA	AR	4q34.3-q35.1	NM_001080477.3	610083
TFAP2A	Syndrome branchio-oculo-facial (BOFS) et DSA	AD	6p24.3	NM_003220.2	107580
TGFBeta2	DSA	AD	1q41	NM_003238.4	190220
TNFAIpha	GPAO, GCP (facteurs de risques ?)	AD	6p21.33	NM_000594.3	191160
TREX1	Syndrome Aicardi Goutières et GCS	AD, AR	3p21.31	NM_033629.5	606609
TRPM3	Syndrome de Kabuki et DSA	AD	9q21.12-q21.13	NM_020952.4	608961
TYR (91) (92)	<i>Etudes fondamentales : Chez les souris cyp1b1^{-/-}, le déficit en TYR aggrave la dysgénésie antérieure en regard du trabéculum et du canal de Schlemm</i>	AR, AD	11q14.3	NM_000372.4	606933
VAX1	DSA	AR	10q25.3	NM_001112704.1	604294
VSX1	DPP	AD	20p11.21	NM_014588.5	605020
WDR36	GPAO et GAOJ	AD	5q22.1	NM_139281.2	609669
WFS1	Wolfram Syndrome +- DSA et GC	AR, AD	4p16.1	NM_006005.3	606201
XKR4	GCPI	NC	8q12.1	NM_052898.1	-
XYLT1	GC et phénotype complexe général rapporté (79)	AR	16p12.3	NM_022166.3	608124
YAP1	DSA	AD	11q22.1	NM_001130145.2	606608
ZEB1	DPP	AD	10p11.22	NM_030751.5	189909
ZNRF1	GCPI	NC	16q23.1	NM_032268.4	612060
MT-CO2 (93) (94)	GCP	mitochondrial		NC_012920.1	516040
MT-ND1 (94) (95)	GCP, atrophie optique de Leber	mitochondrial		NC_012920.1	516000
MT-ND2 (93) (94) (95)	GCP, atrophie optique de Leber	mitochondrial		NC_012920.1	516001

B. Choix de la technique

Plusieurs techniques de séquençage à haut-débit sont disponibles au CHU de Lille, notamment le **séquençage par synthèse d'Illumina**.

Cette technologie utilise l'amplification clonale et le séquençage par synthèse. Ce processus vise à déterminer la séquence d'ADN en identifiant directement les bases nucléotidiques qui sont incorporées au brin en cours de synthèse, grâce à un signal fluorescent unique.

C'est cette technique que nous avons choisie d'utiliser pour l'analyse de notre panel.

En plus de présenter un taux d'erreur très faible, cette technique a l'avantage d'être la plus utilisée par la communauté scientifique, ce qui permet un accès plus étendu aux outils d'interprétation.

Par ailleurs, le pôle de Biologie Pathologie Génétique de Lille a à sa disposition 3 séquenceurs Illumina, 2 *MiSeq* et 1 *NextSeq550*, qui permettront d'adapter les tailles des séries au vu du grand panel à analyser.

NextSeq, par exemple, sera capable de supporter de plus grandes séries entre 24 et 96 échantillons.

Pour la préparation de la bibliothèque d'ADN, c'est le **système d'enrichissement de cible *HaloPlex (Société Agilent)*** basé sur l'utilisation d'amplicons, que nous avons choisi d'utiliser. Il a l'avantage d'être bien maîtrisé, facile d'utilisation, avec un temps de préparation rapide qui demande peu d'ADN.

C. Design du Panel

Le panel a été désigné à l'aide de la plateforme *SureDesign* de la société *Agilent*.

Une couverture globale des régions d'intérêt de 99.7 % était annoncée avec des fragments de 150 paires de bases, pour un total de 22 259 amplicons.

Dans le cadre du PHRC-N, un budget de 30 000 euros a été dispensé pour ces analyses.

III. Réalisation technique d'une série

A. Extraction de l'ADN

L'ADN leucocytaire est extrait de manière automatisée (*robot Hamilton Chemagic Star*) à partir des échantillons prélevés sur EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique).

Un premier tampon de fixation permet la lyse des membranes leucocytaires et la dégradation des protéines grâce à une protéinase.

Un second tampon permet l'accrochage de l'ADN sur des billes magnétiques, qui seront ensuite précipitées à l'éthanol pour rompre les liaisons et en extraire l'ADN concentré.

Pour éliminer les traces de phénol, on peut pratiquer à la fin du processus une étape de purification par chromatographie.

L'ADN ainsi extrait est quantifié grâce à la spectrophotométrie (*Dropsens*), qui permet également de contrôler la pureté des acides nucléiques.

B. Préparation de la librairie (96)

Pour que chaque échantillon soit séquencé, une « bibliothèque individuelle » est préparée grâce au kit d'enrichissement *Haloplex (société Agilent)*.

Cette étape consiste à prétraiter les échantillons avant le séquençage, afin de capturer des régions géniques d'intérêt et de lier divers oligonucléotides utiles à la réaction de séquençage.

On différencie ainsi plusieurs étapes successives (figure 24) :

- Digestion de l'ADN par des enzymes de restriction
- Hybridation sélective des fragments avec les sondes Haloplex conçues pour reconnaître les régions souhaitées par complémentarité.

Ces sondes contiennent des motifs nucléotidiques utiles au séquençage : code-barres d'identification patient, biotine pour la capture d'ADN, amorces de séquençage et adaptateurs pour reconnaître la *flow cell (support matériel où se réalisera la réaction du séquençage)*.

- « Circularisation » du fragment d'ADN reconnu à ses deux extrémités par la sonde, et intégration du motif de la sonde dans le fragment.
- Capture de la biotine des fragments hybridés par des billes aimantées de streptavidine.
Les fragments non hybridés, sans intérêt, sont éliminés.
- Ajout d'une ADN ligase pour obtenir de nouveau une « circularisation » du fragment capturé.
- Amplification par PCR des fragments circulaires à l'aide de *primers universels*.
- Purification de l'ADN et quantification des produits de PCR.
- Normalisation de la librairie, de façon à ce que les concentrations des différents échantillons soient sensiblement identiques.

En effet, en cas de déséquilibre important au sein d'une même librairie, les patients sous représentés ne seront pas correctement séquencés.

- Enrichissement des produits finaux avec des adaptateurs de *flow cell* pour permettre la future amplification par « *Bridge PCR* » (figure 26).

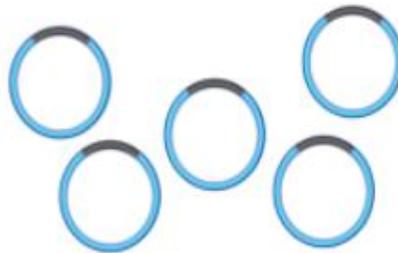
1) Digest genomic DNA.



2) Hybridize the HaloPlex probe library in presence of the Indexing Prime Cassette. Hybridization results in gDNA fragment circularization and incorporation of indexes and Illumina sequencing motifs.



3) Capture target DNA-probe hybrids. Biotinylation of probe DNA allows capture using streptavidin-coated magnetic beads.



4) PCR amplify targeted fragments to produce a sequencing-ready, target-enriched sample.

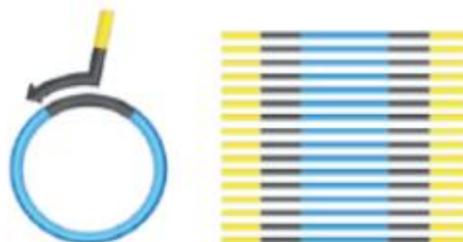


Figure 24 : Schématisation de la technique Haloplex (96).

Etape 1 : Digestion de l'ADN ; 2 : Hybridation des sondes ; 3 : Purification 4 : Amplification par PCR.



Figure 25 (96): Amplicon final avec fragment d'ADN cible (en bleu, 50 à 500 pb), entouré d'amorces de séquençage (en noir, 125 pb). En rouge est représenté le code-barres d'identité du patient. En jaune, les amorces (adaptateurs de flow cell) pour l'amplification par Bridge PCR (Illumina).

C. Amplification par « Bridge PCR »

Cette étape se déroule dans le séquenceur Illumina, de manière automatisée (figure 26).

Elle a pour objectif de former des clusters de plusieurs exemplaires du même brin d'ADN afin de visualiser l'insertion progressive des bases lors de la réaction de séquençage.

- Pour commencer, les amplicons vont s'hybrider aux oligonucléotides qui sont parsemés sur la *flow cell*, complémentaires des adaptateurs ajoutés au brin d'ADN lors de l'étape de préparation.
- Un brin complémentaire est néo synthétisé à partir de l'amorce disposée sur la *flow cell*. Le brin natif est dénaturé.
- Ce brin va se replier « en pont » pour que son autre extrémité s'hybride avec le nucléotide adjacent disposé sur la *flow cell*, d'où le nom de « *Bridge PCR* ».
- En résulte deux brins natifs et complémentaires d'ADN liés de façon covalente à la *flow cell*.

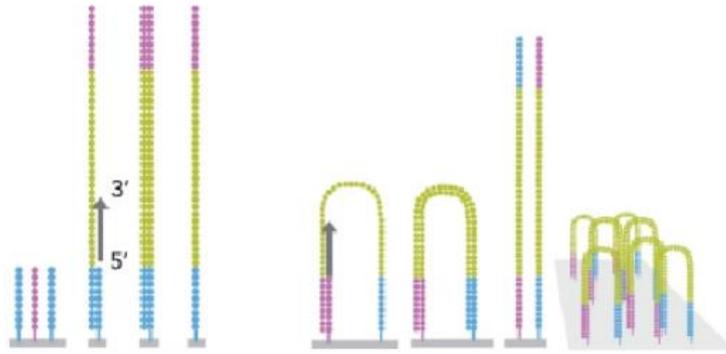


Figure 26 : Schématisation d'amplification par « Bridge PCR » (97)

Cette étape sera répétée plusieurs fois, ce qui permettra de générer de nombreux exemplaires des deux brins d'ADN.

A la fin du processus, seuls les brins natifs sont gardés, les brins complémentaires sont éliminés par clivage. C'est ce qu'on appelle un *cluster*.

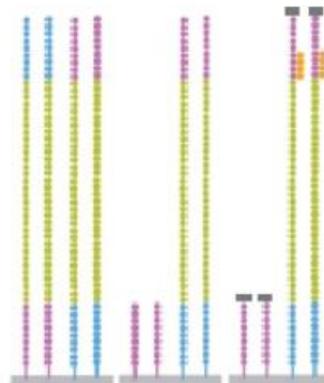


Figure 27 : Clivage des brins complémentaires (extrémité 5' en rose). Constitution du cluster prêt pour le séquençage avec hybridation d'une amorce (en orange). (97)

D. Séquençage (98)

1. Principe

Une fois les *clusters* en place, l'étape de séquençage par synthèse du brin complémentaire débute. La première étape consiste à hybrider une amorce universelle de séquençage aux brins fixés à la *flow cell*. La réaction ensuite se déroule par cycle.

A chaque cycle, on réalise à la suite de l'amorce l'extension d'une base par des nucléotides marqués par fluorescence. Il est possible de savoir quelle base a été intégrée pour chaque cluster grâce à la longueur d'onde spécifique pour chaque fluorophore.

A la fin du cycle, un clivage chimique s'opère au niveau du marquage fluorescent, qui permet de libérer l'ADN pour le cycle suivant.

Les cycles se succèdent jusqu'à séquençage de l'intégrité du brin d'ADN fixé sur la *flow cell*.

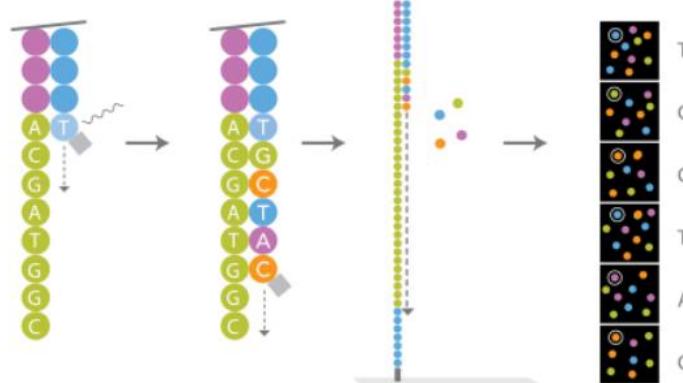


Figure 28 : Schématisation du séquençage par synthèse (97)

2. Couverture et profondeur

- La « **profondeur de lecture** » (en « X », ou « *reads* ») est le nombre de séquences indépendantes obtenues pour une position donnée.
- La « **couverture** » (en %) représente le nombre total de bases séquencées par rapport au nombre total de bases ciblées. En pratique, on considère une zone couverte si elle est associée à une profondeur d'au moins 30 *reads*.
- Le **pourcentage de recouvrement du variant** représente le nombre de *reads* pour lequel le variant a été trouvé par rapport au nombre total de *reads*.

Pour un variant hétérozygote, le pourcentage de recouvrement est en théorie de 50%. Pour un variant homozygote il est de 100%.

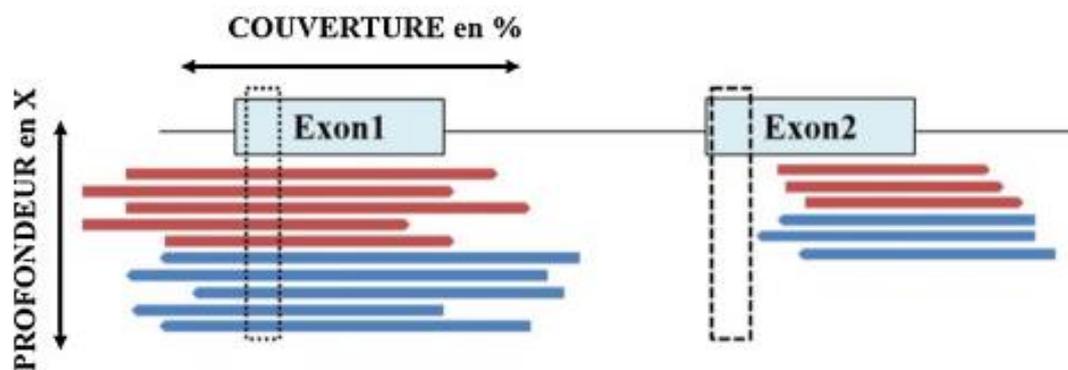


Figure 29 : Les boîtes rouges et bleues sont les brins sens et anti sens, synthétisés simultanément.

L'exon 1 est couvert à 100 %, et la partie encadrée en pointillés a une profondeur de 10X.

À l'inverse, seule la fin de l'exon 2 est couverte avec une profondeur de 6X seulement. (99)

E. Traitement Bio-informatique des données

Les données brutes à la sortie du séquençage se présentent sous la forme d'un fichier informatique complexe et spécifique pour chaque patient. Il contient l'ensemble des séquences nucléotidiques, y compris les amorces ajoutées pour permettre la réaction de séquençage et est donc inexploitable en tant que tel.

Il est donc nécessaire de traiter ces données par une succession d'outils bio informatiques (appelée *Pipeline*) afin de pouvoir les exploiter médicalement.

Pour cela, après nettoyage des artefacts de mauvaise qualité, les séquences nucléotidiques des patients sont alignées à la séquence de référence du génome humain (appelée *Hg19*). Ce premier travail aboutit à un fichier compressé, *le fichier «.bam»*, qui pourra être téléchargé plus tard directement depuis le logiciel d'aide à l'interprétation des variations génétiques (*Alamut Visual*), pour visualiser les variants, leur profondeur de lecture, et les éventuels artefacts.

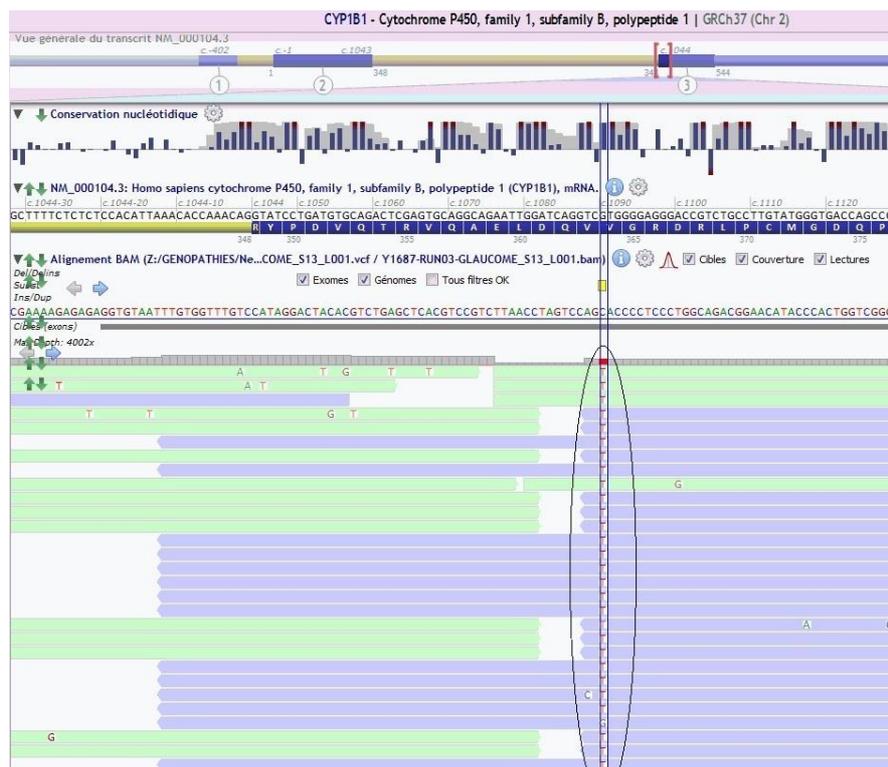


Figure 30 : Variant *CYP1B1* : c.1090C>T, visualisé sur les reads, après chargement du fichier « .bam » du patient Y1687 depuis *Alamut Visual*.

A partir de ce fichier est générée la liste personnalisée des variants génétiques retrouvés pour chaque patient. Cet ultime fichier pourra être amélioré par l'ajout d'annotations, comme la fréquence allélique dans la population générale, ou le référencement du variant dans les bases de données.

Ces données finales sont importées sur le portail bio-informatique du CHU : la DVD (*Diagnostic Variant Database*). Elles pourront être interprétées par les biologistes, et seront le plus souvent exportées sous forme d'un tableur Excel pour des raisons de simplicité d'utilisation.

Il va sans dire que ces outils informatiques ont leur propre limite, et qu'à chaque étape, une partie de l'information génétique peut être perdue.

C'est pourquoi nous utilisons en simultané deux pipelines bio-informatiques, conformément aux recommandations, de manière à diminuer le risque de résultats faux négatifs.

On a utilisé à cet effet les pipelines complémentaires *BROAD*, mis au point par l'équipe bio-informatique du CHU de Lille, et *SeqNext SeqPilot JS1*, afin d'optimiser les résultats d'analyse.

F. Etude des CNV

Les grands réarrangements géniques (CNV ou *Copy Number Variation*) ont été systématiquement recherchés par technique comparative, en calculant un ratio individuel : couverture d'exon pour chaque patient / couverture moyenne de l'exon pour l'ensemble des patients séquencés dans la série.

De cette manière, il est possible de distinguer d'éventuels grands réarrangements géniques de type délétions ou duplications.

Dans le cas d'une délétion par exemple, une région génique d'intérêt est sous représentée chez un patient comparativement aux autres patients de la même série.

Dans le cas contraire, si une région apparaît surreprésentée par rapport au reste de la série, cela signe la présence d'une duplication.

IV. Interprétation des résultats

La liste des variants disponible pour chaque patient montre en général une centaine de résultats. **Nous avons réalisé un « filtrage » de ces données, afin d'améliorer la visibilité des variants d'intérêt, les moins suspects d'artefacts.**

Lors de la phase de vérification des analyses et de leur interprétation, et pour l'ensemble des patients, nous avons procédé au retrait des filtres de manière à vérifier l'absence d'exclusion d'un variant d'intérêt.

Les filtres appliqués étaient les suivants :

- **Fonction du gène** : n'étaient conservés que les variants de type non-sens, faux-sens, *frameshift* (décalage du cadre de lecture) et variants d'épissage.
Filtre des régions non codantes, des régions 3'et 5' UTR (non traduites), filtre des variants sur les régions upstream et downstream (régions 5' et 3')
- **Pourcentage de recouvrement du variant > à 30 %** : un variant présent sur moins de 30 % des fragments séquencés est très probablement un artefact. Pour rappel, le pourcentage de recouvrement attendu d'un variant homozygote est de 100% environ, et celui d'un variant hétérozygote de 50%.
- **Fréquence dans la population générale < 5 %** : habituellement, on considère qu'un variant avec une fréquence allélique > à 1% dans la population générale est probablement un polymorphisme. Dans ce panel, nous avons délibérément choisi d'augmenter ce seuil, afin de ne pas méconnaître un variant de transmission récessive par exemple, récurrent dans notre population cible.
- **Profondeur de lecture > 5 reads** : une profondeur inférieure est très largement insuffisante et probablement liée à un artefact de séquençage.

L'ensemble des variants ainsi filtrés a été analysé.

Nous n'avons pas réalisé au départ de seconde sélection en fonction de la fréquence allélique, adaptée ou non, au mode de transmission rapporté du gène (attente d'un variant homozygote ou hétérozygote composite pour une pathologie récessive par exemple).

En effet, certains digénismes ayant été rapportés dans l'hérédité des GCPI, nous souhaitions d'abord interpréter l'ensemble des variants isolément.

Par ailleurs, très tôt dans l'analyse, nous avons remarqué une répétition de certains variants dans les séries. Nous n'avons pas filtré cette donnée par crainte d'écarter à tort un variant récurrent dans notre cohorte de patients.

Le logiciel de visualisation *Alamut Visual* a été utilisé systématiquement pour chaque patient, afin de visualiser la séquence nucléotidique du variant, sa profondeur et sa couverture (chargement du fichier « *.bam* ») (figure 30).

Cette interface permettait également d'accéder aux données phylogénétiques se rapportant au nucléotide et à l'acide aminé, à l'écart physico-chimique entre acides aminés (pour les variations faux-sens) et à la fréquence allélique du variant au sein des diverses populations ethniques.

Pour les variations synonymes, on consultait la fenêtre d'épissage pour visualiser un éventuel effet sur l'épissage en s'aidant des logiciels *SpliceSiteFinder*, *MaxEntScan*, *NNSplice* et *GeneSplicer* prévus à cet effet.

Pour conclure sur la pertinence clinique des variants identifiés, il a fallu s'aider de plusieurs logiciels de prédiction dédiés, pour lesquels il nécessite d'acquérir une certaine expérience d'utilisation et d'interprétation de fiabilité propre.

Nous avons recours notamment à :

- *Polyphen-2*,
- *Align Grantham Variation and Grantham Deviation (a-GVGD)*
- *Sorting Intolerant from Tolerant (SIFT)*
- Fréquence du variant dans la population via *gnomAD*
- Base de données *Varsome*, qui regroupe jusqu'à 9 logiciels de prédiction (*DANN*, *GERP*, *dbNSFP*, *FATHMM*, *LRT*, *MetaLR*, *MetaSVM*, *MutationAssessor*, *MutationTaster*, *PROVEAN*)
- Base de données *HGMDpro*, qui référence tous les variants pathogènes humains décrits dans la littérature
- Base de données locale en présence de gènes analysés dans un autre panel lillois existant (*BEST1*, *NPHS1*, *NPHS5* par exemple)
- Bibliographie personnelle ayant abouti au panel d'essai

Une fois l'ensemble de ces informations réunies, le variant était classé dans une des cinq classes suivantes, d'après les recommandations internationales (*ACMG*, *American College of Medical Genetics and Genomics*) (100) :

- **SNV1 : Variant bénin**
- **SNV2 : Variant probablement bénin**
- **SNV3 : Variant de signification indéterminée (VSI)**
- **SNV4 : Variant probablement pathogène**
- **SNV5 : Variant pathogène**

Pour les variants reconnus comme probablement impliqués dans la survenue de la pathologie oculaire du patient, il est prévu au décours une seconde vérification par séquençage Sanger, afin d'éliminer un artefact de premier séquençage.

Une analyse de la ségrégation familiale par recherche du variant chez les deux parents sera également recherchée.

La communication des résultats se fera sur place par le membre investigateur. Pour les patients lillois, nous donnerons directement l'information en consultation.

RESULTATS

I. Population de notre étude

A. Nombre de participants

Au total, nous avons réalisé le séquençage de **66 patients** dans notre Panel Lillois des « gènes candidats aux glaucomes congénitaux ».

Tous les échantillons des patients inclus dans le protocole n'ont malheureusement pu être réceptionnés à ce jour. Certains sont en attente de rapatriement ou d'une proposition de prélèvement. Nous réaliserons leurs analyses ultérieurement dans une autre série.

1. Patients du PHRC

Parmi les 133 inclusions comptabilisées depuis avril 2013, 25 enfants sont sortis d'étude (diagnostic de GC non retenu, refus des analyses, perdus de vue).

Parmi les 108 patients restants, nous avons analysé à ce jour 58 patients au total.

Parmi les 50 patients inclus non analysés :

- 2 enfants Lillois ont été inclus très récemment, leur séquençage sera réalisé dans une nouvelle série.
- 10 ont été prélevés et leurs échantillons sont en attente de rapatriement.
- 11 ont été prélevés mais des problèmes logistiques sont survenus (tubes introuvables voire détruits par défaut de conservation).
- 3 patients ont notifié leur refus aux examens des caractéristiques génétiques.

- 17 patients possèdent une notification dans l'e-crf de type « prélèvement pour DNA thèque non fait », sans autres précisions.
- Pour 7 patients, aucune information n'est retranscrite dans l'e-crf concernant la réalisation d'un prélèvement biologique.

Pour ces patients restants, nous avons informé les membres investigateurs de la réalisation en cours des analyses génétiques.

Si l'information concernant la recherche biologique n'avait pas été donnée aux parents à l'inclusion, nous leur avons proposé de procéder, avec leur accord, à la réalisation d'un prélèvement sanguin *a posteriori* et de procéder par la suite au rapatriement.

Pour les tubes perdus, un deuxième prélèvement doit être proposé aux patients.

2. Autres patients

En dehors du PHRC, 8 autres patients ont été inclus au projet de thèse.

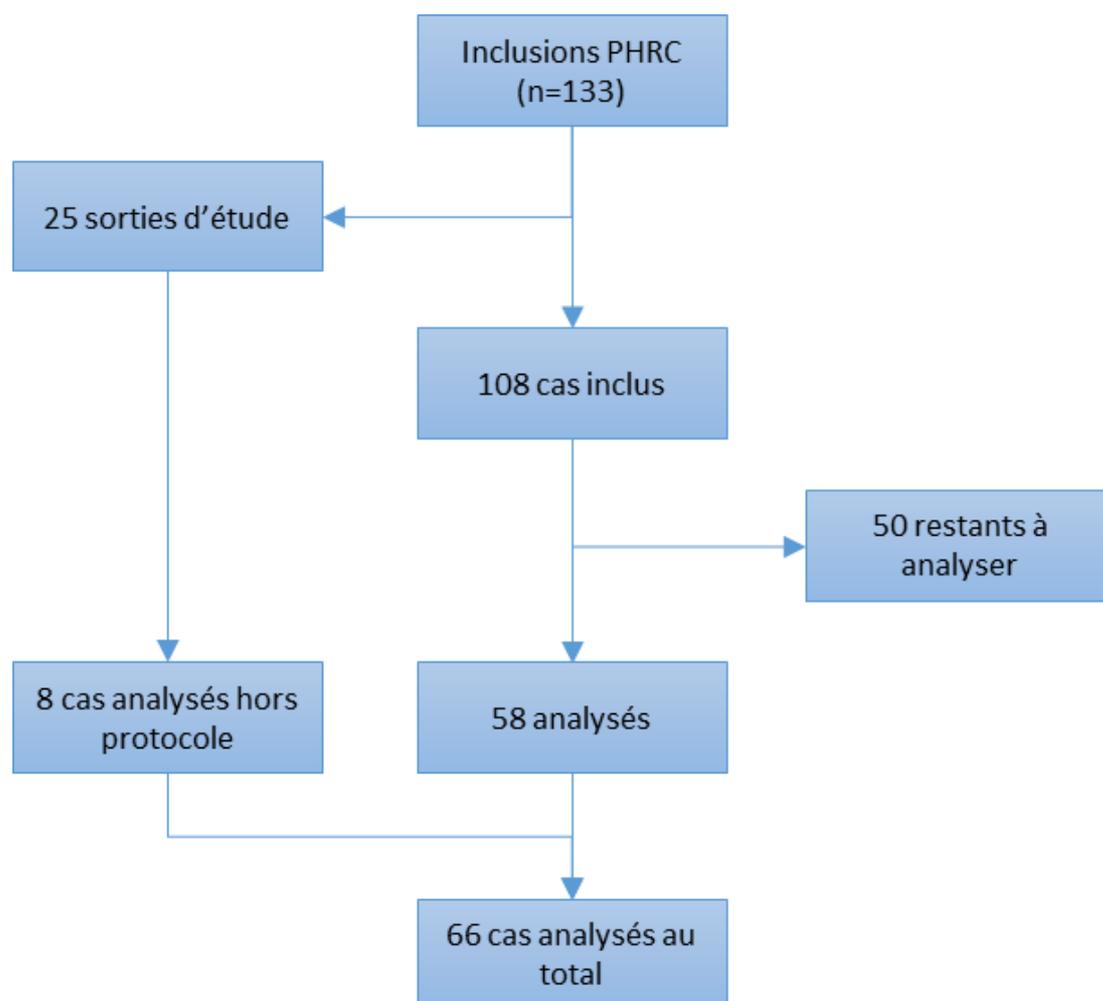
Sortis d'étude pour diverses raisons, ils présentaient un phénotype intéressant pour lequel un séquençage des gènes de notre panel semblait pertinent.

Les consentements et le rapatriement des échantillons avaient été réalisés au préalable.

Les raisons de sortie d'étude étaient les suivantes :

- Patients suivis dans un autre centre, non investigateur :
 - Cas 5 : Mégalocornée,
 - Cas 8 : GCS et syndrome de Sturge Weber Krabbe.

- Patients pour lesquels le diagnostic de GC n'a pas été retenu au décours du suivi ou de l'examen sous AG, ou sans précision :
 - Cas 3 et 24 : Mégalocornée,
 - Cas 6 : Sclérocornée,
 - Cas 9 : Glaucome secondaire associé à un Rétinoblastome, avec néovascularisation irienne,
 - Cas 23 : Aniridie,
 - Cas 25 : GCS et Syndrome Krabbe (enfant malheureusement décédé depuis).

Figure 31 : Diagramme de flux d'inclusion

3. Centres concernés par l'analyse

Les échantillons analysés dans notre étude sont issus des inclusions de 9 centres investigateurs pour lesquels les prélèvements sanguins nous sont parvenus (figure 32).

La plupart des patients analysés sont originaires de Marseille et Lille.

Il s'agit aussi des deux principaux centres ayant recensé le plus d'inclusions au total.

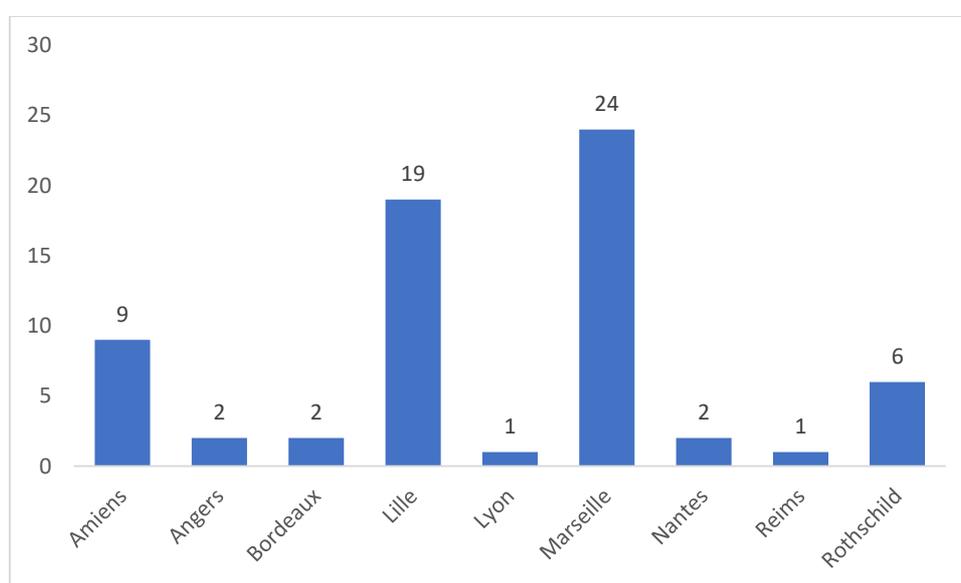


Figure 32 : Origine des patients analysés dans notre cohorte

Concernant les patients inclus à Necker, il est possible qu'ils aient été analysés directement sur place. A ce jour, nous n'avons pas eu accès au recueil des éventuels résultats génétiques concernant ces patients.

Depuis 2013, parmi les 26 centres investigateurs, 17 ont inclus des patients au total.

Parmi les 9 centres n'ayant jamais inclus de patients, 3 participent toujours à l'étude.

Il s'agit de Brest, Poitiers et Toulouse.

N° de centre	Centre	Investigateur principal	Inclusions	Sortie d'étude
1	Amiens	Pr S. Milazzo	10	5
2	Angers	Dr A. Caignard	2	0
3	Besançon	Pr B. Delbosc	1	0
4	Bordeaux	Pr J-F. Korobelnik	2	0
5	Brest	Dr C. Cochard Marianowski	0	0
8	Grenoble	Dr K. Palombi	2	1
9	Lyon	Pr P. Denis	4	1
10	Limoges	Pr P-Y. Robert	1	0
11	Lille	Pr J-F. Rouland	28	7
12	Marseille	Pr D. Denis	40	4
15	Nantes	Dr G. Le Meur	6	0
18	Necker	Pr D. Bremond-Grignac	5	0
20	Poitiers	Dr M. Mercié	0	0
21	Reims	Pr A. Ducasse	1	0
25	Rennes	Pr F. Mouriaux	2	0
17	Rothschild	Dr P. Dureau	8	0
22	Rouen	Pr M. Muraine	1	0
23	Saint Etienne	Pr P. Gain	6	0
24	Strasbourg	Pr C. Speeg-Schatz	14	7
26	Toulouse	Dr S. Moalic	0	0
Total			133	25
				108,00

Figure 33 : Centres investigateurs actifs du PHRC-N.

B. Caractéristiques cliniques

1. *Caractéristiques générales*

Pour le patient 13, les données cliniques n'ont malheureusement pu être recueillies. Les données épidémiologiques concernent donc 65 patients en totalité.

Dans notre cohorte de patients, l'âge moyen au diagnostic était de 6,4 mois.

La majorité des enfants sont des garçons, pour 57%.

Pour 19 enfants, des anomalies oculaires congénitales étaient présentes pour d'autres membres dans la famille.

Concernant les parents, seulement 4 unions consanguines sont connues et rapportées.

2. *Le phénotype*

Le phénotype attendu, largement prédominant, était le GCPI pour 78%.

Les 22% restants étaient représentés, de manière équivalente, par :

- le spectre élargi des DSA, associé ou non à un GC (2 Axenfeld Rieger avec GC, 3 Mégalocornées, 1 Aniridie sans GC, 1 Sclérocornée sans GC),
- et les glaucomes secondaires syndromiques.

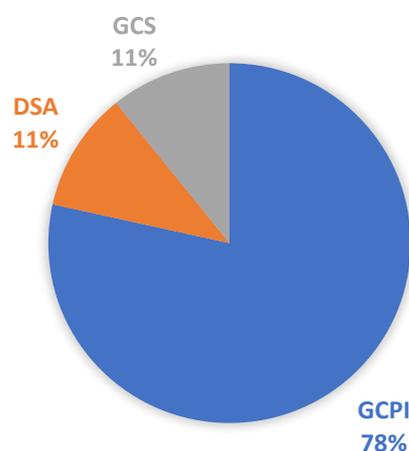


Figure 34 : Distribution phénotypique de notre cohorte

3. La sévérité

- **L'âge au diagnostic**

L'âge au diagnostic correspond à l'âge auquel le premier examen sous anesthésie générale a permis la confirmation diagnostique du glaucome congénital ou DSA.

Dans notre cohorte, 24% des enfants analysés au total avaient un glaucome congénital de type néonatal, avec un âge au diagnostic inférieur ou égal à 1 mois de vie.

Cette proportion est équivalente pour le phénotype GCPI, à 27 %.



Figure 35 : Proportion des glaucomes néonataux (âge au diagnostic \leq 1 mois), pour chaque phénotype.

- **L'âge aux premiers signes**

La proportion des glaucomes néonataux dans notre cohorte est plus importante si l'on considère l'âge d'apparition des premiers signes ophtalmologiques, plutôt que celui auquel l'examen au bloc opératoire a été réalisé.

Elle est globalement équivalente pour l'ensemble des phénotypes, autour de 50%.

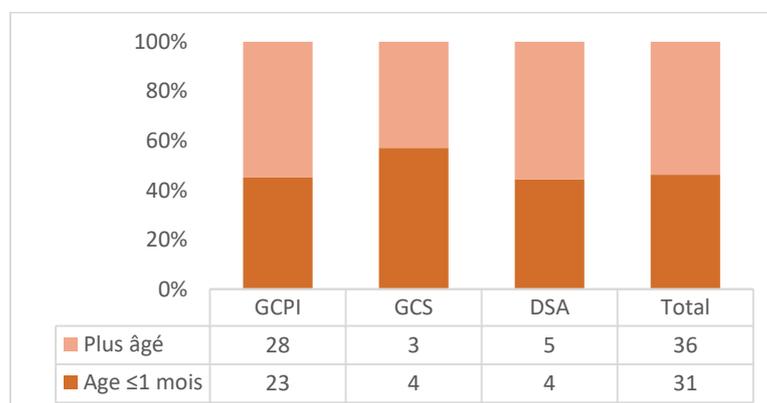


Figure 36 : Proportion des glaucomes néonataux si l'on considère l'âge d'apparition des premiers signes cliniques évocateurs de glaucome congénital.

- **La latéralité**

Toutes présentations cliniques confondues, 80 % des patients avaient une atteinte bilatérale. Dans le sous-groupe des glaucomes congénitaux secondaires, l'atteinte était plus souvent unilatérale que pour les autres phénotypes.

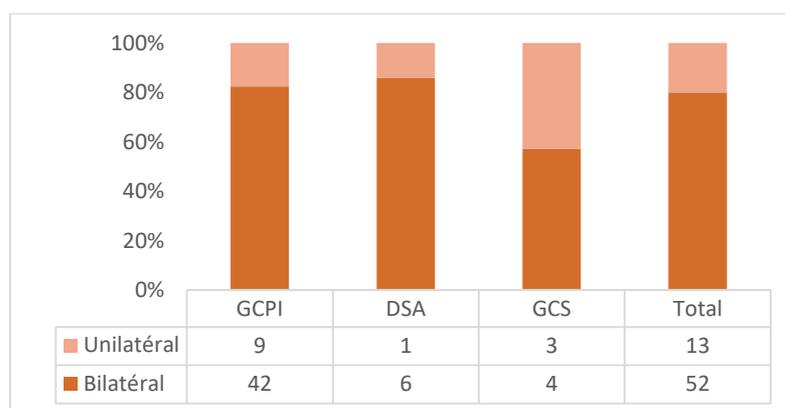


Figure 37 : Latéralité des atteintes oculaires et leur proportion pour chaque phénotype.

- **Yeux multi opérés**

Tous les patients inclus avec glaucome congénital ont été opérés dans notre cohorte.

Les patients multi opérés correspondent aux cas inclus pour lesquels au moins un œil a subi ≥ 2 interventions chirurgicales, à des moments différents.

Lorsque plusieurs techniques opératoires ont été combinées en un seul temps chirurgical (trabéculotomie et sclérectomie non perforante par exemple), elles ne comptent que pour une seule intervention.

Au total, 46 % des yeux atteints ont été multi opérés, quel que soit le phénotype en cause au départ.

Dans le sous-groupe GCPI, la proportion des yeux atteints multi opérés était de 53 %.

Parmi les DSA, seulement 2 cas étaient compliqués de glaucome congénital, ce qui explique la faible proportion des patients multi opérés dans ce groupe.

Le glaucome était bilatéral pour ces deux patients et un de ces deux cas a été multi opéré pour chaque œil atteint.

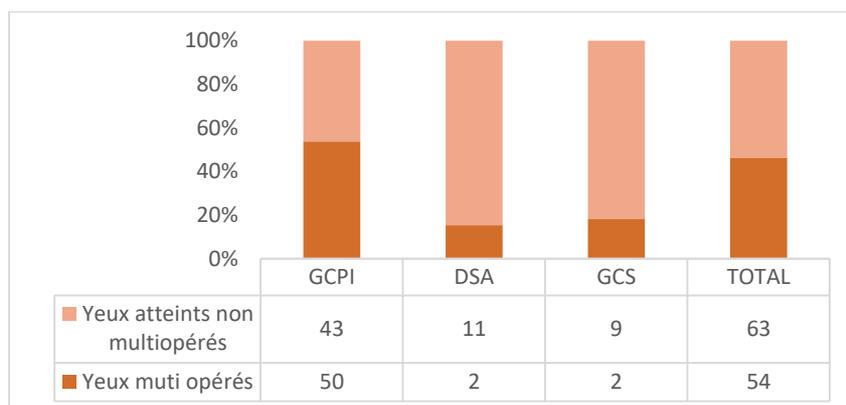


Figure 38 : Proportion des yeux atteints multi opérés selon le phénotype.

4. Résumé des patients analysés et leur phénotype

Nous présentons ci-après le résumé des patients analysés et les précisions se rapportant au phénotype GCPI, DSA ou GCS : *Sexe, Age au diagnostic, Latéralité, Yeux atteints multi opérés, Histoire familiale, Consanguinité.*

Pour certains cas, des particularités ou des signes associés ophtalmologiques ou généraux ont été signalés dans le cahier d'observation. Nous les avons présentés dans la dernière colonne de droite.

Concernant certains glaucomes syndromiques de notre cohorte, il n'avait jamais été rapporté auparavant de glaucome associé aux syndromes de Seckel, Krabbe et de Townes Brocks dans la littérature.

Ces trois cas sont décrits ci-dessous :

- **Le syndrome de Seckel**

Il appartient au spectre des nanismes ostéodysplasiques avec microcéphalie, pour lequel il existe une grande hétérogénéité génétique. Il est d'hérédité autosomique récessive.

Des manifestations oculaires fréquentes de type microphthalmies, atrophies focales de l'iris (101), cataractes et subluxations cristalliniennes (102) ont déjà été rapportées associées à ce syndrome.

Pour le cas 16, le séquençage du panel de gènes impliqués dans le syndrome de Seckel et les nanismes microcéphaliques est revenu négatif.

- **Maladie de Krabbe**

C'est un trouble lysosomal affectant la substance blanche des systèmes nerveux central et périphérique. Les atteintes ophtalmologiques rapportées dans la littérature sont des atrophies optiques bilatérales démyélinisantes (103).

Pour le cas 25, un variant hétérozygote non-sens p.Leu309 (exon 9) a été identifié sur le gène causal GALC. Du fait de l'absence de GC rapportés dans la littérature pour ce syndrome, nous avons inclus cet enfant dans l'étude à la recherche d'autres variants pathogènes. Pour information, cet enfant a bénéficié d'une thérapie génique ciblée en 2016. Il est malheureusement décédé récemment.*

- **Syndrome de Townes Brocks**

Il correspond à la triade : imperforation anale, oreilles dysplasiques avec surdité et malformations des pouces. Il entre plutôt dans le spectre des ciliopathies et des malformations rénales sont souvent impliquées. Concernant l'atteinte oculaire, il a été décrit des kystes dermoïdes du limbe (104), ou un syndrome de Duane et des colobomes chorio-rétiniens (105).

Pour le patient 35, la confirmation génétique par séquençage du gène SALL1, de transmission autosomique dominante, a été réalisée et les résultats sont en attente.

Par ailleurs, un antécédent familial de glaucome congénital était rapporté pour ce patient dans le cahier d'observation. Cependant, le phénotype oculaire n'était pas précisé pour cet individu.

PATIENT	SEXE	AGE au diagnostic (mois)	PHENOTYPE	Latéralité	Œil Multi opéré	Histoire familiale	Consanguinité	Anomalies associées signalées
1	G	10	GCPI	U	1	N	N	
2	F	2	GCPI	B	0	N	N	Prématurité 25 SA
3	G	11	Mégalocornée	B	X	Variant familial PAX6	N	
4	F	2	GCPI	U	1	O	N	
5	G	7	Mégalocornée	B	X	O	N	CIA, sténose pylorique.
6	G	2	Sclérocornée sans GC	U	X	N	N	
7	G	5	GCPI	B	1	N	N	
8	F	0	GCS	U	0	N	N	SWK
9	F	7	GCS	U	0	N	N	Rétinoblastome, PVF
10	F	6	GCPI	B	2	N	N	
11	G	4	GCPI	B	1	N	N	
12	G	0	GCPI	B	0	N	N	Ex. pédiatrique anormal non précisé
13		0						
14	F	15	GCPI	B	0	N	N	Atrésie oesophagienne
15	G	6	GCPI	U	0	N	N	
16	F	2	GCS	B	0	N	N	Sd de Seckel Embryotoxon ODG
17	F	7	GCPI	B	0	N	N	
18	G	5	GCPI	B	0	N	N	
19	G	5	GCPI	B	1	O	N	RCIU, Ostéochondrite primitive hanche, pyélectasie bilatérale, RPM
20	F	0	GCPI	B	0	O	DEGRE 2	Reliquat de membrane pupillaire
21	G	17	GCPI	U	0	N	N	
22	G	3	GCPI	U	0	N	N	
23	F	2	Aniridie sans GC	B	X	Aniridie chez la mère PAX6	N	Cataracte congénitale ODG, mégalocornée, PVF
24	G	12	HTIO/Mégalo-cornée	B	X	O	N	AO de Leber chez père et oncle
25	G	11	GCS	B	0	N	N	Maladie de Krabbe blépharite et abcès de cornée
26	F	12	GCPI	B	0	N	N	Dysmorphie légère
27	G	0	GCPI	B	0	N	N	Sténose pylorique, Embryotoxon ODG
28	G	24	GCPI	U	1	N	N	
29	F	0	GCPI	B	0	N	DEGRE 2	
30	G	10	GCS	B	0	N	N	Mucopolysaccharidose de type 1 (Sd de Hurler)

31	F	2	GCPI	B	0	N	N	
32	G	5	GCPI	B	0	N	N	
33	G	1	GCPI	U	0	N	N	
34	G	6	GCPI	B	1	O	N	
35	G	2	GCS	B	1	GC	N	Sd de Townes-Brocks
36	F	3	GCPI	B	2	N	N	
37	F	9	GCPI	B	1	O	N	
38	G	2	GCS	U	1	N	N	SWK
39	F	0	GCPI	B	2	N	N	Prématurité, HTAP
40	F	13	GCPI	B	2	O	N	
41	F	3	GCPI	B	1	O	N	Embryotoxon ODG
42	G	3	GCPI	B	2	O	N	Dysmorphie, hypospadias, disjonction des sutures crâniennes
43	G	19	GCPI	B	2	O	N	
44	G	5	GCPI	B	2	N	N	
45	G	5	GCPI	B	1	O	N	
46	G	16	Axenfeld et GC	B	0	O	N	Embryotoxon ODG, ponts iriens 360°
47	G	24	GCPI	B	2	O	N	
48	F	0	GCPI	B	1	?	N	
49	F	12	GCPI	B	2	N	N	
50	F	1	GCPI	B	1	N	N	
51	F	6	GCPI	B	2	?	DEGRE 1	RCIU majeur
52	G	5	GCPI	B	2	N	N	
53	F	1	Axenfeld et GC	B	2	O	N	Embryotoxon ODG, ponts iriens 360°
54	F	1	GCPI	B	1	O	N	Embryotoxon OG
55	G	11	GCPI	B	1	N	N	
56	G	9	GCPI	U	0	N	N	
57	F	3	GCPI	B	2	?	N	
58	F	0	GCPI	B	2	N	N	Morning Glory ODG
59	G	0	GCPI	B	1	N	N	Embryotoxon ODG, fossette colobomateuse OG
60	F	1	GCPI	B	2	N	DEGRE 3	
61	G	4	GCPI	B	1	N	N	
62	G	5	GCPI	B	2	N	N	
63	F	0	GCPI	B	2	N	N	
64	G	4	GCPI	B	2	N	N	
65	G	0	GCPI	B	0	N	N	
66	G	17	GCPI	U	0	N	N	

Si « X » dans la colonne multi opéré = aucune intervention chirurgicale au départ. B : Bilatéral ; CIA : Communication inter auriculaire ; GCPI : Glaucome congénital primitif isolé ; GCS : Glaucome congénital secondaire ; HTAP : hypertension artérielle pulmonaire ; O : Oui ; N : Non ; PVF : Persistance de la vascularisation fœtale ; RCIU : retard de croissance intra utérin ; SWK : syndrome de Sturge Weber Krabbe ; U : Unilatéral

II. Résultats moléculaires

A. Résultats techniques

Nous avons procédé aux analyses des 66 patients en 3 séries successives, pour lesquelles les résultats techniques étaient très satisfaisants.

- La première série comptabilisait 24 patients.

La profondeur de lecture moyenne était de 1785x et le pourcentage moyen de couverture supérieure à 30x évalué à 98 %.

- La deuxième série comptabilisait 25 patients.

La profondeur de lecture moyenne était de 2053x et le pourcentage moyen de couverture supérieure à 30x était évalué à 98.4%.

Le séquençage a malheureusement échoué pour 3 patients (cas 27, 28 et 48) probablement du fait d'une mauvaise qualité d'ADN, liée à une extraction tardive après congélation des tubes.

- La dernière série comptabilisait 17 patients.

La profondeur de lecture moyenne était de 1419x et le pourcentage moyen de couverture supérieure à 30x était évalué à 98.3%.

Par erreur, un gène du panel n'a pas été séquençé. Il s'agit du gène *FKHR (FOXO1A)*.

Pour un autre gène, la couverture médiocre n'a pas permis l'analyse de résultats. Il s'agit du gène *CPAMD8*.

L'interprétation du séquençage des trois gènes mitochondriaux sera réalisée dans un second temps, car elle nécessite un traitement bio-informatique particulier. Nous ne disposons pas de ces résultats pour le moment.

B. Résultats moléculaires

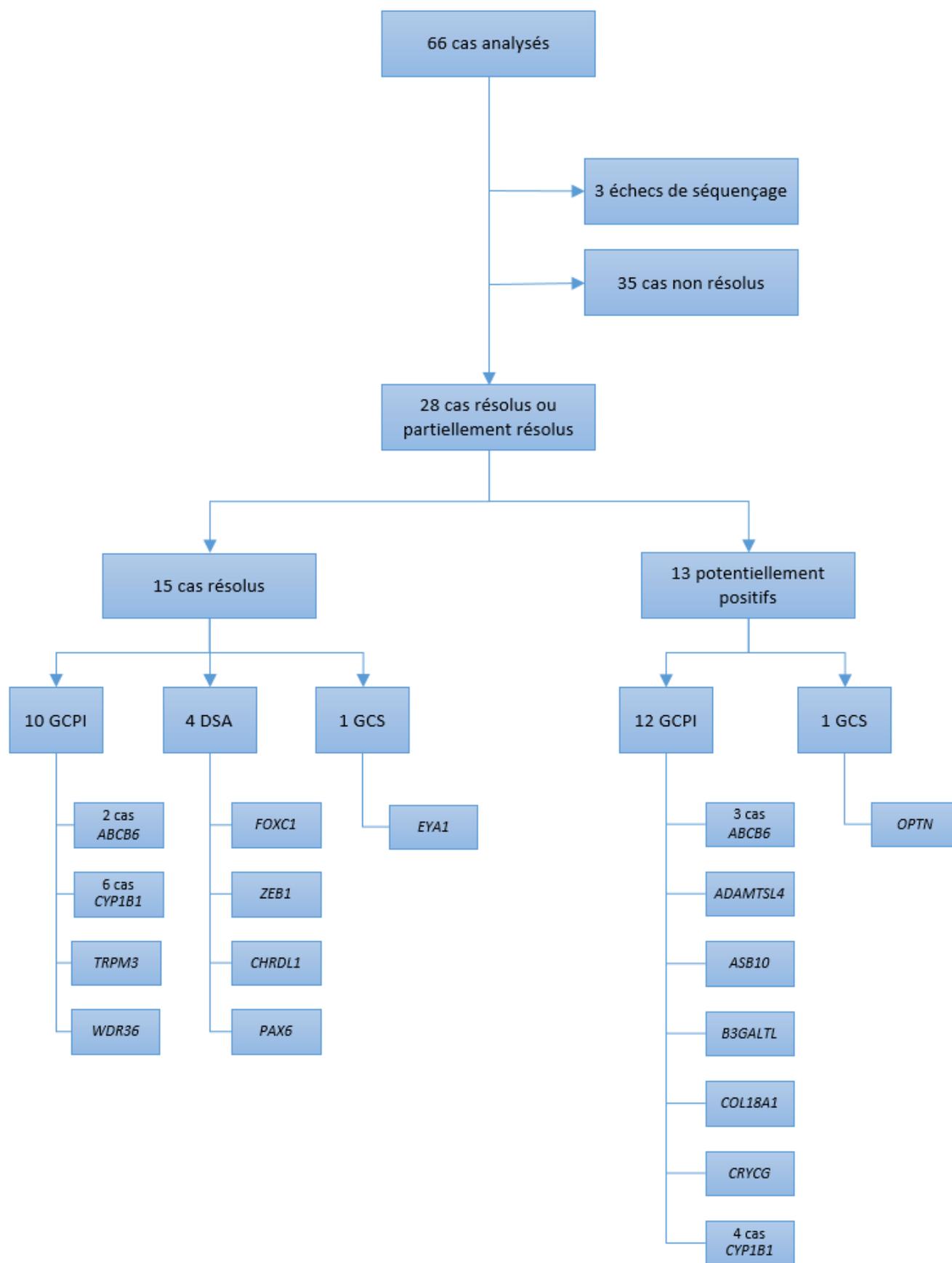


Figure 39 : Résultats moléculaires : diagramme de flux

1. Généralités

a. Résultats globaux

Parmi les 63 patients analysés de notre cohorte, le séquençage a permis d'identifier des variants d'intérêt pour **28 patients (44%)**.

- **15 patients (24%)** sont confirmés sur le plan génétique.

Pour ce groupe de cas résolus, nous avons identifié 17 variants pathogènes (SNV5) ou probablement pathogènes (SNV4) différents. Neuf étaient déjà décrits dans la littérature pour des phénotypes similaires, et **huit variants sont de découverte nouvelle**.

- **13 cas (21%)** sont partiellement ou potentiellement élucidés.

Ce groupe comprend les porteurs de variants de signification indéterminée (VSI) dans des gènes d'intérêt et les patients porteurs d'un seul des deux variants dans des gènes candidats de transmission récessive.

Ainsi, dix variants considérés pathogènes, probablement pathogènes ou de signification indéterminée (SNV3) ont été identifiés. Quatre de ces variants sont de découverte nouvelle, non retrouvés dans la base de données HGMD.

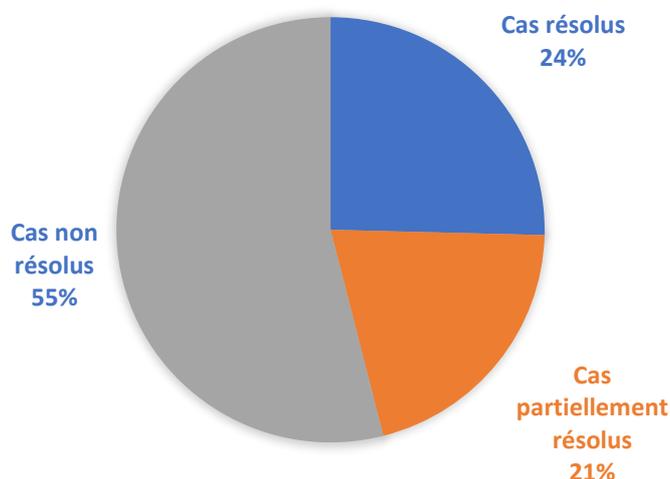


Figure 40 : Proportion des cas résolus et partiellement résolus dans notre cohorte.

Pour les 35 patients restants, notre méthode de séquençage haut-débit n'a pas identifié de variation délétère en lien avec le phénotype.

Ces résultats négatifs n'excluent pas une cause génétique chez ces patients. En effet, des variants rares de signification indéterminée (VSI) ont été identifiés pour une dizaine de cas. Bien que l'état actuel des connaissances ne permette pas d'imputer l'atteinte oculaire à ces variations, elles méritent d'être surveillées et comparées aux prochaines analyses ou données de la littérature.

Pour 3 patients de la deuxième série, le séquençage avait malheureusement échoué.

Pour 2 de ces patients (cas 27 et 48), il pourrait exister un évènement sur *CYP1B1*, sur les quelques *reads* visibles. Cependant, il peut s'agir d'un artefact de séquençage et aucune interprétation fiable ne peut être donnée. Une nouvelle analyse à partir d'un nouveau prélèvement sera réalisée prochainement.

Les grands réarrangements géniques (CNV) ont été systématiquement recherchés, et aucune grande duplication ou délétion n'a été mise en évidence pour chaque patient.

Cependant, certaines analyses étaient de qualité médiocre, probablement du fait de la cryoconservation longue des échantillons sur site avant extraction d'ADN.

Nous présentons ci-après le résumé des résultats positifs et partiellement positifs pour les patients de notre cohorte.

b. Tableau des résultats

PATIENT	PHENOTYPE	GENE	HEREDITE	STATUT	cDNA	PROTEINE	ACMG 2015	Référence (PMID)
CAS ELUCIDES								
7	GCPI	ABCB6	AD	het	c.278_292del	p.Gly93_Thr97del	SNV5	NC
12	GCPI	ABCB6	AD	het	c.11_12del	p.Val4Glyfs*56	SNV5	NC
		CYP1B1	AR	het	c.524G>C	p.Arg175Pro	SNV4	16862072
		CYP1B1		het	c.1064_1076del	p.Arg355Hisfs*69	SNV5	9097971
6	Sclérocornée	CHRD1	R lié à l'X	hémizygote	c.626G>T	p.Arg209Leu	SNV4	NC
20	GCPI	CYP1B1	AR	hom	c.535del	p.Ala179Argfs*18	SNV5	12372064
29	GCPI	CYP1B1	AR	hom	c.535del	p.Ala179Argfs*18	SNV5	12372064
58	GCPI	CYP1B1	AR	het	c.1064_1076del	p.Arg355Hisfs*69	SNV5	9097971
		CYP1B1		het	c.1331G>A	p.Arg444Gln	SNV4	11527932
		ABCB6	AD	het	c.1474G>A	p.Ala492Thr	SNV3	27507172
59	GCPI	CYP1B1	AR	het	c.1064_1076del	p.Arg355Hisfs*69	SNV5	9097971
		CYP1B1		het	c.1200_1209dup	pThr404Serfs*30	SNV5	9497261
65	GCPI	CYP1B1	AR	hom	c.1090G>A	p.Val364Met	SNV5	11184479
63	GCPI	CYP1B1	AR	het	c.1159G>A	p.Glu387Lys	SNV5	9497261
		CYP1B1		het	c.1330C>T	p.Arg444*	SNV5	14635112
35	GCS/Townes Brocks	EYA1	AD	het	c.214A>G	p.Ser72Gly	SNV4	NC
53	Axenfeld et GC	FOXC1	AD	het	c.505C>T	p.Arg169Trp	SNV4	NC
23	Aniridie	PAX6	AD	het	c.231_232del	p.Arg77Serfs*14	SNV5	NC
17	GCPI	TRPM3	AD	het	c.4627del	p.Thr1543Hisfs*16	SNV4	NC
33	GCPI	WDR36	AD	het	c.1586G>A	p.Arg529Gln	SNV4	15677485
5	Mégaloconée	ZEB1	AD	het	c.1328_1331del	p.Ile444Metfs*48	SNV5	NC
CAS PARTIELLEMENT ELUCIDES								
51	GCPI	ABCB6	AD	het	c.1474G>A	p.Ala492Thr	SNV3	27507172
19	GCPI	ABCB6	AD	het	c.1474G>A	p.Ala492Thr	SNV3	27507172
22	GCPI	ABCB6	AD	het	c.1474G>A	p.Ala492Thr	SNV3	27507172
21	GCPI	ADAMTSL4	AR	het	c.767_786del	p.Gln256Profs*38	SNV5	NC
		ADAMTSL4		ND				
49	GCPI	ASB10	AD	het	c.799G>A	p.Glu267Lys	SNV3	NC
54	GCPI	B3GALT1	AR	het	c.660+1G>A		SNV5	16909395
		B3GALT1		ND				
47	GCPI	COL18A1	AD, AR	het	c.2970_2978del	p.Gly991_Pro993del	SNV4	NC
32	GCPI	CRYGC	AD	het	c.110G>A	p.Arg37Gln	SNV4	26310487
18	GCPI	CYP1B1	AR	het	c.487C>T	p.Arg163Cys	SNV3	20664688
		CYP1B1		ND				
44	GCPI	CYP1B1	AR	hom	c.685G>A	p.Glu229Lys	SNV3	11558822
4	GCPI	CYP1B1	AR	het	c.685G>A	p.Glu229Lys	SNV3	11558822
		CYP1B1		ND				
57	GCPI	CYP1B1	AR	het	c.1103G>A	p.Arg368His	SNV4	10655546
		CYP1B1		ND				
16	GCS/Sd de Seckel	OPTN	AD	het	c.1229T>C	p.Leu410Pro	SNV3	NC

AD : autosomique dominant ; AR : autosomique récessif ; het : hétérozygote ; hom : homozygote ; NC : non connu,

ND : non déterminé

2. Groupe des cas résolus

Pour le groupe de patients résolus (n=15), 10 avaient un phénotype GCPI, 4 appartenait au groupe des DSA et un patient était atteint d'un glaucome congénital secondaire syndromique.

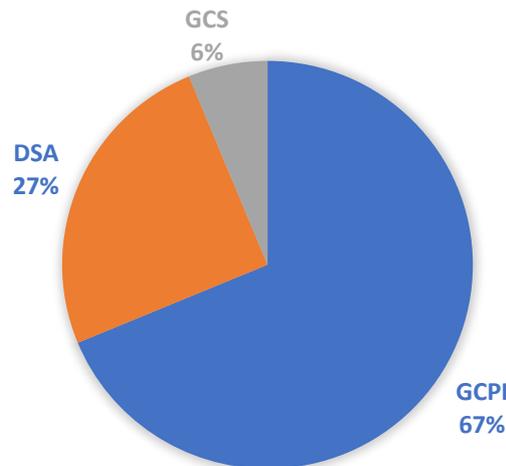


Figure 41 : Proportion des phénotypes pour les cas résolus

a. GCPI : 10 cas

Pour ces cas GCPI (n=10), des variations délétères dans 4 gènes différents ont été identifiés.

Pour 6 patients au total, il s'agit de variants pathogènes **CYP1B1** à l'état homozygote ou hétérozygote composite. Tous sont référencés dans HGMD.

Le deuxième gène le plus représenté pour ce phénotype est ABCB6, pour 2 patients.

Pour le cas 12, le variant causal ABCB6 est accompagné de deux variants CYP1B1, dont un de pathogénicité incertaine.

Les deux cas GCPI restants ont un variant causal délétère pour le gène **TRPM3**, non connu, et pour le gène **WDR36**, imputé dans la genèse des glaucomes primitifs à angle ouvert de l'adulte.

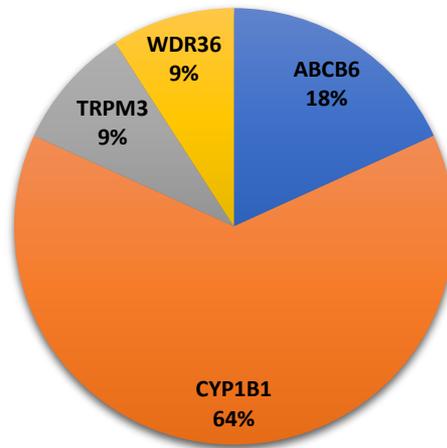


Figure 42 : Génotypes des cas résolus GCPI.

b. Autres phénotypes

- DSA : 4 cas

Concernant le **spectre des DSA**, 4 cas sont revenus positifs, pour **4 gènes différents** :

CHRD1, FOXC1, PAX6 et **ZEB1**, dont 2 gènes très peu décrits dans la littérature : **CHRD1** et **ZEB1**.

- Glaucome syndromique : 1 cas

Un unique cas de glaucome congénital syndromique (GCS) a été résolu. Il s'agit du patient décrit avec syndrome de Townes Brocks, pour lequel un nouveau variant pathogène du gène **EYA1** a été identifié.

*Pour mémoire, le séquençage du gène SALL1 avait été demandé par les cliniciens pour ce patient, dont les résultats ne nous sont pas parvenus. Par ailleurs, **un antécédent familial de GC avait été rapporté dans le cahier d'observation**. Nous ne disposons pas des données phénotypiques pour cet individu.*

Le gène *EYA1* est décrit dans les **syndromes branchio-oto-rénaux (syndrome BOR)**, qui **correspond parfaitement aux anomalies cliniques décrites pour le patient** (dysplasie rénale et malformations du conduit auditif externe).

Cependant, comme pour le syndrome de Townes Brocks, **aucun cas associé à un glaucome congénital n'a été rapporté à ce jour dans la littérature :**

- Un unique patient avec variation *EYA1* responsable d'un syndrome BOR avec anomalies oculaires de type cataractes congénitales bilatérales a été décrit dans la littérature (106).
- Isolément, le gène *EYA1* a quant à lui été fréquemment décrit pour des cataractes congénitales et dysgénésies du segment antérieur, dont l'anomalie de Peters par exemple, non syndromiques (107).

Ces deux phénotypes distincts, antérieurement rapportés dans la littérature pour le même gène *EYA1*, reflètent la grande hétérogénéité génique existante.

En outre, ce nouveau résultat positif *EYA1* pour un syndrome **BOR associé pour la première fois à un glaucome congénital**, confirme la même entité génique partagée par les anomalies développementales, portant sur l'activation de la cascade génétique lors de l'embryogenèse.

Nous verrons en partie 5) et 6) le détail des résultats pour le groupe de patients résolus.

3. Groupe des cas partiellement résolus

Ce groupe comprend les patients pour lesquels des variants d'intérêt ont été identifiés grâce au séquençage génétique de notre panel de gènes candidats.

Ils sont **considérés potentiellement positifs, mais nous ne pouvons conclure de manière définitive sur le génotype et la corrélation phénotypique qui en découle**, par manque d'informations.

En effet, ces patients sont :

- soit porteurs d'un seul des deux variants délétères dans des gènes candidats de transmission récessive.
- soit porteurs de variants de signification indéterminée (VSI) ou probablement pathogènes dans des gènes d'intérêt peu connus.

Pour le groupe de cas partiellement résolus (n=13), tous répondaient au phénotype GCPI sauf un cas, qui correspondait à un glaucome congénital secondaire de type syndromique.

Aucun cas ne présentait un phénotype du spectre des DSA.

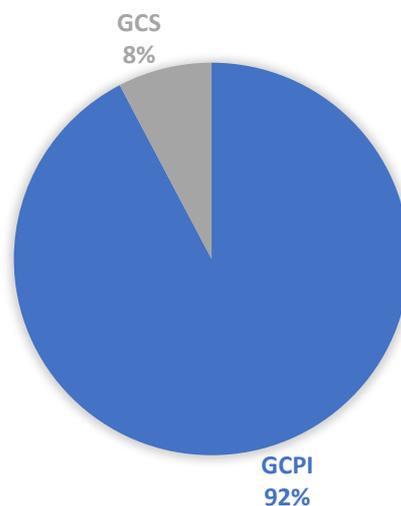


Figure 43 : Proportion des phénotypes pour les cas partiellement résolus.

a. GCPI : les principaux gènes

Pour ce groupe de patients, les variations potentiellement pathogènes en lien avec le phénotype GCPI concernent principalement 2 gènes : **CYP1B1** et **ABCB6**, comme pour le groupe de cas élucidés. **Sept patients sont concernés par ce génotype.**

- **CYP1B1 : 4 cas**
 - 3 patients hétérozygotes simples

Pour 3 patients, est identifié un seul variant hétérozygote **CYP1B1**, ne permettant pas de conclure sur le génotype.

Le second évènement pathogène est peut-être localisé dans les régions non explorées par notre panel de séquençage, comme les régions introniques, les promoteurs ou les régions 5' UTR et 3' UTR par exemple.

Par ailleurs, nous avons aussi éliminé la présence de large délétion ou duplication du gène par recherche des *Copy Number Variations* (CNVs) chez ces patients.

- Un cas homozygote c.685G>A, p.(Glu229Lys)

Pour le cas 44, un **variant hypomorphe** (SNV3) **c.685G>A, p.(Glu229Lys)** est retrouvé à l'état homozygote. Ce variant est normalement responsable d'une forme modérée. Il est retrouvé également à l'état hétérozygote simple pour le cas 4.

Le patient 44 présente ici plutôt un phénotype sévère, puisqu'il s'agit d'une atteinte bilatérale, de diagnostic précoce (premiers signes à 2 mois), dont les deux yeux ont été multi opérés.

De même, dans la littérature, **plusieurs cas avec GCPI avaient déjà été décrits homozygotes pour ce variant (108), y compris des formes particulièrement sévères (109).**

Pour ce variant, les données bibliographiques sont contradictoires.

Certaines études considèrent ce variant comme un simple polymorphisme, du fait de sa fréquence relativement élevée dans la population générale (fréquence allélique à 1%) ou chez les témoins analysés dans certaines cohortes (110).

D'autres auteurs ont identifié **l'hétérozygotie pour ce variant comme significativement associé au GPAO de l'adulte** ($p = 0,03$; odds ratio 2,49 [intervalle de confiance à 95% {0,97-6,62}]) (111).

En 2003, *E. Colomb et J. Kaplan* ont émis l'hypothèse d'une possible dominance pour p.Glu229Lys, puisqu'il était observé à l'état hétérozygote simple chez deux patients de leur cohorte française avec GCPI, qui regroupait 31 cas au total (112).

Ainsi, bien que d'authentiques glaucomes congénitaux aient été recensés pour ce variant à l'état homozygote, nous ne pouvons exclure la présence d'un variant plus sévère dans un autre gène en lien avec le phénotype.

- **ABCB6, c.1474G>A : 3 cas**

Concernant **ABCB6**, le variant faux-sens c.1474G>A, p.(Ala492Thr) est retrouvé à l'état hétérozygote pour 3 patients.

Il a été identifié également chez le cas élucidé 58, hétérozygote composite pour CYP1B1 dans notre cohorte.

Pour deux de ces patients, l'atteinte oculaire était accompagnée de signes généraux dont un RCIU pour les cas 51 et 19, avec retard psychomoteur, ostéochondrite primitive et pyélectasie bilatérale pour le cas 19. Par ailleurs, ces deux enfants avaient un GCPI bilatéral, avec au moins un œil multi opéré. L'enfant 51 était issu d'une union consanguine étroite de degré 1.

Pour le troisième patient, le cas 22, le glaucome est unilatéral, sans autre particularité ophtalmologique ou générale.

La pathogénicité de ce variant c.1474G>A *ABCB6* et son implication dans le phénotype ne peut être établie avec certitude du fait d'arguments contradictoires.

Ainsi, ce variant est référencé dans HGMD pour un phénotype non oculaire. Il est relativement fréquent chez les européens (environ 1%), mais plus rare dans les autres populations (0.7% au total dans la population générale).

Il est décrit VSI (SNV3) dans la base de données Varsome, notamment si le variant est confirmé *de novo* après analyse de la ségrégation parentale, ce que nous n'avons pas encore réalisée. Parmi 19 logiciels de prédiction, 12 le prédisent potentiellement délétère, et pour 7 autres, il est prédit bénin.

Dans la littérature, le gène *ABCB6* est connu pour être impliqué dans des cas de microphthalmie, colobomes et dyschromatopsies congénitales (113) (114). C'est un gène de développement dont l'imputabilité dans les dysgénésies oculaires est reconnue.

Il est de ce fait intégré au Panel de Necker notamment.

La fréquence relativement élevée de ce variant dans notre cohorte (6%) nous fait suspecter un lien éventuel avec le GCPI, peut-être en tant que facteur prédisposant.

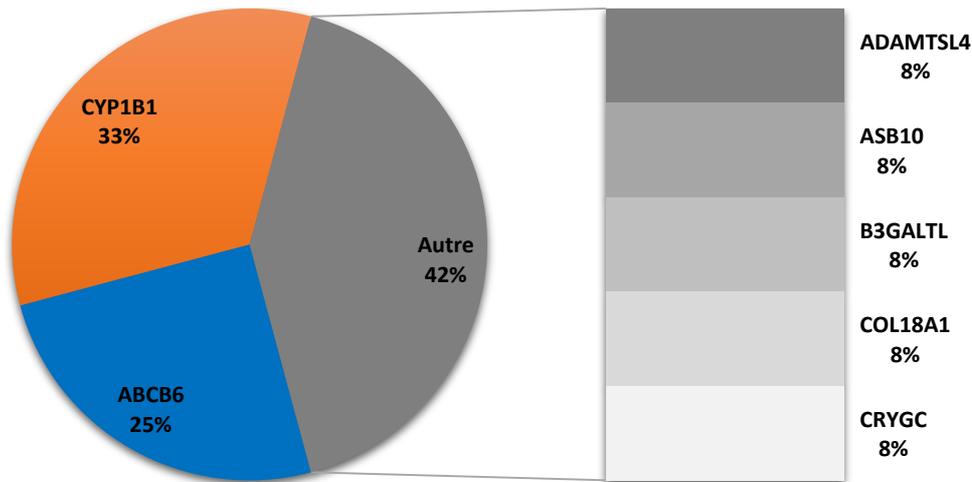
b. GCPI, les autres gènes

Figure 44 : Génotype des cas partiellement résolus GCPI

En dehors de *CYP1B1* et *ABCB5*, cinq autres patients avec GCPI sont potentiellement positifs puisque des variants ont été identifiés parmi les gènes *ADAMTSL4*, *ASB10*, *B3GALTL*, *COL18A1* et *CRYGC*.

- Cas des hérédités récessives avec un seul des variants identifié (2 patients)
 - ***B3GALTL***

Pour *ADAMTSL4* et *B3GALTL*, l'absence d'un second évènement ne permet pas de conclure de manière formelle sur le génotype.

Concernant le variant ***B3GALTL*, c.660+1G>A**, il est décrit dans le syndrome Peters +, à l'état homozygote ou hétérozygote composite, comme nous l'avons vu dans la première partie (page 45). Il est pathogène et classé SNV5.

- **ADAMTSL4**

Concernant **ADAMTSL4**, il est principalement en cause dans les ectopies cristalliniennes non syndromiques de transmission autosomique récessive.

Il est très largement analysé dans divers panels de séquençage se rapportant aux dysgénésies oculaires. Les anomalies associées peuvent inclure entre autres des anomalies iriennes, colobomes, sphérophakie et amétropies (115) (116). Le phénotype peut se compliquer de cataracte, d'hypertonie, de glaucome.

Cependant, il semble que le gène *ADAMTSL4* n'ait encore jamais été décrit dans les formes primitives du glaucome congénital. Par ailleurs, l'ARNm d'*ADAMTSL4* est plus fortement exprimé dans l'épithélium de l'équateur du cristallin que dans le corps ciliaire (117).

Le variant causal identifié est classé SNV5, non référencé dans HGMD.

- Cas des hérédités dominantes et variant identifié probablement pathogène ou de signification indéterminée dans un gène d'intérêt (3 patients)

- **ASB10**

Le gène **ASB10 (GLC1F)**, d'hérédité dominante, est bien connu dans la genèse des GPAO de l'adulte (118) ou juvéniles (119).

La protéine ASB10 est exprimée dans le trabéculum, les cellules endothéliales du canal de Schlemm et les cellules pigmentées du corps ciliaire.

Ce gène n'est pas séquencé en France mais il est intégré dans des panels pour le diagnostic des glaucomes congénitaux et/ou de l'adulte en Espagne et en Italie. Le variant retrouvé ici est non référencé, classé VSI. Le phénotype du patient n'est pas particulièrement retardé (début des signes vers 10 mois), et l'atteinte n'est pas plus modérée (atteinte bilatérale dont les 2 yeux ont été multi opérés).

- **COL18A1**

Un des cas GCPI est hétérozygote pour un variant **COL18A1**, non référencé.

Ce gène est analysé en France dans un panel de gènes des vitréorétinopathies familiales (*dans le cadre du syndrome de Knobloch*), mais est inclus à Barcelone dans le panel des glaucomes.

Dans les études, des variants hétérozygotes sont imputés à des glaucomes primitifs par fermeture de l'angle, de transmission dominante (120).

Il semblerait aussi que des variants hétérozygotes *COL18A1* associés à *MYOC* engendrent des GPAO plus précoces, voire des formes juvéniles (121).

Il est très probable que *COL18A1* soit responsable en partie de l'atteinte oculaire pour notre patient, notamment comme facteur de risque.

Aucune autre variation n'a été identifiée dans un autre gène du panel pour ce patient.

- **CRYGC**

Pour le variant hétérozygote **CRYGC** probablement pathogène, le phénotype habituel est plutôt celui d'une cataracte poussiéreuse ou nucléaire, parfois associée à une microcornée, pouvant se compliquer de glaucome par fermeture de l'angle secondairement.

Dans l'étude de Huang, le gène *CRYGC* représente 0.8% des variants pathogènes retrouvés pour les cas de glaucomes par fermeture de l'angle chez l'adulte, de forme primitive cependant, après séquençage complet de l'exome (81).

A ce jour, nous ne pouvons conclure de manière certaine sur une possible nouvelle corrélation génotype-phénotype pour ce patient.

c. Glaucome congénital secondaire

Pour le patient avec syndrome de Seckel non renseigné génétiquement, on a retrouvé un variant hétérozygote **OPTN**, non référencé et de signification indéterminée.

Comme dit précédemment, ce syndrome rare n'est pas connu pour être associé à un glaucome congénital. Des cas de microphthalmies, d'atrophies focales de l'iris (101), de cataractes et de subluxations cristalliniennes (102) ont été cependant fréquemment décrits associés à ce syndrome.

Le gène **OPTN (GLC1E)** quant à lui a été rapporté dans des formes juvéniles de GPAO (122) et des glaucomes à pression normale de début précoce (40,8 +- 15 ans, p=0.0001) pour le variant p.Glu50Lys (123).

Il est tout à fait possible que ce variant soit en lien avec le phénotype oculaire pour ce patient. Le gène en cause pour les manifestations syndromiques quant à lui n'a toujours pas été identifié.

4. Groupe des cas non résolus

a. Proportion des cas résolus / non résolus par phénotype

Les cas non résolus ont la même répartition phénotypique avec une majorité de patients GCPI, phénotype majoritaire de notre cohorte.

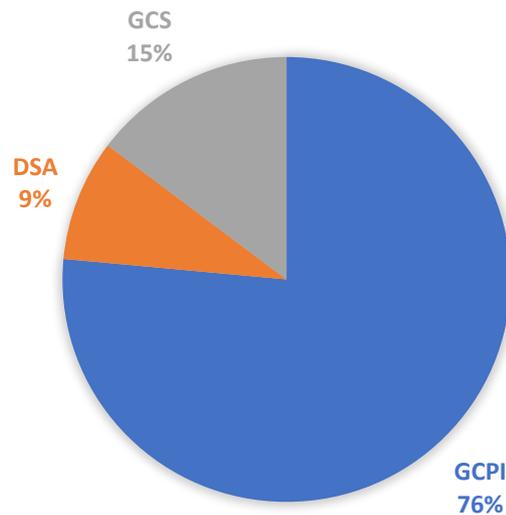


Figure 45 : Proportion des phénotypes pour les cas non résolus

Pour les cas GCPI, 46% ont été résolus ou partiellement résolus, contre 54% non résolus.

Concernant le spectre des DSA, la majorité des cas sont positifs et trois cas demeurent non élucidés. Pour le cas 3 non résolu avec mégalocornée, le séquençage n'a pas permis d'isoler de variant pathogène *PAX6*, présent pour le père et la grand-mère du patient, pour lesquels le phénotype oculaire n'était malheureusement pas précisé dans le cahier d'observation.

Pour les cas avec GCS, 5 cas sur 7 demeurent non élucidés.



Figure 46 : Proportion des cas résolus (comprenant ceux partiellement résolus) et non résolus, pour chaque phénotype de notre cohorte.

b. Proportion des cas résolus / non résolus selon la sévérité

- **L'âge au diagnostic**

Le groupe d'enfants avec glaucome congénital néonatal (âge au diagnostic ≤ 1 mois), bien qu'il soit plus petit, a une proportion de cas résolus à 59%, nettement supérieure au groupe de survenue infantile à 37%.

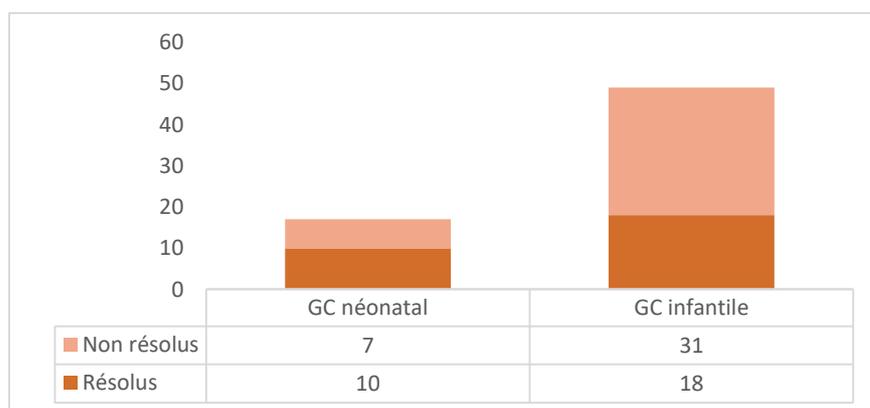


Figure 47 : Nombre de cas résolus (comprenant ceux partiellement résolus) et non résolus, pour les groupes avec GC néonatal (âge au diagnostic ≤ 1 mois) et infantile.

- **L'âge aux premiers signes**

Si l'on considère l'âge d'apparition des premiers signes de glaucome, la proportion de cas résolus reste plus importante dans le groupe néonatal (45%) par rapport au groupe infantile (40%). Cependant, l'écart entre les deux groupes diminue de manière importante.

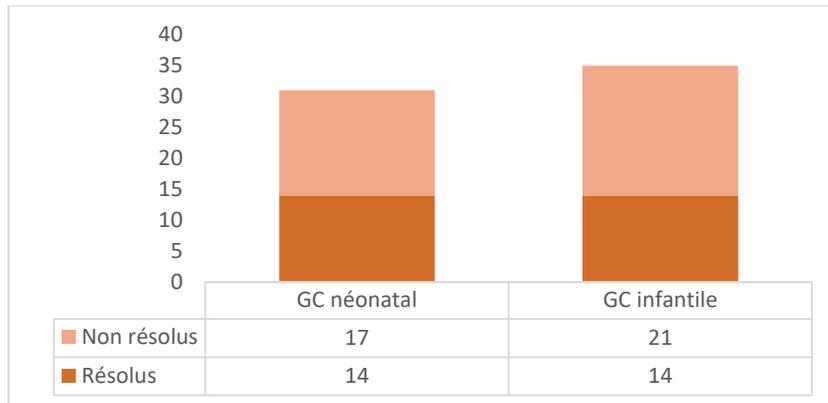


Figure 48 : Nombre de cas résolus (comprenant ceux partiellement résolus) et non résolus, pour les groupes avec GC néonatal (âge au diagnostic ≤ 1 mois) et infantile.

- **La latéralité**

La différence de pourcentage de cas résolus pour les glaucomes unilatéraux ou bilatéraux n'est pas significative entre les deux groupes. La proportion de cas résolus est de 38% pour les glaucomes unilatéraux et de 44 % pour les glaucomes bilatéraux.

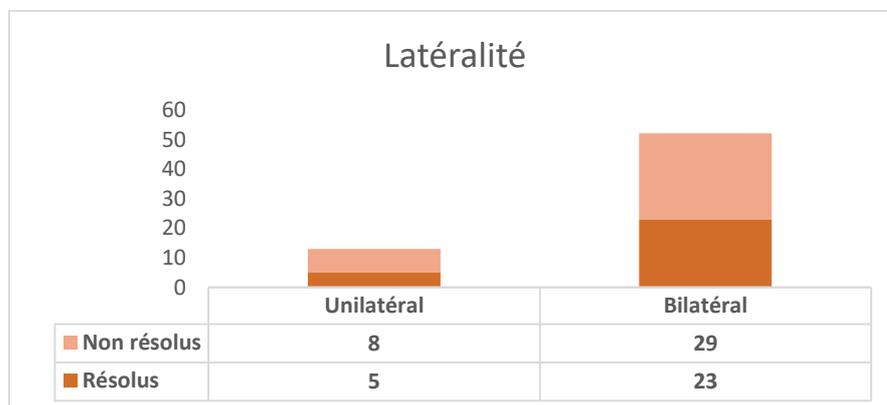


Figure 49 : Nombre de cas résolus (comprenant ceux partiellement résolus) et non résolus, pour le groupe de patients avec GC unilatéral et bilatéral.

- **Patients multi opérés**

Les patients multi opérés correspondent aux cas inclus pour lesquels au moins un œil a subi ≥ 2 interventions chirurgicales, à des moments différents. *Lorsque plusieurs techniques opératoires ont été combinées en un seul temps chirurgical (trabéculotomie et sclérectomie non perforante par exemple), elles ne comptent que pour une seule intervention.*

La proportion des cas résolus est plus importante pour le groupe de patients non multi opérés. Elle est de 48 %, contre 39 % de cas résolus dans le groupe de patients multi opérés.

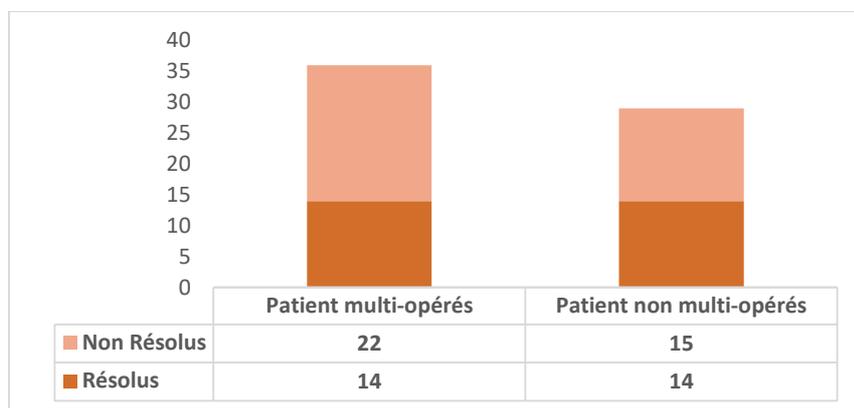


Figure 50 : Nombre de cas résolus (comprenant ceux partiellement résolus) et non résolus, pour le groupe de patients multi opérés et non multi opérés.

c. Proportion des cas résolus/non résolus selon l'histoire familiale

Parmi les 19 patients pour lesquels une histoire familiale était rapportée dans le cahier d'observation, 9 cas ont été résolus ou partiellement résolus (47%). Parmi eux était rapportée une union consanguine de degré 2 chez les parents du cas 20.

La proportion de cas résolus chez les enfants sans antécédents familiaux d’anomalies oculaires congénitales était plus faible, à 39%.

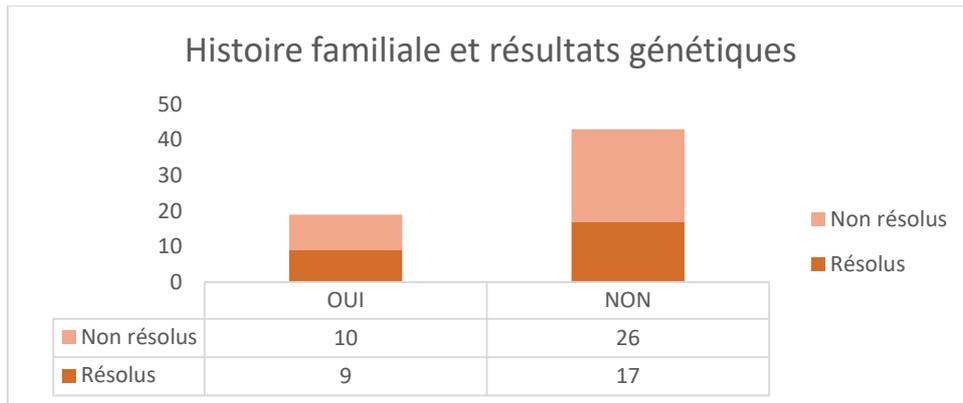


Figure 51 : Nombre de cas résolus (comprenant ceux partiellement résolus) et non résolus, pour le groupe de patients avec et sans antécédents familiaux d’anomalies oculaires congénitales.

d. Proportion de cas résolus pour les enfants issus d’unions consanguines

En totalité, parmi les 4 unions consanguines connues de notre cohorte, seulement un cas déclarait des antécédents familiaux de glaucome congénital (cas 20, partie c)).

Deux enfants (cas 20 et 29) issus de ces unions ont été élucidés sur le plan génétique et un enfant est partiellement élucidé (cas 51, union consanguine de degré 1).

Le seul cas non élucidé (cas 60) était issu d’une union consanguine de degré 3, plus éloigné.

5. Corrélation génotype-phénotype pour les cas porteurs de variants *CYP1B1*

En totalité, le génotype *CYP1B1* concerne 44 % des 25 patients glaucomateux.

- *CYP1B1* et atteinte précoce

Parmi les 25 patients glaucomateux résolus ou partiellement résolus de notre cohorte (exclusion des 3 patients avec DSA sans glaucome), la moitié (12 cas) a présenté les premiers signes de glaucome entre 0 et 1 mois de vie.

Parmi eux, 58% sont porteurs de variants délétères pour le gène *CYP1B1*.

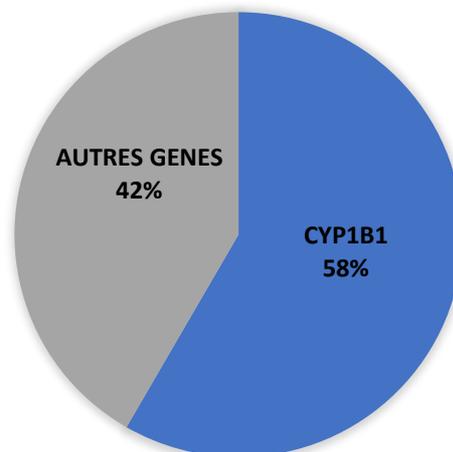


Figure 52 : Proportion des enfants porteurs de variants *CYP1B1* dans le groupe des glaucomes congénitaux résolus (comprenant ceux partiellement résolus) d'apparition néonatale (≤ 1 mois de vie).

Parmi les 13 autres patients glaucomateux résolus ou partiellement résolus dont les premiers signes sont apparus plus tardivement, 31 % sont porteurs de variants délétères pour le gène *CYP1B1*.

- **CYP1B1 et phénotype**

Pour tous les cas résolus avec variants causals *CYP1B1*, le phénotype oculaire correspond à un **glaucome congénital primitif isolé**.

Parmi eux, 6 cas sont résolus et 4 sont partiellement résolus.

a. Proportion totale des variants *CYP1B1* identifiés dans notre cohorte

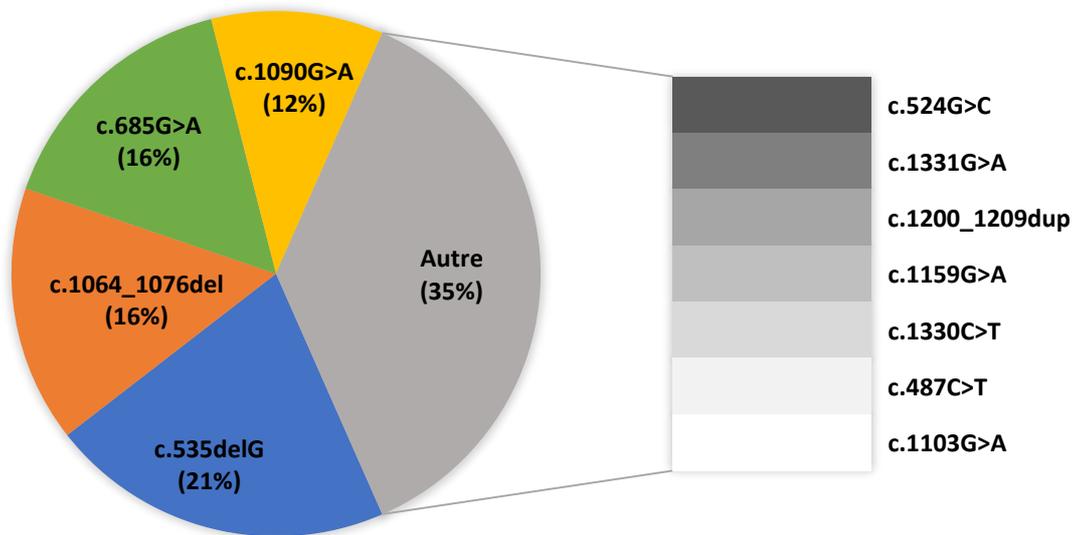


Figure 53 : Proportion des variants *CYP1B1* identifiés pour les cas résolus et partiellement résolus dans notre cohorte. Chaque variant dans le groupe « autre » est présent une fois, et compte pour 5 %.

b. c.535del, p.(Ala179Argfs*18)

Deux patients lillois, les cas 20 et 29, ont le même génotype avec un variant délétère *frameshift* homozygote **c.535del**.

Le phénotype est également similaire, avec des signes cliniques en faveur d'un GC bilatéral dès la naissance, confirmé par un examen sous AG à moins d'une semaine de vie. Une intervention chirurgicale de type trabéculotomie a été efficace pour contrôler le tonus oculaire pour chaque œil, sans autre intervention.

Pour les parents de ces deux enfants, une union consanguine de degré 2 est rapportée. Il est par ailleurs possible qu'un lien familial unisse ces deux cas entre eux, mais nous n'en avons pas la certitude.

c. c.1064_1076del, p.(Arg355Hisfs*69)

On remarque qu'un variant pathogène *frameshift* **c.1064_1076del** est présent à l'état hétérozygote composite pour 3 patients élucidés :

- Deux cas nantais :
 - le patient 58, associé à un autre variant délétère faux-sens : **c.1331G>A**
 - le patient 59, associé à un second variant *frameshift* pathogène : **c.1200_1209dup**
- Le patient 12, dont le variant causal *ABCB6* est associé à deux variants *CYP1B1* dont un seul, c.1064_1076del, est pathogène.

Pour ces trois patients, le GCPI est bilatéral, diagnostiqué dès la naissance, et associé à **d'autres malformations oculaires ou générales**, dont :

- une malformation congénitale bilatérale du nerf optique en fleur de liseron (Morning glory syndrome) plus sévère à gauche, pour le cas 58.
- un embryotoxon bilatéral et une fossette colobomateuse unilatérale, pour le cas 59.
- pour le cas 12, il est indiqué que l'examen pédiatrique est anormal, sans autres précisions.

d. c.1090G>A, c.1159G>A et c.1330C>T

Pour les deux derniers cas résolus *CYP1B1*, le GCPI est bilatéral également, et les signes étaient aussi présents dès la naissance.

- Le cas 63 a été multi opéré aux deux yeux. Il est hétérozygote composite pour deux variants pathogènes, référencés dans HGMD : un variant faux-sens **c.1159G>A** et un non-sens **c.1330C>T**.
- Le cas 65, non multi opéré, est homozygote pour un variant pathogène faux-sens **c.1090G>A**, également décrit dans la littérature.

e. Cas hétérozygotes simples partiellement résolus

Pour les cas partiellement résolus, un seul variant faux-sens hétérozygote est identifié, ne permettant pas de conclure avec certitude sur le génotype.

- **c.487C>T, p.(Arg163Cys)**, pour le cas 18, classé VSI (SNV3).

C'est un variant rare, pour lequel la séquence nucléotidique et l'acide aminé sont peu conservés.

- **c.1103G>A, p.(Arg368His)**, pour le cas 57, classé probablement pathogène (SNV4).

Ce variant est souvent retrouvé dans la littérature comme variant causal, à l'état homozygote ou hétérozygote composite.

Sa fréquence dans la population générale est de 0.5%, et jusqu'à 2% chez les juifs ashkénazes, du fait d'un probable effet fondateur.

Un degré de pénétrance variable a été rapporté pour ce variant (15).

- Nous ne revenons pas sur les cas 4 et 44, porteurs du **variant hypomorphe c.685G>A** (page 115).

6. Corrélation génotype-phénotype pour les autres cas résolus

a. GCPI : 4 cas

- **ABCB6**

Deux patients ont un variant pathogène pour le gène ABCB6.

Pour le cas 7, le variant hétérozygote situé dans le cadre de lecture **c.278_292del** n'est pas référencé dans HGMD.

Pour ce patient, le diagnostic a été fait à l'âge de 5 mois et l'atteinte est bilatérale, avec un œil multi opéré. Aucune autre anomalie ophtalmologique n'est associée pour ce patient, de type microphthalmie ou colobome notamment.

Bien que le gène ABCB6 n'ait jamais été rapporté dans des cas isolés de GCP, son imputabilité reconnue dans le spectre des dysgénésies oculaires nous fait penser que ce variant délétère est en lien avec le phénotype oculaire du patient.

Pour le cas 12, le variant causal *frameshift* **c.11_12del** est aussi situé dans le gène ABCB6. Il n'était pas connu antérieurement dans les études.

Pour ce patient, le GCPI était diagnostiqué dès la naissance, aux deux yeux. Il est notifié par ailleurs que l'examen pédiatrique est anormal pour ce patient, mais nous n'avons pas eu accès aux précisions cliniques.

Comme dit précédemment, deux variants *CYP1B1* ont aussi été identifiés pour ce patient, dont un seul est pathogène (c.1064_1076del), retrouvé à l'état hétérozygote composite pour deux autres cas résolus.

Il est possible que ce variant CYP1B1 ait un effet additionnel sur le phénotype, mais nous ne pouvons l'affirmer de manière certaine.

- **TRPM3**

Un patient est confirmé sur le plan génétique avec un variant hétérozygote *frameshift* c.4627del dans le gène *TRPM3*, peu connu. Ce variant rare n'est pas référencé dans HGMD.

Il s'agit d'un patient avec GCPI bilatéral, sans autres signes associés, diagnostiqué à l'âge de 7 mois mais dont les premiers signes étaient présents dès la naissance.

Pour ce patient, il sera intéressant de connaître le statut parental vis-à-vis de ce variant pathogène, afin d'enrichir les connaissances sur l'imputabilité du gène *TRPM3*, peu décrit dans la littérature.

Ce gène a été inclus dans notre panel d'essai car il a été rapporté chez des patients avec **cataractes héréditaires, glaucomes primitifs congénitaux (3 cas), juvéniles (9 cas) ou des formes secondaires par fermeture de l'angle (124).**

Dans cette étude, le variant faux-sens identifié chez les membres atteints de cette grande famille co-ségrégait à chaque fois avec la maladie sur cinq générations, selon le mode dominant. Certains cas ont d'autres anomalies oculaires associées, de type reliquat de membrane pupillaire ou anomalies iriennes.

En outre, pour un patient avec syndrome de Kabuki (*dysmorphie, retard de croissance, anomalies squelettiques, persistance des coussins de type foetal, déficit intellectuel*), une grande délétion de 1,26Mb impliquant 4 gènes dont *TRPM3* a été rapportée (125). Malheureusement, l'analyse ciblée du gène n'a pas permis de mettre en évidence de variant délétère chez 41 patients atteints de ce syndrome, ce qui ne permet pas d'affirmer à ce jour que *TRPM3* soit un facteur génétique majeur pour cette pathologie.

Fait intéressant, le syndrome de Kabuki se complique fréquemment de nombreuses malformations oculaires : cataractes, anomalies de Peters, colobomes, microphthalmie (126)

Par ailleurs, d'après les études fondamentales, il s'avère que *TRPM3* est exprimé dans le **corps ciliaire**, l'épithélium du cristallin et l'épithélium pigmentaire de la rétine.

Aussi, récemment, il a été démontré que *PAX6* régule *TRPM3* pour le développement des yeux chez la souris (127).

- ***WDR36***

Pour le cas 33 de notre cohorte, c'est le gène ***WDR36*** qui est en cause, avec un variant délétère faux-sens **c.1586G>A**.

Ce variant est référencé dans HGMD et imputé au GPAO de l'adulte (128).

Le phénotype du patient dans notre cohorte est plus modéré, avec un GCPI néonatal unilatéral, sans autres anomalies.

Dans la littérature, de rares variants délétères *WDR36* ont été identifiés chez des patients avec GCPI (129).

Par ailleurs, il semblerait que la double hétérozygotie *MYOC/WDR36* soit responsable d'un phénotype plus sévère de GPAO, voire une forme juvénile (130).

b. DSA : 4 cas• **PAX6**

Concernant le patient 23, nous avons confirmé la présence du variant pathogène *frameshift c.231_232del* pour le gène **PAX6** connu chez la mère du cas index, atteinte d'aniridie.

En plus d'une aniridie bilatérale et d'une insuffisance limbique marquée, d'autres anomalies oculaires sont présentes pour cet enfant, sans glaucome : mégalocornée, persistance du vitré primitif, cataracte polaire congénitale bilatérale.

• **CHRDL1**

Le patient 6 avec **sclérocornée** unilatérale est hémizygoté pour un variant délétère faux-sens **c.626G>T**, situé dans le gène **CHRDL1**, de transmission récessive liée à l'X. Ce variant n'est pas référencé dans HGMD.

Le gène *CHRDL1* est bien connu et imputé aux mégalocornées (131).

Les caractéristiques associées à ce gène peuvent inclure une atrophie du stroma irien, un iridodonsis, une luxation cristallinienne voire une cataracte.

Certains cas rares dans la littérature présentent également des anomalies cornéennes, comme la dystrophie cornéenne de type *crocodile shagreen* à l'âge adulte (132) ou un gérontoxon juvénile (131).

Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature de sclérocornées avec variation pathogène dans le gène *CHRDL1* rapportée à ce jour.

En outre, nous avons vu précédemment que le phénotype « sclérocornée » possède une grande hétérogénéité génétique, avec de nombreux gènes de développement en cause, comprenant entre autres *BMP4*, *FOXE3*, *GJA8*, *PXDN* et *RAX* (60) (61) (62) (63) (64).

De cette manière, le phénotype est également très hétérogène, puisque la sclérocornée peut être isolée ou associée à d'autres anomalies oculaires pouvant s'intégrer dans une pathologie syndromique (65).

Pour ce patient, la sclérocornée est unilatérale, bien qu'une petite opacité au limbe isolée et peu opaque soit rapportée également du côté de l'œil « sain ».

Par ailleurs, une mégalocornée avec un diamètre cornéen horizontal à 11 mm à l'âge de 2 mois est mesurée aux deux yeux pour ce patient.

Habituellement, les anomalies oculaires associées aux sclérocornées sont plutôt de type microcornée, avec microphthalmie, anophthalmie ou aphakie.

- Pour ce patient, il est possible que la mesure du diamètre cornéen ait été difficile à évaluer objectivement, du fait des opacités limbiques.
- **Il est par ailleurs probable que cette particularité anatomique inhabituelle pour ce phénotype soit liée à *CHRD1*, responsable pour la première fois d'un sclérocornée partielle.**
- **L'autre hypothèse proposée pour ce patient est que le phénotype de départ ait été mal considéré par les cliniciens (biais de classement),** avec des opacités bilatérales asymétriques d'étiologie inconnue à ce jour, non en lien avec une authentique sclérocornée primitive.

On note également pour ce patient une longueur axiale qui paraît augmentée surtout à gauche, du côté de l'œil atteint.

La pression intraoculaire est quant à elle dans les normes, pour les deux yeux, éliminant l'hypothèse d'une éventuelle buphtalmie secondaire à une complication de type glaucome congénital.

Malheureusement, nous ne disposons pas des relevés d'examens réalisés *a posteriori* pour juger de l'évolution des données biométriques chez cet enfant.

Œil sain	Œil atteint
Examen sous AG à 11 semaines de vie	
Réfraction : +0.50 (-1.25) 110°	+8.75 (-6) 80°
Pachymétrie : 490 µm	540 µm
Diamètre cornéen à 11 mm	11 mm
« Opacité limbique isolée peu dense »	« Opacité néovascularisée avec aspect de sclérocornée, néovaisseaux temporaux inférieurs »
PIO 8 mmHg	10 mmHg
Segment antérieur normal	SA normal et UBM normal
Angle iridocornéen normal	AIC normal
Fond d'oeil normal	FO normal
Longueur axiale : 20.85 mm	LA : 21.26 mm

Figure 54 : Données ophtalmologiques rapportées pour le patient 6 porteur d'un variant hétérozygote délétère dans le gène *CHRD1*. Premier examen sous anesthésie générale.

- **FOXC1**

Le patient 53 a un phénotype Axenfeld-Rieger bilatéral, compliqué d'un glaucome congénital néonatal aux deux yeux, diagnostiqué à l'âge d'un mois.

Le gène *FOXC1* est un des gènes majeurs pour ce phénotype, avec *PITX2*. Il est aussi décrit dans des cas de GCPI.

Le variant délétère faux-sens **c.505C>T** est un nouveau variant, non référencé dans HGMD.

- **ZEB1**

Nous avons identifié un variant hétérozygote délétère *frameshift c.1328_1331del* situé dans le gène *ZEB1* chez le patient 5.

Son phénotype oculaire correspond à une **mégalocornée bilatérale isolée. Un antécédent familial de glaucome congénital était connu pour ce patient.**

Des anomalies générales étaient également rapportées, avec existence d'une communication inter auriculaire (*ostium secundum*) et sténose hypertrophique du pylore.

Le gène *ZEB1* est encore peu connu mais il est pour le moment imputé dans les dystrophies cornéennes endothéliales de Fuchs (133) ou postérieures polymorphes (134) (135).

L'analyse de la ségrégation familiale permettra de documenter l'imputabilité de ce gène chez les membres atteints de la famille.

c. GCS

Comme dit précédemment, un variant pathogène faux-sens c.214A>G pour le gène *EYA1* a été identifié chez le patient avec syndrome de Townes Brocks, non référencé dans HGMD.

Pour ce patient, le glaucome congénital a été diagnostiqué à l'âge de 2 mois. Il est bilatéral, sans autres anomalies ophtalmologiques associées.

Un antécédent familial de GC avait été rapporté pour ce patient dans le cahier d'observation, sans précision phénotypique.

Le gène *EYA1* est impliqué dans le syndrome branchio-oto-rénal (syndrome BOR), qui correspond aussi aux anomalies cliniques décrites chez ce patient (dysplasie rénale et malformations du conduit auditif externe).

Aucun glaucome congénital n'a été décrit associé à ce syndrome dans la littérature. Les anomalies ophtalmologiques en général ne font pas partie du phénotype BOR. Un unique patient avec variation *EYA1* responsable d'un syndrome BOR et anomalies oculaires de type cataractes congénitales bilatérales a été décrit dans la littérature (106).

Cependant, isolément, le gène *EYA1* est fréquemment décrit pour des cataractes congénitales et dysgénésies du segment antérieur, dont l'anomalie de Peters, non syndromiques (107)

DISCUSSION

I. Points forts

A. Validité des résultats

La taille de notre cohorte et le grand nombre de gènes analysés dans notre panel d'essai sont les atouts majeurs de notre étude.

Aussi, nos résultats bruts de séquençage sont très satisfaisants, avec une profondeur et un taux de couverture validés. L'analyse bio-informatique des données à partir de deux pipelines distincts a permis de limiter le risque d'erreurs et de perte d'information lors de l'étape de traitement.

Grâce à la bonne qualité méthodologique des analyses, notre étude est ainsi conforme aux données bibliographiques.

En effet, les résultats retrouvés dans notre population sont ceux des grandes études internationales, avec le gène *CYP1B1* impliqué dans la majorité des cas.

Par ailleurs, **nos résultats confirment l'idée d'une même entité génétique pour les glaucomes congénitaux dits primitifs ou secondaires, portant sur la cascade de gènes de développement.** En effet, dans notre cohorte on relève :

- des cas avec GCPI ayant un variant délétère dans les gènes habituellement imputé aux malformations oculaires de type cataracte ou ectopie cristallinienne (*ADAMTSL4*, *CRYGC* et *TRPM3*).
- un patient avec glaucome syndromique porteur d'un variant causal situé dans le gène *EYA1*, habituellement imputé aux anomalies oculaires diverses isolées, non syndromiques.

B. Nouvelles données

Plusieurs des variations identifiées dans notre étude n'ont encore jamais été décrites.

En outre, certaines de ces variations sont associées à un phénotype qui n'est pas celui classiquement observé.

Pour exemple, nos analyses ont permis de démontrer dans notre cohorte l'implication du gène *ABCB6* comme second gène majeur dans les GCPI. Ce gène est habituellement responsable de dysgénésies oculaires de type microphthalmie et colobomes.

Pour les dysgénésies du segment antérieur, certains gènes bien décrits dans la littérature dans une pathologie oculaire précise, sont retrouvés dans notre étude associés à un phénotype distinct. C'est notamment le cas des gènes ***ZEB1* (mégaloconée, habituellement dystrophie endothéliale)** et ***CHRD1* (scléroconée, habituellement mégaloconée)**.

C. Validité du panel d'essai

Nous avons volontairement choisi d'inclure à notre panel, des gènes décrits dans d'autres phénotypes que les GCPI, afin de couvrir des tableaux cliniques plus hétérogènes ou chevauchants. Certains résultats positifs confirment la méthode de sélection des gènes pour l'élaboration du panel d'essai.

En effet, notre panel d'essai de 150 gènes a permis d'identifier des variants délétères pour 4 gènes non analysés en France, dont : *ASB10*, *OPTN*, *TRPM3* et *WDR36*.

D'autres gènes incriminés dans notre cohorte sont séquencés en France, mais dans des panels de diagnostic non liés aux glaucomes congénitaux, comme *COL18A1* (panel des vitréorétinopathies) et *ZEB1* (panel des dystrophies cornéennes).

II. Limites et discussion

A. Les biais

Il est possible que pour le groupe de patients lillois, les données phénotypiques soient mieux renseignées que pour les autres groupes de population pour lesquels nous ne disposons pas directement de l'ensemble des données. L'interprétation du phénotype oculaire qui en découle pourrait être biaisée par cet « effet centre » (dû au caractère multicentrique de l'étude), qui est opérateur dépendant.

1. *Biais d'information*

a. Défaut d'information à l'inclusion

Certaines données n'ont pas été recueillies dans le cahier d'observation, via l'*e-crf*, comme les antécédents familiaux ou les informations relatives aux examens pédiatriques éventuellement réalisés.

Malheureusement, certains monitorings mis en place pour compléter le recueil d'informations au sein des centres investigateurs n'ont pas pu être finalisés à ce jour, du fait d'un manque de disponibilité, aggravé par la situation sanitaire actuelle.

Aussi, nous avons remarqué certaines abréviations et erreurs dans la retranscription des informations. Notamment concernant la classification « type de glaucome », qui pouvait parfois ne pas correspondre aux données médicales de l'examen éveillé ou sous anesthésie générale.

A chaque fois, si nécessaire, une correspondance directe avec les centres investigateurs a été menée afin d'éclaircir certains phénotypes, parfois sans résultats.

Il est prévu que les attachés de recherche clinique se déplacent de nouveau dans certains centres pour compléter au mieux la base de données, de manière plus puissante.

b. Facteurs de confusion

L'exposition foetale à d'éventuels facteurs environnementaux n'est pas relevée dans le cahier d'observation à l'inclusion.

Il aurait été intéressant d'évaluer la prévalence d'éventuels facteurs tératogènes, notamment pour le groupe de patients non résolus.

c. Données subjectives

Certaines données subjectives peuvent être à l'origine d'un biais statistique pour l'analyse de population et de résultats.

Pour exemple : la consanguinité, l'histoire familiale et l'âge d'apparition des premiers signes cliniques sont des critères majeurs pour l'analyse de la corrélation génotype-phénotype. Cependant, ces informations sont recueillies de manière subjective et le nombre de patients répondants à ces critères peut être sous estimé.

d. Défaut d'information au cours du suivi

Les données cliniques des examens sous anesthésie générale ou en consultation éveillée au cours du suivi sont parfois incomplètes.

Bien que la plupart des patients soient maintenant âgés de 4 ans, la fiche « acuité visuelle à 4 ans » n'est malheureusement pas renseignée pour beaucoup de patients à ce jour.

Par ailleurs, aucune anomalie générale associée au phénotype oculaire, éventuellement diagnostiquée après l'inclusion au protocole, n'a été rapportée dans l'*e-crf*.

Nous ne savons pas s'il s'agit d'un manque d'informations ou si pour tous les patients avec phénotype oculaire pur au départ, aucune autre anomalie pédiatrique générale n'est survenue après l'inclusion.

Par défaut, ces données médicales complémentaires ne sont pas demandées dans la partie « suivi » du cahier d'observation.

Pour les patients avec variant identifié dans les gènes *TECTA* et *TYR* notamment, nous avons sollicité les membres investigateurs pour avoir la confirmation de l'absence de surdité ou de signes évocateurs d'albinisme oculo-cutané associés au phénotype, qui auraient pu être diagnostiqués après la prise en charge urgente du glaucome congénital.

Bien que ces deux gènes nous semblent finalement peu pertinents pour le phénotype oculaire en cause, nous souhaitons de principe accéder à ce complément d'information.

2. *Biais d'analyses*

a. Défaut de qualité

Pour notre cohorte de patients, nous n'avons jamais détecté de grand réarrangement génique de type délétion ou duplication. Pour certains, c'est la qualité médiocre de l'ADN du fait d'une cryoconservation trop longue qui est en cause.

Ainsi, il est tout à fait possible d'envisager que pour les cas partiellement résolus notamment, certains CNV existants n'ont pas pu être détectés. Cela modifierait de manière conséquente le pourcentage de patients élucidés dans notre cohorte.

Pour la même raison, le séquençage génétique a échoué pour trois patients avec GCPI.

Pour deux des ces patients, il semble exister un évènement dans le gène *CYP1B1*, mais sans certitude, puisqu'il peut s'agir d'un artefact de séquençage. Un nouveau prélèvement est nécessaire pour contrôle.

Pour le gène *CPAMD8*, la couverture médiocre n'a pas permis l'analyse de résultats.

En effet, au cours de l'analyse, nous avons observé une discordance entre la séquence nucléotidique de référence et celle rapportée dans le fichier bio-informatique des résultats (DVD). Ceci s'explique certainement par la sélection dans notre panel du mauvais transcrit du gène, qui a donc été improprement séquencé.

De ce fait, des variants d'intérêt pour notre cohorte de patients n'ont peut être pas été détectés par notre méthode de séquençage pour ce gène lié aux dysgénésies du segment antérieur (136).

Un autre gène d'intérêt, *FKHR (FOXO1A)*, n'a finalement pas été séquencé. Il avait été confondu lors de la commande de kit de séquençage avec un autre gène, non candidat (*FOXO3*).

Aucune variation délétère associée aux glaucomes congénitaux n'avait cependant été rapportée pour le gène *FKHR*. Nous avons inclus ce gène au panel car les études fondamentales le considéraient potentiellement lié aux glaucomes congénitaux, du fait d'une forte expression trabéculaire associée à *FOXC1*.

b. Biais de sélection des gènes intégrés au panel

L'élaboration du panel lillois de gènes candidats pour le glaucome congénital a été réalisée courant 2018-2019.

Depuis, de nouveaux gènes répertoriés se sont intégrés aux panels réalisés en France, notamment dans le panel analysé à Necker pour le diagnostic de l'aniridie et de la dysgénésie oculaire, comptabilisant 5 nouveaux gènes *ADAMTS9*, *COL4A1*, *COL4A2*, *TMEM92* et *TRIM44*. Parmi eux, seul le gène *COL4A1* avait été inclus au panel d'essai lors de sa création.

Dans l'intervalle, un autre panel pour le diagnostic des anomalies du segment antérieur a vu le jour à Necker, comprenant 44 gènes dont 17 n'avaient pas été incriminés à Lille au moment de l'élaboration du séquençage génétique.

Beaucoup de ces gènes sont en lien avec les cataractes héréditaires ou les colobomes.

Panel NGS : « Diagnostique des anomalies du segment antérieur ».	
Liste des maladies testées	Liste des gènes étudiés (<i>figurent en gras les gènes non séquencés dans le panel lillois</i>)
Aniridie isolée Anomalie de Peters Anomalie papillaire de type morning glory Aphakie primaire congénitale Cataractes héréditaires et Colobomes Spectre de dysplasie septo-optique Syndrome WAGR Syndrome d'Axenfeld-Rieger Syndrome d'aniridie-ataxie cérébelleuse- déficience intellectuelle Syndrome de cataracte-glaucome Syndrome de cataracte-microcornée	<i>B3GLCT, BMP4, CHRDL1, CLU, CRYAA, CRYAB, CRYBA1, CRYBA2, CRYBA4, CRYBB1, CRYBB2, CRYBB3, CRYGA, CRYGB, CRYGC, CRYGD, CYP1B1, EYA1, FOXC1, FOXE3, FOXL2, FRMD7, GJA1, GJA3, GJA8, HMX1, LIM2, LOXL1, LTBP2, MAB21L2, MAF, MIP, MSX2, NHS, PAX6, PITX2, PITX3, PROX1, SIX3, SOX2, TDRD7, TFAP2A, TUBE1, VIM</i>

B. Discussion à propos des gènes « *border lines* » de notre panel

Lors de la mise en place de notre panel d'essai, nous avons sélectionné un certain nombre de gènes sur la base des données récentes de la littérature.

Néanmoins, après analyse de notre cohorte, plusieurs variants situés dans ces « gènes pseudo-candidats » ont été retrouvés, mais aucun n'était pathogène, tous étaient soit bénins soit de signification indéterminée.

Notre étude sur une cohorte élargie de 66 patients a ainsi permis d'écartier certains de ces gènes dans la genèse des glaucomes congénitaux.

Les études en question concernent notamment :

- **L'étude de Lee, en 2011: « *Analysis of copy number variation using whole genome exon focused array CGH in Korean patients with primary congenital glaucoma* » (82) :**

Chez 12 patients avec GCPI, 25 CNV avaient été identifiés contenant des gènes rares, peu connus et non associés antérieurement à des cas de glaucomes (hormis le gène connu *B3GNTS1*), parmi une cohorte de 20 patients coréens.

Ces CNV n'étant pas retrouvés chez les témoins, les gènes présents dans ces grands réarrangements étaient supposés être d'éventuels gènes candidats pour le glaucome congénital. Il s'agissait de : *ACVR1C*, *ADAMTSL3*, *ANO7*, *B3GNT1*, *BRMS1*, *BTAF1*, *CSNK2A2*, *DEM1*, *FAM120A*, *FAM120AOS*, *GAL3ST3*, *GATA6*, *GNB5*, *GPR12*, *HEY1*, *LRRC4*, *MAP6*, *PGAM5*, *PHIP*, *RAD54B*, *SLC4A3*, *SND1*, *TAL1*, *TCF7L1*, *TCF7L2*, *TECTA*, *XKR4*, *ZNRF1*.

Dans notre cohorte, des variants situés dans ces gènes pseudo-candidats ont été identifiés mais nous considérons l'ensemble de ces variants non en lien avec le phénotype oculaire, du fait de plusieurs arguments.

- Premièrement, ces gènes sont rares et peu connus, également pour leur mode de transmission. Ainsi, il n'est pas possible de statuer pour la majorité des variants qui sont trouvés à l'état hétérozygote.
- Deuxièmement, le phénotype présenté ne correspondait pas aux caractéristiques attendues pour le gène en cause.

Pour le gène *TECTA* par exemple, bien que des variants SNV4 aient été identifiés, nous ne les considérons pas en lien avec le phénotype oculaire en l'absence de surdité associée, atteinte majeure connue et rapportée pour ce gène.

- Troisièmement, les études fondamentales, lorsqu'elles ont été réalisées, n'établissent pas pour ces gènes candidats un possible rôle dans une voie de développement oculaire, sauf pour trois gènes seulement : *GATA6* (137), *HEY1* (138) et *SMAD7* (89).

Pour finir, le postulat de départ considérant que des gènes inclus dans de grands CNV puissent être considérés comme possibles gènes candidats, sans « preuve mutationnelle » associée, nous semble peu puissant. De plus, comme dit précédemment, aucun grand réarrangement génique de type duplication ou délétion n'a été retrouvé pour les patients de notre cohorte.

- **L'étude d'Hendee, en 2017 (85) :**

Une famille de trois générations comprenant dix personnes atteintes d'un phénotype oculaire très variable (glaucome congénital et/ou anomalie d'Axenfeld-Rieger, myopie, décollement de rétine) associé à des anomalies systémiques (hypothyroïdie congénitale, surdité, microcéphalie, anomalies dentaires, anomalies rénales, anomalies vasculaires) ont bénéficié d'un séquençage d'exome complet.

Cette analyse a identifié plusieurs variants rares candidats pour le phénotype, situés dans les gènes peu connus : *ADAMTSL1*, *BNIP2*, *CCT5*, *ELL3*, *PLD4*, *PRPH*, *TAS1R2* et *XYLT1*.

Parmi eux, certains codent pour des protéines exprimées dans l'œil dont *ADAMTSL1*, *BNIP2*, *CCT5* et *XYLT1* qui est impliqué dans le pseudoxanthome élastique.

Dans notre cohorte, aucun variant délétère n'a été identifié pour ces gènes.

- **Gènes pouvant être associés au glaucome dans les études fondamentales :**

Pour *BMP7* (86) et *TYR* (91) (92), nous ne retenons pas de variant délétère en lien avec le phénotype.

Bien que plusieurs variants soient identifiés pour le gène *TYR*, ils sont tous à l'état hétérozygote et peu pertinents pour le phénotype oculaire.

- **Gène pseudo-candidat pour le glaucome congénital secondaire : *NPHS1* (139) :**

Reis a rapporté pour la première fois en 2016 le cas d'un enfant avec glaucome congénital et syndrome néphrotique en lien avec *NPHS1*.

L'analyse génétique a permis d'identifier pour ce patient des variants délétères hétérozygotes composites pour deux gènes, *CYP11B1* et *NPHS1*, expliquant à eux deux les atteintes oculaires et systémiques.

En l'intégrant dans notre cohorte, nous souhaitons voir si d'éventuels facteurs de risque *NPHS1* pouvaient être liés isolément à une atteinte oculaire seule ou syndromique, comme pour *NPHS5* (*LAMB2*), bien connu dans le syndrome de Pierson (syndrome néphrotique et DSA).

Ceci n'a pas été vérifié, et *NPHS1* ne doit pas être considéré comme un gène d'intérêt pour les glaucomes congénitaux.

- **Variants situés dans le gène *NF1* :**

Dans notre cohorte, l'ensemble des variants *NF1* sont des polymorphismes, sauf pour deux patients génétiquement résolus, porteurs de variants pathogènes *NF1* à l'état hétérozygote :

- le cas 33 (variant causal *WDR36*) porteur d'un variant non-sens *NF1* :
c.5543T>C, p.(Leu1848*)
- le cas 63 (homozygote *CYP1B1*), porteur d'un variant faux-sens *NF1* :
c.7070T>C, p.(Val2357Ala)

Il est possible que ces variants soient en partie responsables du phénotype, même en l'absence de neurofibromatose systémique.

Cependant, en l'absence de preuve de localisation tissulaire associée pour ces variants au niveau oculaire, la corrélation phénotype-génotype ne peut être établie avec certitude pour ce gène.

- **Variants non hérités et mosaïcisme tissulaire : le gène *GNAQ* (140) :**

Dans notre cohorte, aucun variant délétère n'a été retrouvé pour le gène *GNAQ* dans l'ADN leucocytaire, y compris chez les enfants atteints du syndrome de Sturge Weber Krabbe.

Cela correspond aux données de la littérature.

C. Discussion à propos des cas partiellement et non résolus

Les cas partiellement résolus dans notre étude peuvent être considérés potentiellement élucidés du fait de plusieurs arguments.

Pour certaines hérédités autosomiques récessives par exemple, un seul variant a été identifié dans notre panel. **Le second variant est possiblement localisé dans des régions non couvertes par notre méthode de séquençage haut-débit, notamment dans les régions introniques.**

De plus, tous les gènes analysés dans notre panel d'essai n'ont pas une couverture totale de 100%.

Pour ces cas partiellement élucidés, on pourrait aussi émettre l'hypothèse d'un digénisme, pour lequel le second gène n'est pas inclus dans notre panel d'essai.

En effet, notre panel n'explore sans doute pas la totalité des gènes impliqués dans les voies de développement oculaire, certains restants probablement méconnus à ce jour.

Ce mode de transmission est rare cependant et cette hypothèse n'est pas privilégiée.

Pour d'autres cas, l'état actuel des connaissances ne permet pas de statuer sur la pathogénicité du variant. Il est alors classé "variant de signification indéterminée".

Cela peut être le fruit d'un manque de connaissances et de descriptions dans la littérature, du fait de la pathologie rare et peu connue que représente le glaucome congénital sur le plan génétique.

Il est possible que ces variants soient finalement référencés plus tard comme des variants d'intérêt, notamment si le séquençage haut-débit se généralise pour les enfants glaucomateux.

Par ailleurs, à ce stade de notre étude, l'analyse génétique des parents n'a pas encore été réalisée. **Certains variants en cause pourront être considérés définitivement pathogènes après réalisation du séquençage ciblé chez les deux parents du variant suspecté.**

Dans ce sens, il faudra confirmer la présentation *de novo* du variant causal pour les cas sans antécédent parental de glaucome congénital.

En présence d'antécédents familiaux, l'identification du variant suspect chez tous les membres atteints du groupe familial avec phénotype similaire est un argument de poids supplémentaire.

Pour les hérédités récessives, il conviendra de prouver la ségrégation parentale pour chaque allèle, chaque parent étant porteur hétérozygote sain.

Aussi, il n'est pas exclu que pour les cas non résolus, l'évènement délétère pour le gène candidat du panel ne soit présent qu'au niveau du tissu oculaire, dans l'angle irido cornéen notamment.

Il pourrait s'agir d'un mosaïcisme somatique, comme pour le syndrome de Sturge Weber Krabbe par exemple.

III. Evolution

Comme dit précédemment, il est prévu de réaliser l'analyse de la ségrégation familiale pour les cas résolus ou partiellement résolus de notre cohorte. Il convient aussi de réaliser un nouveau séquençage génétique pour les trois patients pour lesquels l'analyse avait échoué, à partir d'un nouveau prélèvement sanguin plus frais pour permettre une extraction d'ADN de meilleure qualité.

En complément des nouvelles inclusions qui seront comptabilisées jusqu'en avril 2021 dans le cadre du protocole, il est prévu de séquencer l'ensemble des patients inclus à ce jour pour lesquels nous n'avons pas réceptionné les échantillons sanguins.

Pour les patients non prélevés, sous réserve d'un consentement à la recherche biomédicale, il est prévu qu'un entretien spécifique pour information et prélèvement soit réalisé sur place, suivi d'un rapatriement rapide des échantillons pour analyse.

Pour tous ces patients, dans le cadre du PHRC-N, il conviendra de garder la même attitude méthodologique, avec le même panel.

Au décours, une nouvelle analyse de la corrélation génotype-phénotype sera réalisée et permettra de valider les premiers résultats intermédiaires recueillis pour les 66 patients comptabilisés à ce jour.

Par la suite, les résultats génétiques seront transmis au médecin investigateur.

Pour les patients lillois, nous réaliserons des consultations dédiées pour la délivrance des informations génétiques, y compris pour les patients non élucidés.

A l'avenir et en dehors du protocole, nous espérons que le séquençage haut-débit pourra être proposé à Lille pour un diagnostic génétique de routine chez les patients atteints de glaucome congénital en France.

Le panel de 150 gènes pourra être adapté secondairement en fonction des résultats finaux pour les patients inclus dans le protocole.

D'après les premiers résultats génétiques de notre cohorte, il est déjà possible d'envisager les adaptations à appliquer au panel d'essai.

Il consistera notamment à éliminer les « gènes *border-lines* » discutés précédemment. Les nouveaux gènes incriminés dans les deux panels parisiens des dysgénésies oculaires pourront être ajoutés au séquençage à Lille, si le support bibliographique va dans ce sens.

Pour les cas partiellement résolus ou non élucidés, le variant non détecté et responsable de la maladie est soit présent dans une région non couverte par notre méthode de séquençage, soit présent dans un gène non inclus dans notre panel de gènes candidats. Certains de ces gènes sont très probablement méconnus et non décrits à ce jour dans la littérature.

Le séquençage d'exome ou de génome serait une bonne stratégie en deuxième intention, puisqu'il couvre plus de régions sans se limiter à un panel restreint.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le glaucome congénital primitif est une pathologie rare mais grave, car potentiellement cécitante. Les causes génétiques de cette trabéculodysgénésie sont encore mal connues, malgré les données de la littérature de plus en plus nombreuses depuis l'avènement des méthodes de séquençage à haut-débit.

Au cours de l'année 2020, nous avons développé au CHU de Lille l'analyse moléculaire de 150 gènes candidats pour le génotypage des patients.

Les bibliothèques ont été préparées avec la technologie Haloplex de la société Agilent et le séquençage a été réalisé sur les séquenceurs MiSeq et NextSeq de la plateforme Illumina.

Les résultats de notre cohorte de 66 patients ont été satisfaisants et ont permis de retrouver une anomalie génétique chez près de 42 % des patients analysés.

D'autres analyses génétiques sont à venir pour un petit groupe restant de patients inclus dans le protocole.

En dehors du PHRC-N, nous espérons que le séquençage haut-débit pourra être proposé à l'avenir à Lille pour un diagnostic génétique de routine chez les patients atteints de glaucome congénital.

Le panel d'essai pourra être amélioré dans un deuxième temps en adaptant la liste des gènes à étudier.

Le séquençage génétique permettra pour ces enfants de mettre en place un suivi médical adapté au génotype.

Pour les familles, les consultations de conseil génétique permettront d'évaluer le risque de récurrence pour les enfants à venir.

BIBLIOGRAPHIE

1. Guidelines. Disponible sur: <https://www.eugs.org/eng/guidelines.asp>
2. Hoskins HD, Shaffer RN, Hetherington J. Anatomical Classification of the Developmental Glaucomas. *Arch Ophthalmol*. 1 sept 1984;102(9):1331-6.
3. Detry-Morel M. [Congenital glaucoma]. *Bull Soc Belge Ophtalmol*. 2001;(281):49-58.
4. Papadopoulos M, Cable N, Rahi J, Khaw PT. The British Infantile and Childhood Glaucoma (BIG) Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1 sept 2007;48(9):4100-6.
5. Lewis CJ, Hedberg-Buenz A, DeLuca AP, Stone EM, Alward WLM, Fingert JH. Primary congenital and developmental glaucomas. *Hum Mol Genet*. 1 août 2017;26(R1):R28-36.
6. Aziz A, Fakhoury O, Matonti F, Pieri E, Denis D. [Epidemiology and clinical characteristics of primary congenital glaucoma]. *J Fr Ophtalmol*. déc 2015;38(10):960-6.
7. Badawi AH, Al-Muhaylib AA, Al Owaifeer AM, Al-Essa RS, Al-Shahwan SA. Primary congenital glaucoma: An updated review. *Saudi J Ophthalmol*. 2019;33(4):382-8.
8. Genčíkova A, Genčík A. Congenital Glaucoma in Gypsies from Slovakia. *Hum Hered*. 1982;32(4):270-3.
9. Demenais F, Bonaïti C, Briard ML, Feingold J, Frézal J. Congenital glaucoma: genetic models. *Hum Genet*. 15 févr 1979;46(3):305-17.
10. Demenais F. Further analysis of familial transmission of congenital glaucoma. *Am J Hum Genet*. nov 1983;35(6):1156-60.
11. Medina-Trillo C, Aroca-Aguilar J-D, Méndez-Hernández C-D, Morales L, García-Antón M, García-Feijoo J, et al. Rare FOXC1 variants in congenital glaucoma: identification of translation regulatory sequences. *Eur J Hum Genet*. mai 2016;24(5):672-80.
12. Medina-Trillo C, Aroca-Aguilar J-D, Ferre-Fernández J-J, Alexandre-Moreno S, Morales L, Méndez-Hernández C-D, et al. Role of FOXC2 and PITX2 rare variants associated with mild functional alterations as modifier factors in congenital glaucoma. *PLoS ONE* [Internet]. 18 janv 2019 [cité 18 août 2020];14(1). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6338360/>
13. Abu-Amero KK, Edward DP. Primary Congenital Glaucoma. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Stephens K, et al., éditeurs. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cité 17 août 2020]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1135/>
14. Plasilova M, Stoilov I, Sarfarazi M, Kadasi L, Ferakova E, Ferak V. Identification of a single ancestral CYP1B1 mutation in Slovak Gypsies (Roms) affected with primary congenital glaucoma. *J Med Genet*. avr 1999;36(4):290-4.

15. Bejjani BA, Stockton DW, Lewis RA, Tomey KF, Dueker DK, Jabak M, et al. Multiple CYP1B1 mutations and incomplete penetrance in an inbred population segregating primary congenital glaucoma suggest frequent de novo events and a dominant modifier locus. *Hum Mol Genet.* 12 févr 2000;9(3):367-74.
16. Della Paolera M, de Vasconcellos JPC, Umbelino CC, Kasahara N, Rocha MN, Richeti F, et al. CYP1B1 gene analysis in primary congenital glaucoma Brazilian patients: novel mutations and association with poor prognosis. *J Glaucoma.* mars 2010;19(3):176-82.
17. Chen X, Chen Y, Wang L, Jiang D, Wang W, Xia M, et al. CYP1B1 genotype influences the phenotype in primary congenital glaucoma and surgical treatment. *Br J Ophthalmol.* févr 2014;98(2):246-51.
18. Alzuhairy S, Abu-Amero KK, Al-Shahwan S, Edward DP. A Novel CYP1B1 Mutation with Congenital Glaucoma and Total Aniridia. *Ophthalmic Genet.* 2 janv 2015;36(1):89-91.
19. Chavarria-Soley G, Michels-Rautenstrauss K, Caliebe A, Kautza M, Mardin C, Rautenstrauss B. Novel CYP1B1 and known PAX6 mutations in anterior segment dysgenesis (ASD). *J Glaucoma.* déc 2006;15(6):499-504.
20. Vincent A, Billingsley G, Priston M, Glaser T, Oliver E, Walter M, et al. Further support of the role of CYP1B1 in patients with Peters anomaly. *Mol Vis.* 16 mai 2006;12:506-10.
21. Acharya M, Mookherjee S, Bhattacharjee A, Bandyopadhyay AK, Daulat Thakur SK, Bhaduri G, et al. Primary role of CYP1B1 in Indian juvenile-onset POAG patients. *Mol Vis.* 20 avr 2006;12:399-404.
22. Millá E, Mañé B, Duch S, Hernan I, Borràs E, Planas E, et al. Survey of familial glaucoma shows a high incidence of cytochrome P450, family 1, subfamily B, polypeptide 1 (CYP1B1) mutations in non-consanguineous congenital forms in a Spanish population. *Mol Vis.* 4 août 2013;19:1707-22.
23. Tanwar M, Sihota R, Dada T, Gupta V, Das T, Yadav U, et al. Sturge-Weber Syndrome With Congenital Glaucoma and Cytochrome P450 (CYP1B1) Gene Mutations. *J Glaucoma.* août 2010;19(6):398-404.
24. Pasutto F, Chavarria-Soley G, Mardin CY, Michels-Rautenstrauss K, Ingelman-Sundberg M, Fernández-Martínez L, et al. Heterozygous Loss-of-Function Variants in CYP1B1 Predispose to Primary Open-Angle Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1 janv 2010;51(1):249-54.
25. Vincent AL, Billingsley G, Buys Y, Levin AV, Priston M, Trope G, et al. Digenic inheritance of early-onset glaucoma: CYP1B1, a potential modifier gene. *Am J Hum Genet.* févr 2002;70(2):448-60.
26. Ali M, McKibbin M, Booth A, Parry DA, Jain P, Riazuddin SA, et al. Null mutations in LTBP2 cause primary congenital glaucoma. *Am J Hum Genet.* mai 2009;84(5):664-71.
27. Azmanov DN, Dimitrova S, Florez L, Cherninkova S, Draganov D, Morar B, et al. LTBP2 and CYP1B1 mutations and associated ocular phenotypes in the Roma/Gypsy founder population. *Eur J Hum Genet.* mars 2011;19(3):326-33.

28. Désir J, Sznajder Y, Depasse F, Roulez F, Schrooyen M, Meire F, et al. LTBP2 null mutations in an autosomal recessive ocular syndrome with megalocornea, spherophakia, and secondary glaucoma. *Eur J Hum Genet EJHG*. juill 2010;18(7):761-7.
29. Jelodari-Mamaghani S, Haji-Seyed-Javadi R, Suri F, Nilforushan N, Yazdani S, Kamyab K, et al. Contribution of the latent transforming growth factor-beta binding protein 2 gene to etiology of primary open angle glaucoma and pseudoexfoliation syndrome. *Mol Vis*. 7 févr 2013;19:333-47.
30. Safari I, Akbarian S, Yazdani S, Elahi E. A Possible Role for LTBP2 in the Etiology of Primary Angle Closure Glaucoma. *J Ophthalmic Vis Res*. 2015;10(2):123-9.
31. Haji-Seyed-Javadi R, Jelodari-Mamaghani S, Paylakhi SH, Yazdani S, Nilforushan N, Fan J-B, et al. LTBP2 mutations cause Weill-Marchesani and Weill-Marchesani-like syndrome and affect disruptions in the extracellular matrix. *Hum Mutat*. août 2012;33(8):1182-7.
32. Thomson BR, Souma T, Tompson SW, Onay T, Kizhatil K, Siggs OM, et al. Angiopoietin-1 is required for Schlemm's canal development in mice and humans. *J Clin Invest*. 01 2017;127(12):4421-36.
33. Souma T, Tompson SW, Thomson BR, Siggs OM, Kizhatil K, Yamaguchi S, et al. Angiopoietin receptor TEK mutations underlie primary congenital glaucoma with variable expressivity. *J Clin Invest*. 01 2016;126(7):2575-87.
34. Miesfeld JB, Brown NL. Chapter Ten - Eye organogenesis: A hierarchical view of ocular development. In: Wellik DM, éditeur. *Current Topics in Developmental Biology* [Internet]. Academic Press; 2019 [cité 15 août 2020]. p. 351-93. (Organ Development; vol. 132). Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007021531830108X>
35. Denis D. *Ophthalmologie pédiatrique*. 2017.
36. Quoc EB, Costantini E. Glaucomes congénitaux. *Wwwem-Premiumcomdatatraitessop21-54238* [Internet]. 10 déc 2010 [cité 12 août 2020]; Disponible sur: <https://www-em-premium-com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/article/275826/resultatrecherche/1>
37. Van Buskirk EM. Clinical Implications of, indocorneal Angle Development. *Ophthalmology*. avr 1981;88(4):361-7.
38. Johnston MC, Noden DM, Hazelton RD, Coulombre JL, Coulombre AJ. Origins of avian ocular and periocular tissues. *Exp Eye Res*. 1 juill 1979;29(1):27-43.
39. Choudhary D, Jansson I, Schenkman JB. CYP1B1, a developmental gene with a potential role in glaucoma therapy. *Xenobiotica*. 1 août 2009;39(8):606-15.
40. Inoue T, Ohbayashi T, Fujikawa Y, Yoshida H, Akama TO, Noda K, et al. Latent TGF- β binding protein-2 is essential for the development of ciliary zonule microfibrils. *Hum Mol Genet*. 1 nov 2014;23(21):5672-82.
41. Ling C, Zhang D, Zhang J, Sun H, Du Q, Li X. Updates on the molecular genetics of primary congenital glaucoma (Review). *Exp Ther Med*. août 2020;20(2):968-77.

42. Kizhatil K, Ryan M, Marchant JK, Henrich S, John SWM. Schlemm's Canal Is a Unique Vessel with a Combination of Blood Vascular and Lymphatic Phenotypes that Forms by a Novel Developmental Process. *PLoS Biol* [Internet]. 22 juill 2014 [cité 28 janv 2019];12(7). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4106723/>
43. Barkan O. GONIOTOMY FOR CONGENITAL GLAUCOMA: Urgent Need for Early Diagnosis and Operation. *J Am Med Assoc*. 22 févr 1947;133(8):526-33.
44. Quoc EB, Costantini E. Glaucomes congénitaux. *Wwwem-Premiumcomdatatraitesop21-54238* [Internet]. 10 déc 2010 [cité 6 sept 2020]; Disponible sur: <https://www-em-premium-com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/article/275826/resultatrecherche/1>
45. Tawara A, Inomata H. Developmental Immaturity of the Trabecular Meshwork in Congenital Glaucoma. *Am J Ophthalmol*. oct 1981;92(4):508-25.
46. Quoc EB, Marciano E. Glaucomes congénitaux. *Wwwem-Premiumcomdatatraitesop21-77773* [Internet]. 22 janv 2019 [cité 15 août 2020]; Disponible sur: <https://www-em-premium-com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/article/1270127>
47. Sauer A, Abry F, Blavin J, Saleh M, Gaucher D, Meyer N, et al. Mesure de la pression intraoculaire et de l'épaisseur cornéenne centrale d'enfants de zéro à dix ans sous anesthésie générale. *J Fr Ophtalmol*. 1 avr 2011;34(4):238-42.
48. Mikhail M, Sabri K, Levin AV. Effect of anesthesia on intraocular pressure measurement in children. *Surv Ophthalmol*. 1 sept 2017;62(5):648-58.
49. Kanski JJ, Bowling B. *Clinical Ophthalmology: A Systematic Approach*. Elsevier Health Sciences; 2011. 921 p.
50. Chang I, Caprioli J, Ou Y. Surgical Management of Pediatric Glaucoma. *Glaucoma Surg*. 2017;59:165-78.
51. Girkin CA, Marchase N, Cogen MS. Circumferential Trabeculotomy With an Illuminated Microcatheter in Congenital Glaucomas. *J Glaucoma*. mars 2012;21(3):160–163.
52. Tamcelik N, Özkiris A. Long-term results of viscotrabeculotomy in congenital glaucoma: comparison to classical trabeculotomy. *Br J Ophthalmol*. 1 janv 2008;92(1):36-9.
53. Lüke C, Dietlein TS, Jacobi PC, Konen W, Krieglstein GK. Risk profile of deep sclerectomy for treatment of refractory congenital glaucomas. *Ophthalmology*. 1 juin 2002;109(6):1066-71.
54. Fili S, Wölfelschneider P, Kohlhaas M. The STARflo glaucoma implant: preliminary 12 months results. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1 avr 2018;256(4):773-81.
55. Chrystal PW, Walter MA. Aniridia and Axenfeld-Rieger Syndrome: Clinical presentations, molecular genetics and current/emerging therapies. *Exp Eye Res*. 1 déc 2019;189:107815.
56. Kokotas H, Petersen MB. Clinical and molecular aspects of aniridia. *Clin Genet*. 2010;77(5):409-20.

57. Gerber S, Alzayady KJ, Burglen L, Brémond-Gignac D, Marchesin V, Roche O, et al. Recessive and Dominant De Novo ITPR1 Mutations Cause Gillespie Syndrome. *Am J Hum Genet.* 5 mai 2016;98(5):971-80.
58. Lee H, Khan R, O'Keefe M. Aniridia: current pathology and management. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 2008;86(7):708-15.
59. Tümer Z, Bach-Holm D. Axenfeld–Rieger syndrome and spectrum of PITX2 and FOXC1 mutations. *Eur J Hum Genet.* déc 2009;17(12):1527-39.
60. Bakrania P, Efthymiou M, Klein JC, Salt A, Bunyan DJ, Wyatt A, et al. Mutations in BMP4 Cause Eye, Brain, and Digit Developmental Anomalies: Overlap between the BMP4 and Hedgehog Signaling Pathways. *Am J Hum Genet.* 8 févr 2008;82(2):304-19.
61. Ali M, Buentello-Volante B, McKibbin M, Rocha-Medina JA, Fernandez-Fuentes N, Koga-Nakamura W, et al. Homozygous FOXE3 mutations cause non-syndromic, bilateral, total sclerocornea, aphakia, microphthalmia and optic disc coloboma. *Mol Vis.* 23 juin 2010;16:1162-8.
62. Ma AS, Grigg JR, Prokudin I, Flaherty M, Bennetts B, Jamieson RV. New mutations in GJA8 expand the phenotype to include total sclerocornea. *Clin Genet.* 2018;93(1):155-9.
63. Choi A, Lao R, Ling-Fung Tang P, Wan E, Mayer W, Bardakjian T, et al. Novel mutations in PXDN cause microphthalmia and anterior segment dysgenesis. *Eur J Hum Genet.* mars 2015;23(3):337-41.
64. Voronina VA, Kozhemyakina EA, O'Kernick CM, Kahn ND, Wenger SL, Linberg JV, et al. Mutations in the human RAX homeobox gene in a patient with anophthalmia and sclerocornea. *Hum Mol Genet.* 1 févr 2004;13(3):315-22.
65. Happle R, Daniëls O, Koopman RJ. MIDAS syndrome (microphthalmia, dermal aplasia, and sclerocornea): an X-linked phenotype distinct from Goltz syndrome. *Am J Med Genet.* 1 oct 1993;47(5):710-3.
66. Slavotinek AM. Eye Development Genes and Known Syndromes. *Mol Genet Metab.* déc 2011;104(4):448-56.
67. Binenbaum G, McDonald-McGinn DM, Zackai EH, Walker BM, Coleman K, Mach AM, et al. Sclerocornea Associated With the Chromosome 22q11.2 Deletion Syndrome. *Am J Med Genet A.* 1 avr 2008;146(7):904-9.
68. Weh E, Reis LM, Happ HC, Levin AV, Wheeler PG, David KL, et al. Whole exome sequence analysis of Peters anomaly. *Hum Genet.* déc 2014;133(12):1497-511.
69. Lesnik Oberstein SAJ, Kriek M, White SJ, Kalf ME, Szuhai K, den Dunnen JT, et al. Peters Plus Syndrome Is Caused by Mutations in B3GALTL, a Putative Glycosyltransferase. *Am J Hum Genet.* sept 2006;79(3):562-6.
70. Dufier J-L. *Oeil et génétique.* Issy-les-Moulineaux: Masson; 2005.

71. Transmission.pdf [Internet]. [cité 16 août 2020]. Disponible sur: <https://www.orpha.net/orphaschool/formations/transmission/ExternData/InfoTransmission-Dreamweaver/Transmission.pdf>
72. Transmission.pdf [Internet]. [cité 20 août 2020]. Disponible sur: <https://www.orpha.net/orphaschool/formations/transmission/ExternData/InfoTransmission-Dreamweaver/Transmission.pdf>
73. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. déc 1977;74(12):5463-7.
74. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. 1986. *Biotechnol Read Mass*. 1992;24:17-27.
75. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 15 févr 2001;409(6822):860-921.
76. Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing. *Nat Biotechnol*. oct 2008;26(10):1135-45.
77. Orphanet: Diagnóstico del glaucoma hereditario panel [Internet]. [cité 18 août 2020]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/ClinicalLabs_Search.php?lng=FR&data_id=137513&search=ClinicalLabs_Search_Simple&data_type=Test&title=Diagn%F3stico%20del%20glaucoma%20hereditario%20panel&MISSING%20CONTENT=Diagn-stico-del-glaucoma-hereditario--panel-
78. Vincent A, McAlister C, VandenHoven C, Héon E. BEST1-related autosomal dominant vitreoretinopathopathy: a degenerative disease with a range of developmental ocular anomalies. *Eye*. janv 2011;25(1):113-8.
79. Arruda WO, Comerlato EA, Scola RH, Silvado CE, Werneck LC. Hereditary motor and sensory neuropathy with congenital glaucoma. Report on a family. *Arq Neuropsiquiatr*. juin 1999;57(2A):190-4.
80. Kiwaki T, Umehara F, Takashima H, Nakagawa M, Kamimura K, Kashio N, et al. Hereditary motor and sensory neuropathy with myelin folding and juvenile onset glaucoma. *Neurology*. 8 août 2000;55(3):392-7.
81. Huang X, Xiao X, Jia X, Li S, Li M, Guo X, et al. Mutation analysis of the genes associated with anterior segment dysgenesis, microcornea and microphthalmia in 257 patients with glaucoma. *Int J Mol Med*. 1 oct 2015;36(4):1111-7.
82. Lee JH, Ki C-S, Kim H-J, Suh W, Lee S-T, Kim J-W, et al. Analysis of copy number variation using whole genome exon-focused array CGH in Korean patients with primary congenital glaucoma. *Mol Vis*. 2011;17:3583-90.

83. Ferre-Fernández J-J, Aroca-Aguilar J-D, Medina-Trillo C, Bonet-Fernández J-M, Méndez-Hernández C-D, Morales-Fernández L, et al. Whole-Exome Sequencing of Congenital Glaucoma Patients Reveals Hypermorphic Variants in *GPATCH3*, a New Gene Involved in Ocular and Craniofacial Development. *Sci Rep.* 11 avr 2017;7(1):46175.
84. Prokudin I, Simons C, Grigg JR, Storen R, Kumar V, Phua ZY, et al. Exome sequencing in developmental eye disease leads to identification of causal variants in *GJA8*, *CRYGC*, *PAX6* and *CYP11B1*. *Eur J Hum Genet.* juill 2014;22(7):907-15.
85. Hendee K, Wang LW, Reis LM, Rice GM, Apte SS, Semina EV. Identification and functional analysis of an *ADAMTSL1* variant associated with a complex phenotype including congenital glaucoma, craniofacial and other systemic features in a three generation human pedigree. *Hum Mutat.* nov 2017;38(11):1485-90.
86. Fuchshofer R, Yu AHL, Welge-Lüssen U, Tamm ER. Bone Morphogenetic Protein-7 Is an Antagonist of Transforming Growth Factor- β 2 in Human Trabecular Meshwork Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1 févr 2007;48(2):715-26.
87. Friedman JS, Walter MA. Glaucoma genetics, present and future. *Clin Genet.* 1999;55(2):71-9.
88. Berry FB, Skarie JM, Mirzayans F, Fortin Y, Hudson TJ, Raymond V, et al. *FOXC1* is required for cell viability and resistance to oxidative stress in the eye through the transcriptional regulation of *FOXO1A*. *Hum Mol Genet.* 15 févr 2008;17(4):490-505.
89. Fuchshofer R, Stephan DA, Russell P, Tamm ER. Gene expression profiling of TGF β 2- and/or BMP7-treated trabecular meshwork cells: Identification of *Smad7* as a critical inhibitor of TGF- β 2 signaling. *Exp Eye Res.* juin 2009;88(6):1020-32.
90. Nishiguchi S, Wood H, Kondoh H, Lovell-Badge R, Episkopou V. *Sox1* directly regulates the γ -crystallin genes and is essential for lens development in mice. *Genes Dev.* 15 mars 1998;12(6):776-81.
91. Libby RT, Smith RS, Savinova OV, Zabaleta A, Martin JE, Gonzalez FJ, et al. Modification of ocular defects in mouse developmental glaucoma models by tyrosinase. *Science.* 7 mars 2003;299(5612):1578-81.
92. Lebel M, Gauthier Y, Moreau A, Drouin J. *Pitx3* activates mouse tyrosine hydroxylase promoter via a high-affinity binding site. *J Neurochem.* avr 2001;77(2):558-67.
93. Kumar M, Tanwar M, Faiq MA, Pani J, Shamsi MB, Dada T, et al. Mitochondrial DNA nucleotide changes in primary congenital glaucoma patients. *Mol Vis.* 1 févr 2013;19:220-30.
94. Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Prog Retin Eye Res.* 1 janv 2004;23(1):53-89.
95. Tanwar M, Dada T, Sihota R, Dada R. Mitochondrial DNA analysis in primary congenital glaucoma. *Mol Vis.* 24 mars 2010;16:518-33.

96. G9900-90020_HaloPlexAutomation_Manual.pdf [Internet]. [cité 19 août 2020]. Disponible sur: https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/G9900-90020_HaloPlexAutomation_Manual.pdf
97. H3ABioNet_2014_NGS_4_Illumina.pdf [Internet]. [cité 20 août 2020]. Disponible sur: http://cubre.covenantuniversity.edu.ng/wp-content/uploads/2014/07/H3ABioNet_2014_NGS_4_Illumina.pdf
98. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet.* juin 2016;17(6):333-51.
99. Lacoste C, Fabre A, Pécheux C, Lévy N, Krahn M, Malzac P, et al. Le séquençage d'ADN à haut débit en pratique clinique. *Arch Pédiatrie.* 1 avr 2017;24(4):373-83.
100. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* mai 2015;17(5):405-24.
101. Robbin DS. Seckel's syndrome with pseudopolycoria. *Ophthalmic Paediatr Genet.* déc 1985;6(3):135-9.
102. Reddy S, Starr C. Seckel syndrome and spontaneously dislocated lenses. *J Cataract Refract Surg.* mai 2007;33(5):910-2.
103. Fiumara A, Barone R, Arena A, Filocamo M, Lissens W, Pavone L, et al. Krabbe leukodystrophy in a selected population with high rate of late onset forms: longer survival linked to c.121G>A (p.Gly41Ser) mutation. *Clin Genet.* 2011;80(5):452-8.
104. Johnson JP, Poskanzer LS, Sherman S. Three-generation family with resemblance to Townes-Brocks syndrome and Goldenhar/oculoauriculovertebral spectrum. *Am J Med Genet.* 1996;61(2):134-9.
105. Botzenhart EM, Green A, Ilyina H, König R, Lowry RB, Lo IFM, et al. SALL1 mutation analysis in Townes-Brocks syndrome: twelve novel mutations and expansion of the phenotype. *Hum Mutat.* 2005;26(3):282-282.
106. Azuma N, Yamaguchi Y, Handa H, Hayakawa M, Kanai A, Yamada M. Missense mutation in the alternative splice region of the PAX6 gene in eye anomalies. *Am J Hum Genet.* sept 1999;65(3):656-63.
107. Azuma N, Hirakiyama A, Inoue T, Asaka A, Yamada M. Mutations of a human homologue of the Drosophila eyes absent gene (EYA1) detected in patients with congenital cataracts and ocular anterior segment anomalies. *Hum Mol Genet.* 12 févr 2000;9(3):363-6.
108. Firasat S, Riazuddin SA, Khan SN, Riazuddin S. Novel CYP1B1 mutations in consanguineous Pakistani families with primary congenital glaucoma. *Mol Vis.* 2008;14:2002-9.

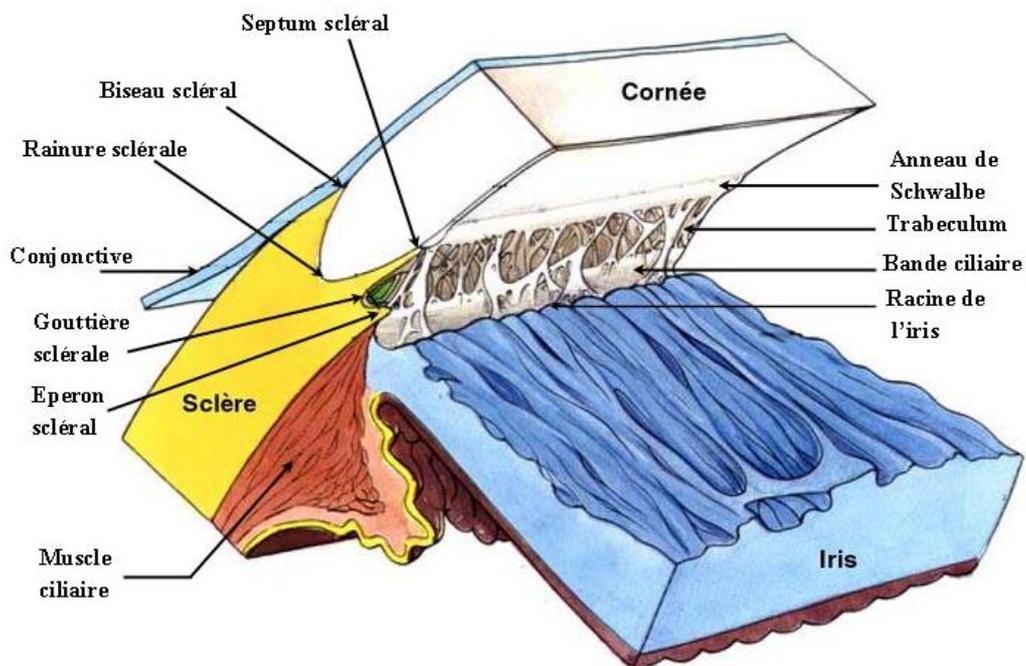
109. Sheikh SA, Waryah AM, Narsani AK, Shaikh H, Gilal IA, Shah K, et al. Mutational spectrum of the CYP1B1 gene in Pakistani patients with primary congenital glaucoma: Novel variants and genotype-phenotype correlations. *Mol Vis.* 7 juill 2014;20:991-1001.
110. Afzal R, Firasat S, Kaul H, Ahmed B, Siddiqui SN, Zafar SN, et al. Mutational analysis of the CYP1B1 gene in Pakistani primary congenital glaucoma patients: Identification of four known and a novel causative variant at the 3' splice acceptor site of intron 2. *Congenit Anom.* sept 2019;59(5):152-61.
111. Micheal S, Ayub H, Zafar SN, Bakker B, Ali M, Akhtar F, et al. Identification of novel CYP1B1 gene mutations in patients with primary congenital and primary open-angle glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2015;43(1):31-9.
112. Colomb E, Kaplan J, Garchon H-J. Novel cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) mutations in patients with primary congenital glaucoma in France. *Hum Mutat.* 2003;22(6):496-496.
113. Wang L, He F, Bu J, Liu X, Du W, Dong J, et al. ABCB6 Mutations Cause Ocular Coloboma. *Am J Hum Genet.* 13 janv 2012;90(1):40-8.
114. Cui Y-X, Xia X-Y, Zhou Y, Gao L, Shang X-J, Ni T, et al. Novel Mutations of ABCB6 Associated with Autosomal Dominant Dyschromatosis Universalis Hereditaria. *PLOS ONE.* 5 nov 2013;8(11):e79808.
115. Sharifi Y, Tjon-Fo-Sang MJ, Cruysberg JRM, Maat-Kievit AJ. Ectopia lentis et pupillae in four generations caused by novel mutations in the ADAMTSL4 gene. *Br J Ophthalmol.* 1 mai 2013;97(5):583-7.
116. Ahram D, Sato TS, Kohilan A, Tayeh M, Chen S, Leal S, et al. A Homozygous Mutation in ADAMTSL4 Causes Autosomal-Recessive Isolated Ectopia Lentis. *Am J Hum Genet.* 13 févr 2009;84(2):274-8.
117. Collin GB, Hubmacher D, Charette JR, Hicks WL, Stone L, Yu M, et al. Disruption of murine Adamtsl4 results in zonular fiber detachment from the lens and in retinal pigment epithelium dedifferentiation. *Hum Mol Genet.* 15 déc 2015;24(24):6958-74.
118. Pasutto F, Keller KE, Weisschuh N, Sticht H, Samples JR, Yang Y-F, et al. Variants in ASB10 are associated with open-angle glaucoma. *Hum Mol Genet.* 15 mars 2012;21(6):1336-49.
119. Micheal S, Ayub H, Islam F, Siddiqui SN, Khan WA, Akhtar F, et al. Variants in the ASB10 Gene Are Associated with Primary Open Angle Glaucoma. *PLoS ONE [Internet].* 29 déc 2015 [cité 7 sept 2020];10(12). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4695091/>
120. Suri F, Yazdani S, Chapi M, Safari I, Rasooli P, Daftarian N, et al. COL18A1 is a candidate eye iridocorneal angle-closure gene in humans. *Hum Mol Genet.* 1 nov 2018;27(21):3772-86.
121. Wiggs JL, Howell GR, Linkroum K, Abdrabou W, Hodges E, Braine CE, et al. Variations in COL15A1 and COL18A1 influence age of onset of primary open angle glaucoma. *Clin Genet.* août 2013;84(2):167-74.

122. Ayala-Lugo RM, Pawar H, Reed DM, Lichter PR, Moroi SE, Page M, et al. Variation in optineurin (OPTN) allele frequencies between and within populations. *Mol Vis.* 2 févr 2007;13:151-63.
123. Aung T, Rezaie T, Okada K, Viswanathan AC, Child AH, Brice G, et al. Clinical Features and Course of Patients with Glaucoma with the E50K Mutation in the Optineurin Gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1 août 2005;46(8):2816-22.
124. Bennett TM, Mackay DS, Siegfried CJ, Shiels A. Mutation of the Melastatin-Related Cation Channel, TRPM3, Underlies Inherited Cataract and Glaucoma. *PLoS ONE* [Internet]. 4 août 2014 [cité 14 sept 2020];9(8). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4121231/>
125. Kuniba H, Yoshiura K, Kondoh T, Ohashi H, Kurosawa K, Tonoki H, et al. Molecular karyotyping in 17 patients and mutation screening in 41 patients with Kabuki syndrome. *J Hum Genet.* mai 2009;54(5):304-9.
126. Kluijt I, van Dorp DB, Kwee ML, Toutain A, Keppler-Noreuil K, Warburg M, et al. Kabuki syndrome – Report of six cases and review of the literature with emphasis on ocular features. *Ophthalmic Genet.* 8 juill 2009;21(1):51-61.
127. Shaham O, Gueta K, Mor E, Oren-Giladi P, Grinberg D, Xie Q, et al. Pax6 regulates gene expression in the vertebrate lens through miR-204. *PLoS Genet.* 2013;9(3):e1003357.
128. Monemi S, Spaeth G, DaSilva A, Popinchalk S, Ilitchev E, Liebmann J, et al. Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1. *Hum Mol Genet.* 15 mars 2005;14(6):725-33.
129. Hadrami M, Bonnet C, Zeitz C, Vetten F, Biya M, Hamed CT, et al. Mutation profile of glaucoma candidate genes in Mauritanian families with primary congenital glaucoma. *Mol Vis.* 13 juill 2019;25:373-81.
130. Hauser MA, Allingham RR, Linkroum K, Wang J, LaRocque-Abramson K, Figueiredo D, et al. Distribution of WDR36 DNA Sequence Variants in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1 juin 2006;47(6):2542-6.
131. Webb TR, Matarin M, Gardner JC, Kelberman D, Hassan H, Ang W, et al. X-Linked Megalocornea Caused by Mutations in *CHRD1* Identifies an Essential Role for Ventroptin in Anterior Segment Development. *Am J Hum Genet.* 10 févr 2012;90(2):247-59.
132. Skuta GL, Sugar J, Ericson ES. Corneal Endothelial Cell Measurements in Megalocornea. *Arch Ophthalmol.* 1 janv 1983;101(1):51-3.
133. Riazuddin SA, Zaghoul NA, Al-Saif A, Davey L, Diplas BH, Meadows DN, et al. Missense Mutations in *TCF8* Cause Late-Onset Fuchs Corneal Dystrophy and Interact with *FCD4* on Chromosome 9p. *Am J Hum Genet.* 8 janv 2010;86(1):45-53.
134. Liskova P, Tuft SJ, Gwilliam R, Ebenezer ND, Jirsova K, Prescott Q, et al. Novel Mutations in the *ZEB1* Gene Identified in Czech and British Patients With Posterior Polymorphous Corneal Dystrophy. *Hum Mutat.* juin 2007;28(6):638.

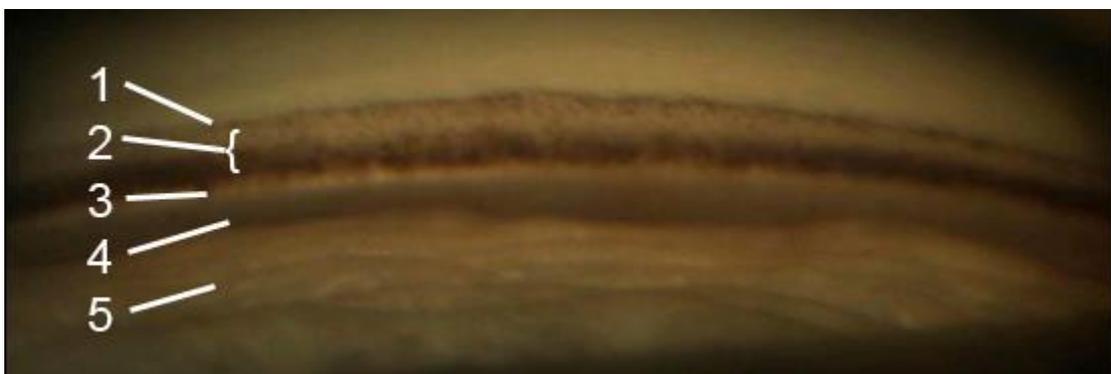
135. Evans CJ, Liskova P, Dudakova L, Hrabcikova P, Horinek A, Jirsova K, et al. Identification of six novel mutations in ZEB1 and description of the associated phenotypes in patients with posterior polymorphous corneal dystrophy 3. *Ann Hum Genet.* janv 2015;79(1):1-9.
136. Cheong S-S, Hentschel L, Davidson AE, Gerrelli D, Davie R, Rizzo R, et al. Mutations in CPAMD8 Cause a Unique Form of Autosomal-Recessive Anterior Segment Dysgenesis. *Am J Hum Genet.* 1 déc 2016;99(6):1338-52.
137. Crawford SE, Qi C, Misra P, Stellmach V, Rao MS, Engel JD, et al. Defects of the heart, eye, and megakaryocytes in peroxisome proliferator activator receptor-binding protein (PBP) null embryos implicate GATA family of transcription factors. *J Biol Chem.* 1 févr 2002;277(5):3585-92.
138. Sathiyathan P, Tay CY, Stanton LW. Transcriptome analysis for the identification of cellular markers related to trabecular meshwork differentiation. *BMC Genomics* [Internet]. 17 mai 2017 [cité 13 janv 2019];18. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5436446/>
139. Reis LM, Tyler RC, Weh E, Hendee KE, Schilter KF, Phillips JA, et al. Whole exome sequencing identifies multiple diagnoses in congenital glaucoma with systemic anomalies. *Clin Genet.* 2016;90(4):378-82.
140. Shirley MD, Tang H, Gallione CJ, Baugher JD, Frelin LP, Cohen B, et al. Sturge–Weber Syndrome and Port-Wine Stains Caused by Somatic Mutation in GNAQ. *N Engl J Med.* 23 mai 2013;368(21):1971-9.
141. Anatomie de l'angle iridocornéen [Internet]. [cité 6 sept 2020]. Disponible sur: <http://perso.menara.ma/~lezmou/Anatomie/AIC.htm>
142. Snoop. Gonioskopie des Kammerwinkels. Labeled structures: 1. Schwalbe's line, 2. Trabecular meshwork (TM), 3. Scleral spur, 4. Ciliary body, 5. Iris [Internet]. 2010 [cité 6 sept 2020]. Disponible sur: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Kammerwinkel.jpg>
143. Rapport SFO 2014 - Glaucome primitif à angle ouvert [Internet]. [cité 6 sept 2020]. Disponible sur: https://www.em-consulte.com/em/SFO/2014/html/file_100018.html

ANNEXES

Annexe 1 : Schéma de l'angle irido cornéen (141)

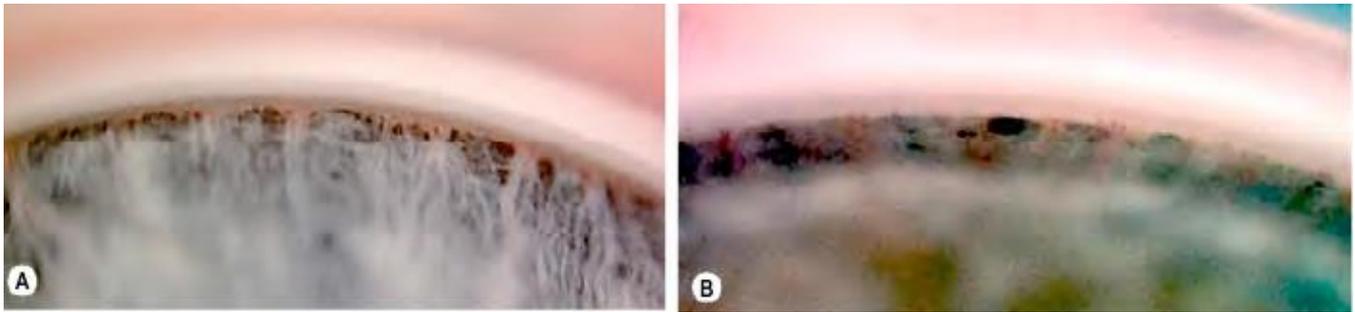


Annexe 2 : Visualisation de l'AIC en gonioscopie, chez un adulte sain (142)



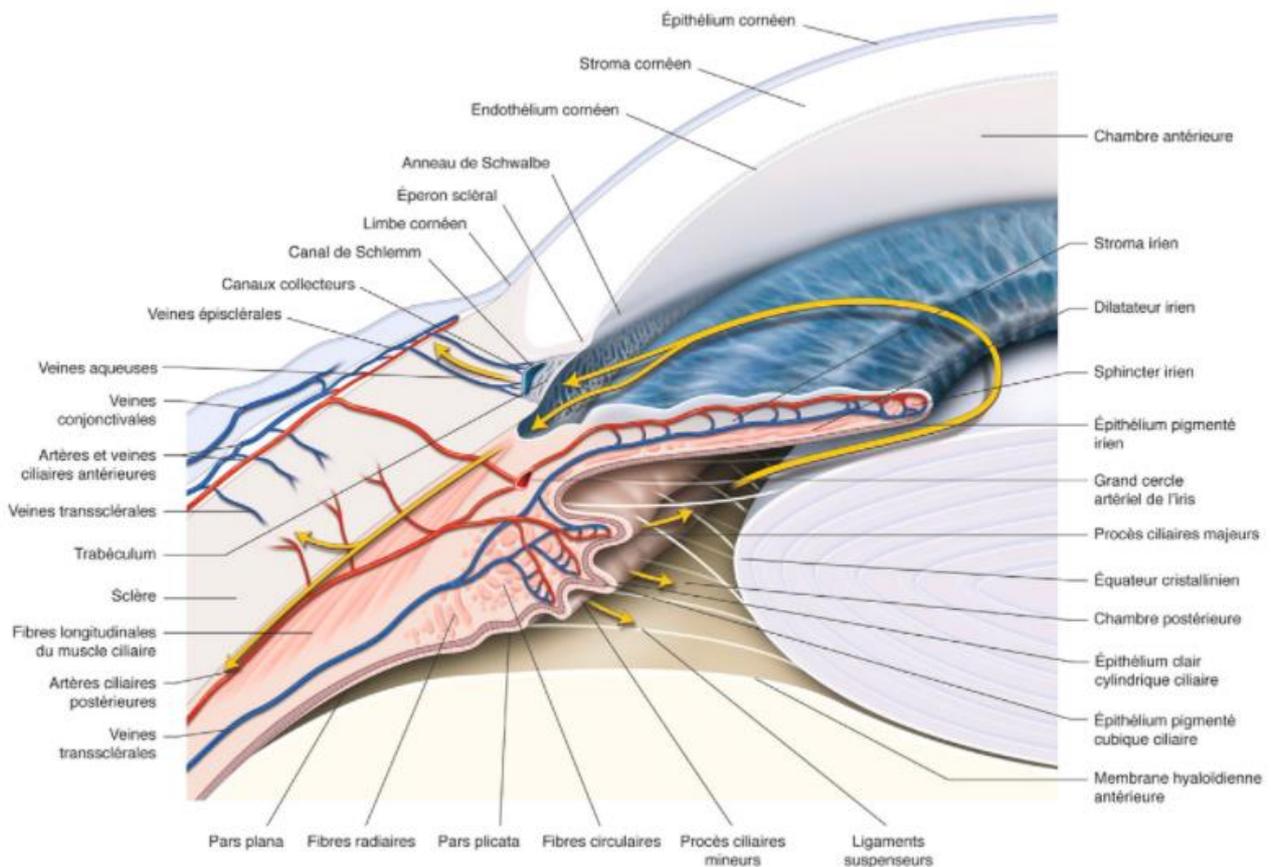
1. Ligne de Schwalbe ;
2. Trabéculum non pigmenté en avant et trabéculum pigmenté en arrière ;
3. Eperon scléral ;
4. Bande ciliaire ;
5. Iris

Annexe 3 : AIC chez le nouveau-né sain (A) et glaucomateux (B) (49)



A) = Angle irido cornéen normal chez un nourrisson. Racine de l'iris et bande ciliaire bien visibles, trabéculum et éperon scléral différenciés mais encore difficilement discernables. B) = Angle très immature, iris hypoplasique par endroit. Bande ciliaire non visible (49).

Annexe 4 : Représentation schématique du flux d'humeur aqueuse dans le segment antérieur de l'œil (143)



L'humeur aqueuse est sécrétée dans la chambre postérieure, par le muscle ciliaire. Elle passe par la pupille vers la chambre antérieure, puis quitte l'œil par les voies trabéculaire ou uvéosclérale (supra choroidienne) avant de rejoindre la circulation veineuse générale.

Annexe 5: Cahier d'observation

INITIALES PATIENT : [][] N° CENTRE : [][] N° DE PATIENT [][][]

INITIALES PATIENT : [][] N° CENTRE : [][] N° DE PATIENT [][][]

VERIFICATION DES CRITERES INCLUSION / NON INCLUSION

Critères inclusion :

Garçon ou fille âgés de moins de 4 ans (l'âge gestationnel des nouveau-nés doit être au moins de 36 semaines) oui non

L'hypothèse d'un glaucome congénital conduit à la réalisation d'un examen ophtalmologique sous anesthésie générale. oui non

Obtention d'un formulaire de consentement éclairé, daté, et signé des parents / du représentant légal documentant qu'il(s) a / ont été informé(s) de tous les aspects de l'étude. oui non

être ayant droit d'assuré social. oui non

Critères de non inclusion :

Patient ayant déjà bénéficié d'une intervention pour prise en charge d'un glaucome congénital. oui non



Attention si un patient ne remplit pas les critères d'inclusion, il ne pourra pas être inclus dans l'étude.

DONNEES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES

Date de naissance (jj/mm/aa) :

[][] / [][] / [][]

Sexe :

Masculin

Féminin

INITIALES PATIENT : | | - | |

N° CENTRE : | | |

N° DE PATIENT | | | |

INITIALES PATIENT : | | - | |

N° CENTRE : | | |

N° DE PATIENT | | | |

CIRCONSTANCES DE DÉCOUVERTE

Date de découverte des premiers signes (jj/mm/aa) :

| | / | | / | |

Premier(s) signe(s) de découverte :

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Œdème de cornée | <input type="checkbox"/> Photophobie |
| <input type="checkbox"/> Larmoiement | <input type="checkbox"/> Frottement des yeux |
| <input type="checkbox"/> Buphtalmie | <input type="checkbox"/> Blépharospasme |
| <input type="checkbox"/> Nystagmus | <input type="checkbox"/> Strabisme |
| <input type="checkbox"/> Autre : | |

Personne ayant découvert ces premiers signes : (un seul choix)

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Famille | <input type="checkbox"/> Garderie/crèche |
| <input type="checkbox"/> Pédiatre | <input type="checkbox"/> Médecin traitant |
| <input type="checkbox"/> Ophtalmologiste | <input type="checkbox"/> Maternité |
| <input type="checkbox"/> Autre : | |

Médecin consulté en premier :

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Pédiatre | <input type="checkbox"/> Médecin généraliste |
| <input type="checkbox"/> Ophtalmologiste | <input type="checkbox"/> Autre : |

Prise en charge

INITIALES PATIENT : | | - | | N° CENTRE : | | | N° DE PATIENT | | | |

ETUDE GÉNÉTIQUE

Prélèvement pour DNAtèque :

Origine géographique des parents :

Parmi : Europe, Asie, Afrique du Nord, Afrique sub-saharienne, Amérique du Nord, Amérique du sud, Océanie.

Père : Mère :

Lien de consanguinité des parents

- 1^{er} degré (frère et sœur).
- 2^{ème} degré (cousin cousine germains).
- 3^{ème} degré (cousins et cousines issus de germain).
- Sup au 3^{ème} degré :
- Pas de lien connu.

Antécédents familiaux de glaucome congénital

- Oui
- Non

Gène responsable du glaucome congénital déjà identifié :

Chez le sujet : Non Oui Gène identifié :
 Chez un collatéral : Non Oui

Lien avec le sujet : a. Gène identifié :
 b. Gène identifié :
 c. Gène identifié :
 d. Gène identifié :
 e. Gène identifié :

INITIALES PATIENT : | | - | | N° CENTRE : | | | N° DE PATIENT | | | |

Arbre Généalogique

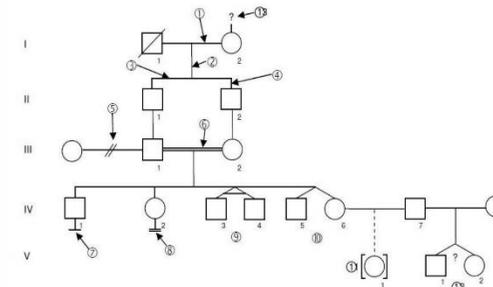
Préciser toutes pathologies génétiques et pour les patients atteints de glaucome congénital, le type de glaucome congénital et son caractère uni ou bilatéral.

- Recommandations**
1. Une légende doit indiquer la signification des "remplissages".
 2. Indiquer: - le nom, le prénom, la date de naissance des individus représentés (seule possibilité pour le laboratoire de relier une nouvelle famille à une famille déjà connue).
 - le nom de la personne ayant dressé l'arbre.
 - le nom de l'individu de la famille ayant donné les indications portées sur l'arbre.
 - la date à laquelle l'arbre a été dressé.
 3. Indiquer: - les résultats des investigations sous chaque individu

	Homme	Femme	Sexe inconnu	Commentaires
1. Individu	□	○	◇	Sexe selon le phénotype
2. Plusieurs individus, nombre connu	5	5	5	Les individus atteints ne sont pas inclus dans ce symbole
3. Plusieurs individus, nombre inconnu	n	n	n	
4. Individu décédé	◻	◉	◊	Indiquer l'âge au décès. Dans le cas d'enfant mort-né, indiquer l'âge gestationnel
5a. Individu atteint	■	●	◆	Pathologie unique. Si plusieurs pathologies dans la famille, utiliser un remplissage différent pour chaque
5b. Individu atteint	▨	◐	◑	Plusieurs pathologies par individu
6. Porteur obligatoire	◼	◉	◊	Femme conductrice pour maladie récessive liée à l'X. Parents d'un enfant atteint pour maladie AR.
7. Porteur asymptomatique	◻	◉	◊	Maladie AD : individu porteur de la mutation mais cliniquement asymptomatique à la date de l'examen
8. Grossesse en cours	◻	◉	◊	Indiquer l'âge gestationnel ou la date des dernières règles. Si atteint, indiquer par un remplissage ad hoc
9. Proband	◻	◉	◊	Premier individu de la famille ayant été diagnostiqué
10. Consultant	◻	◉	◊	Individu vu en consultation en conseil génétique

maladie AR : maladie autosomique récessive
 maladie AD : maladie autosomique dominante

Exemple d'arbre généalogique



- ① : ligne de relation
- ② : ligne de descendance
- ③ : ligne de fratrie
- ④ : ligne d'individu
- ⑤ : indique que la relation n'existe plus
- ⑥ : indique une relation consanguine
- ⑦ : pas d'enfant (choix ou raison inconnue)
- ⑧ : infertilité
- ⑨ : jumeaux monozygotes
- ⑩ : jumeaux dizygotes
- ⑪ : adoption
- ⑫ : jumeaux mono ou dizygotes
- ⑬ : histoire familiale inconnue

D'après Recommendations for Standardized Human Pedigree Nomenclature, Bennett et al, Am J Hum Genet 56:745-752, 1995

INITIALES PATIENT : | | - | | N° CENTRE : | | N° DE PATIENT | | | |

PRISE EN CHARGE IMMEDIATE

1. Date du premier examen spécialisé éveillé (jj/mm/aa) :

| | / | | / | |

2. Première observation spécialisée ophtalmologique éveillée : Si normal : inscrire N
Si non vu : inscrire NV
Si non recherché : inscrire NR

Œil droit		Œil gauche	
Comportement général de l'enfant et comportement visuel :			
PIO <input type="checkbox"/> mesurée <input type="checkbox"/> non mesurée Si mesurée, méthode utilisée :			
mmHg		mmHg	
Segment antérieur			
Fond d'œil			
Examen(s) complémentaire(s) ophtalmologique(s) : <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (préciser)			
Traitement local et général préopératoire (préciser spécialité et posologie)			
Général à visée ophtalmologique:	Topique <input type="checkbox"/> Pas de traitement	Topique <input type="checkbox"/> Pas de traitement	
<input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC* :	<input type="checkbox"/> β-bloquant : 1 goutte fois par jour	<input type="checkbox"/> β-bloquant : 1 goutte fois par jour	
<input type="checkbox"/> Autre(s) :	<input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC : 1 goutte fois par jour	<input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC : 1 goutte fois par jour	
<input type="checkbox"/> Aucun	<input type="checkbox"/> Prostaglandine : 1 goutte fois par jour	<input type="checkbox"/> Prostaglandine : 1 goutte fois par jour	
	<input type="checkbox"/> Alpha2 adrénergique : 1 goutte fois par jour	<input type="checkbox"/> Alpha2 adrénergique : 1 goutte fois par jour	
	<input type="checkbox"/> Autre hypotonisant : 1 goutte fois par jour	<input type="checkbox"/> Autre hypotonisant : 1 goutte fois par jour	
	<input type="checkbox"/> Autre(s) collyre(s) :	<input type="checkbox"/> Autre(s) collyre(s) :	

*AC : Anhydrase Carbonique

INITIALES PATIENT : | | - | | N° CENTRE : | | N° DE PATIENT | | | |

EXAMEN GÉNÉRAL

Réalisation d'un examen pédiatrique général : (Joindre compte-rendu)

Date (jj/mm/aa) : | | / | | / | |

- Normal
- Anormal (préciser) :

Examens complémentaires généraux : (Joindre compte-rendu)

- Non
- Oui (préciser) :

INITIALES PATIENT : | | | | N° CENTRE : | | | N° DE PATIENT | | | |

Décision thérapeutique <i>(préciser spécialité et posologie)</i> <i>Si chirurgicale, se reporter au feuillet « intervention chirurgicale ».</i>	Chirurgicale : <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON Délai :	Chirurgicale : <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON Délai :
	Topique : <input type="checkbox"/> Pas de traitement <input type="checkbox"/> β-bloquant : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Prostaglandine : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Agoniste alpha 2 adrénergique : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Autre(s) hypotonisant(s) :	Topique : <input type="checkbox"/> Pas de traitement <input type="checkbox"/> β-bloquant : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Prostaglandine : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Agoniste alpha 2 adrénergique : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Autre(s) hypotonisant(s) :

Si traitement combiné cocher toutes les classes thérapeutiques concernées

INITIALES PATIENT : | | | | N° CENTRE : | | | N° DE PATIENT | | | |

TYPE DE GLAUCOME

(À compléter après réalisation du 1^{er} examen sous anesthésie générale)

	Œil droit	Œil gauche
1. Glaucome congénital uni ou bilatéral :	Unilatéral..... <input type="checkbox"/> Bilatéral..... <input type="checkbox"/>	
2. Classification :	a. Primitif isolé. Trabéculodysgénésie (Buphtalmie)..... <input type="checkbox"/>	a. Primitif isolé. Trabéculodysgénésie (Buphtalmie)..... <input type="checkbox"/>
	b. Primitif associé à d'autre neurocristopathie : <u>Irido-trabéculodysgénésie :</u> Aniridie <input type="checkbox"/> Ectropion de l'uvée <input type="checkbox"/> Axenfeld Rieger <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Préciser : <u>Cornéo-trabéculodysgénésie :</u> Mégalocornée..... <input type="checkbox"/> Sclérocornée congénitale. <input type="checkbox"/> Autre <input type="checkbox"/> Préciser : <u>Cornéo-irido-trabéculodysgénésie :</u> Anomalie de Peters..... <input type="checkbox"/> Autre <input type="checkbox"/> Préciser : Autre <input type="checkbox"/> Diagnostic :	b. Primitif associé à d'autre neurocristopathie : <u>Irido-trabéculodysgénésie :</u> Aniridie <input type="checkbox"/> Ectropion de l'uvée <input type="checkbox"/> Axenfeld Rieger <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Préciser : <u>Cornéo-trabéculodysgénésie :</u> Mégalocornée..... <input type="checkbox"/> Sclérocornée congénitale. <input type="checkbox"/> Autre <input type="checkbox"/> Préciser : <u>Cornéo-irido-trabéculodysgénésie :</u> Anomalie de Peters..... <input type="checkbox"/> Autre <input type="checkbox"/> Préciser : Autre <input type="checkbox"/> Diagnostic :
	c. Secondaire (préciser le diagnostic) : <input type="checkbox"/> Diagnostic :	d. Secondaire (préciser le diagnostic) : <input type="checkbox"/> Diagnostic :
Pathologie générale associée :		

Annexe 6: Fiches complémentaires de suivi

INITIALES PATIENT : | _ | _ | _ | N° CENTRE : | _ | _ | N° DE PATIENT | _ | _ | _ |

EXAMEN EN CONSULTATION ÉVEILLÉ

Si normal : inscrire N
Si non vu : inscrire NV
Si non recherché : inscrire NR

Date (jj/mm/aa) | _ | _ | / | _ | _ | / | _ | _ |

Œil droit		Œil gauche	
Comportement général de l'enfant et comportement visuel :			
Acuité visuelle <input type="checkbox"/> Zanolghi à 2.5m <input type="checkbox"/> ETDRS <input type="checkbox"/> Autre, précisez :			
Résultat :			
Orientation : <input type="checkbox"/> Scolarisation sans aide <input type="checkbox"/> Déscolarisé <input type="checkbox"/> Institut spécialisé <input type="checkbox"/> Scolarisation avec aide, précisez :			
Réfraction	Sphère	Cylindre	Angle
PIO <input type="checkbox"/> mesurée <input type="checkbox"/> non mesurée Si mesurée, méthode utilisée :			
Valeur mesurée	mmHg		mmHg
Segment antérieur			
Conjonctive (+/- aspect de la bulle de filtration)			
Cornée : Taille	mm		mm
Transparence ¹			
Pachymétrie	micromètres		micromètres
Anomalie			
Chambre antérieure			
Iris			
Cristallin			
Fond d'œil			
Papille : Taille	mm		mm
Rapport c/d			
Anomalie			
Macula / Périphérie	/		/
Examen(s) complémentaire(s) ophtalmologique(s) : <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui (préciser)			
Echographie (Préciser longueur axiale)			
mm		mm	
Prochain examen : <input type="checkbox"/> Eveillé <input type="checkbox"/> Sous AG +/- intervention chirurgicale			

INITIALES PATIENT : | _ | _ | _ | N° CENTRE : | _ | _ | N° DE PATIENT | _ | _ | _ |

Décision thérapeutique (préciser spécialité et posologie) <i>Si chirurgicale, se reporter au feuillet « intervention chirurgicale ».</i>	Chirurgicale : <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON Délai :	Chirurgicale : <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON Délai :
	Topique : <input type="checkbox"/> Pas de traitement <input type="checkbox"/> β-bloquant : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC : 1 goutte fois par jour Traitement général <input type="checkbox"/> Pas de traitement <input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Autre(s) :	Topique : <input type="checkbox"/> Pas de traitement <input type="checkbox"/> β-bloquant : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Prostaglandine : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Agoniste alpha 2 adrénergique : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Autre(s) hypotonisant(s) :
Occlusion <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non Préciser œil et rythme :	<input type="checkbox"/> Anti inflammatoire stéroïdien : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Anti inflammatoire non stéroïdien : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Antibiotique(s) : <input type="checkbox"/> Autre(s) collyre(s) :	<input type="checkbox"/> Anti inflammatoire stéroïdien : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Anti inflammatoire non stéroïdien : 1 goutte fois par jour <input type="checkbox"/> Antibiotique(s) : <input type="checkbox"/> Autre(s) collyre(s) :
Si traitement combiné cocher toutes les classes thérapeutiques concernées		

Numéro de page :

¹ Cotation de 1 (transparente ou œdème minime) à 3 (opaque)

INITIALES PATIENT : | | - | | N° CENTRE : | | | N° DE PATIENT | | | |

Si normal : inscrire N
Si non vu : inscrire NV
Si non recherché : inscrire NR

EXAMEN SOUS ANESTHESIE GENERALE

Réfraction	Œil droit			Œil gauche		
	Sphère	Cylindre	Angle	Sphère	Cylindre	Angle
Examen de la cornée	Méthode de mesure du diamètre cornéen :					
Diamètre cornéen	mm			mm		
Transparence cornéenne ¹						
Pachymétrie	micromètres			micromètres		
Autre anomalie cornéenne						
PIO	<input type="checkbox"/> mesurée <input type="checkbox"/> non mesurée Si mesurée, méthode utilisée :					
Valeur mesurée	mmHg			mmHg		
Segment antérieur						
Conjonctive (+/- aspect de la bulle de filtration)						
Chambre antérieure						
Iris						
Angle irido-cornéen						
Cristallin						
Fond d'œil (si photographie, joindre cliché)						
Papille : Taille	mm			mm		
Rapport c/d						
Anomalie						
Macula / Périphérie	/			/		
Examens complémentaires						
Echographie (Préciser longueur axiale en mm)	mm			mm		
UBM	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON (si oui joindre les images)					
Résultats :						

INITIALES PATIENT : | | - | | N° CENTRE : | | | N° DE PATIENT | | | |

Décision thérapeutique <i>(préciser spécialité et posologie)</i> <i>Si chirurgicale, se reporter au</i> <i>feuillelet « intervention</i> <i>chirurgicale ».</i>	Chirurgicale : <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON Délai :	Chirurgicale : <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON Délai :
Traitement général <input type="checkbox"/> Pas de traitement	Topique : <input type="checkbox"/> Pas de traitement	Topique : <input type="checkbox"/> Pas de traitement
<input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC :	<input type="checkbox"/> β-bloquant :	<input type="checkbox"/> β-bloquant :
1 goutte fois par jour	1 goutte fois par jour	1 goutte fois par jour
<input type="checkbox"/> Prostaglandine :	<input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC :	<input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC :
1 goutte fois par jour	1 goutte fois par jour	1 goutte fois par jour
<input type="checkbox"/> Autre(s) :	<input type="checkbox"/> Agoniste alpha 2 adrénergique :	<input type="checkbox"/> Agoniste alpha 2 adrénergique :
	1 goutte fois par jour	1 goutte fois par jour
Occlusion <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non préciser œil et rythme :	<input type="checkbox"/> Autre(s) hypotonisant(s) :	<input type="checkbox"/> Autre(s) hypotonisant(s) :
<input type="checkbox"/> Anti inflammatoire stéroïdien :	<input type="checkbox"/> Anti inflammatoire stéroïdien :	<input type="checkbox"/> Anti inflammatoire stéroïdien :
1 goutte fois par jour	1 goutte fois par jour	1 goutte fois par jour
<input type="checkbox"/> Anti inflammatoire non stéroïdien :	<input type="checkbox"/> Anti inflammatoire non stéroïdien :	<input type="checkbox"/> Anti inflammatoire non stéroïdien :
1 goutte fois par jour	1 goutte fois par jour	1 goutte fois par jour
<input type="checkbox"/> Antibiotiques(s) :	<input type="checkbox"/> Antibiotiques(s) :	<input type="checkbox"/> Antibiotiques(s) :
<input type="checkbox"/> Autre(s) collyre(s) :	<input type="checkbox"/> Autre(s) collyre(s) :	<input type="checkbox"/> Autre(s) collyre(s) :
Si traitement combiné cocher toutes les classes thérapeutiques concernées		

INITIALES PATIENT : |_|-|_| N° CENTRE : |_|_| N° DE PATIENT |_|_|_|

INTERVENTION CHIRURGICALE

1. Œil droit ou œil gauche (Si chirurgie des 2 yeux, utiliser 2 fiches différentes)

- Œil droit Œil gauche

2. Date de l'intervention chirurgicale (jj/mm/aaaa) : / /

3. Technique chirurgicale retenue (joindre copie du compte rendu opératoire) :

- Goniotomie Trabéculotomie
 Trabéculectomie Trabéculotomie-Trabéculectomie combinée
 Laser Diode Sclérectomie non perforante
 Valves (préciser) :
 Autre (préciser) :

Utilisation d'anti-mitotique per-opératoire : oui non

- 5 FU Mitomycine Autre (préciser) :

4. Traitement local de l'œil opéré et général post opératoire : (préciser spécialité et posologie)

<p>Topique : <input type="checkbox"/> Pas de traitement</p> <p><input type="checkbox"/> β-bloquant : 1 goutte fois par jour</p> <p><input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC : 1 goutte fois par jour</p> <p><input type="checkbox"/> Prostaglandine : 1 goutte fois par jour</p> <p><input type="checkbox"/> Agoniste alpha 2 adrénergique : 1 goutte fois par jour</p> <p><input type="checkbox"/> Autre(s) hypotonisant(s) :</p> <p><input type="checkbox"/> Anti inflammatoire stéroïdien : 1 goutte fois par jour</p> <p><input type="checkbox"/> Anti inflammatoire non stéroïdien : 1 goutte fois par jour</p> <p><input type="checkbox"/> Antibiotique(s) :</p> <p><input type="checkbox"/> Autre(s) collyre(s) :</p>	<p>Général à visée ophtalmologique :</p> <p><input type="checkbox"/> Pas de traitement</p> <p><input type="checkbox"/> Inhibiteur de l'AC :</p> <p><input type="checkbox"/> Autre(s) :</p> <p>Occlusion <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non Préciser œil et rythme :</p>
Si traitement combiné cocher toutes les classes thérapeutiques concernées	

Annexe 7: Consentement et fiche de prélèvement

LETTRÉ D'INFORMATION

Etude prospective de la prise en charge diagnostique et thérapeutique du glaucome congénital en France.

Promoteur : CHRU de LILLE
Investigateur Coordinateur : Pr ROULAND

Madame, Monsieur,

Le présent document décrit l'étude pour laquelle le CHRU de Lille sollicite la participation de votre enfant. Il résume les informations actuellement disponibles en répondant aux différentes questions que vous pouvez vous poser dans le cadre de la participation de votre enfant à cette recherche.

- 1) Pourquoi participer à cette étude.

Vous avez été adressé dans le service d'ophtalmologie car votre enfant présente certains signes laissant à penser qu'il puisse présenter un glaucome congénital. L'examen ophtalmologique permettant de s'assurer de ce diagnostic doit être fait sous anesthésie générale.

La pathologie suspectée chez votre enfant, le glaucome congénital, est désormais connu comme pouvant avoir un lien avec certaines anomalies au niveau de l'ADN (le support de l'information génétique). Seules quelques rares anomalies sont connues car les études déjà réalisées concernent un trop petit nombre d'enfants. Nous souhaitons faire participer un grand nombre d'enfants atteints de glaucome congénital à une étude en vue d'identifier les anomalies génétiques en lien avec cette pathologie.

- 2) Quel est l'objectif de la recherche ?

Nous recherchons un lien entre l'âge lors du diagnostic de la maladie dont est potentiellement atteint votre enfant et son acuité visuelle à l'âge de 4 ans.

Nous souhaitons également faire un état des lieux de la prise en charge du glaucome congénital en France.

- 3) Comment va se dérouler la recherche ?

Lors d'une première visite, le médecin vous posera quelques questions sur vos antécédents médicaux personnels et familiaux et sur ceux de votre enfant, ainsi que sur les circonstances qui ont amené à la découverte de la maladie de votre enfant.

Dans le cadre de la suspicion de glaucome congénital chez votre enfant, un examen sous anesthésie générale va être réalisé. Si le diagnostic est confirmé par cet examen, votre enfant nécessitera une prise en charge ophtalmologique spécialisée au long cours.

Au cours de ce suivi, un certain nombre de données concernant l'évolution et la prise en charge de la maladie seront recueillies.

En aucun cas, l'étude que nous menons n'interférera avec la prise en charge de votre enfant.

En cas de confirmation du diagnostic de glaucome congénital, nous souhaitons également réaliser sur votre enfant un prélèvement sanguin à visée d'analyse génétique. Ce prélèvement est d'un faible volume (2 x 2,5 millilitres de sang), et ne comporte aucun risque spécifique. Le prélèvement sera réalisé au bloc opératoire, sous anesthésie, en même temps que les prélèvements nécessaires à la prise en charge normale de votre enfant et grâce à la même voie veineuse.

V 19.1 du 11/05/2017

18

Les prélèvements seront ensuite congelés et adressés au Centre de Ressources Biologiques du CHRU de Lille, pour pouvoir extraire l'ADN du sang de votre enfant et le conserver en attendant l'analyse.

L'analyse génétique qui est envisagée actuellement est une analyse dite « pangénomique ». Cette approche permet de réaliser une analyse complète de tous les gènes de votre enfant, à la recherche d'une anomalie dans la chaîne d'information. Cette méthode est particulièrement puissante pour rechercher les anomalies ponctuelles et a permis, dans le cadre d'autres maladies d'en découvrir les gènes en cause.

Nous espérons, grâce à ces analyses et à plus ou moins long terme, pouvoir identifier des éléments modifiés au sein de l'ADN de patients atteints de glaucome congénital, ce qui permettrait d'améliorer le diagnostic et la prise en charge de ces patients. Toutefois, compte tenu du temps nécessaire à la réalisation de toutes ces étapes analytiques, il est peu probable que votre enfant tire un bénéfice direct, à court terme, de ces analyses.

Si de l'ADN devait être conservé après la majorité de votre enfant, nous retournerons vers lui afin de recueillir son consentement exprès pour cette partie de l'étude.

- 4) Quels sont les bénéfices attendus ?

Votre enfant ne tirera pas de bénéfice individuel de sa participation à l'étude. Toutefois, sa participation est importante, car elle permettra d'apporter une meilleure connaissance du glaucome congénital. Nous pourrions ainsi, en fonction des résultats de cette étude, proposer des éléments qui permettront une prise en charge diagnostique et thérapeutique optimale.

- 5) La recherche comporte-t-elle des risques, des effets indésirables et/ou des contraintes particulières ?

Votre enfant ne court aucun risque lors de sa participation à l'étude. Les visites ou consultations au cours desquelles seront recueillies les données seront celles nécessaires à sa prise en charge.

- 6) Quelles sont les conditions de participation à la recherche ?

Afin de pouvoir participer à cette étude, vous devez être affilié(e) à un régime obligatoire d'Assurance Maladie et votre enfant être ayant droit. Votre participation à cette étude nécessite que nous informions votre médecin traitant, sauf si vous le refusez.

Si vous acceptez que votre enfant participe à cette étude, et si ce dernier ne s'y oppose pas, il pourra être inclus dans toute autre étude à laquelle vous consentirez, et ce pendant toute la durée de sa participation à notre recherche.

- 7) Quels sont mes droits en tant que participant à la recherche ?

La participation de votre enfant à cette étude n'est pas une obligation pour vous. Vous êtes donc libre de refuser de participer à la recherche sans avoir à vous justifier et sans que cela modifie la relation de soin existant avec l'équipe médicale qui prend votre enfant en charge. Vous êtes libre de demander un délai de réflexion, si vous le désirez.

Si vous acceptez cette participation, vous ou votre enfant pourrez revenir sur votre décision à tout moment, sans avoir à vous justifier et sans que cela modifie la relation de soin existant dans le cadre de votre prise en charge médicale. Par ailleurs, vous pourrez obtenir au cours ou à l'issue de la recherche, la communication des données de santé détenues par votre médecin, le Docteur _____.

V 19.1 du 11/05/2017

19

Dans le cadre de la recherche, un traitement de vos données personnelles sera mis en œuvre pour permettre d'analyser les résultats de l'étude au regard de l'objectif de cette dernière qui vous a été présentée. A cette fin, les données médicales concernant votre enfant, tout autre type de données existantes seront transmises au Promoteur de la recherche ou aux personnes ou société agissant pour son compte en France ou à l'étranger. Ces données seront identifiées par un numéro de code et les initiales de votre enfant. Ces données pourront également, dans des conditions assurant leur confidentialité, être transmises aux autorités de santé françaises. Conformément aux dispositions de la loi relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, vous disposez d'un droit d'accès et de rectification. Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées dans le cadre de cette recherche et d'être traitées. Ces droits s'exercent auprès du médecin qui vous a proposé de participer à cette étude.

Si vous le souhaitez, à son terme, vous serez informé(e) par l'investigateur des résultats globaux de cette recherche, sur simple demande de votre part.

Vous n'aurez à supporter aucune charge financière supplémentaire du fait de votre participation à cette étude.

-8) Le CHRU de Lille est-il autorisé à réaliser ce type de recherche ?

Oui, en application de la loi, cette étude a été autorisée par l'ANSM¹, le 19 Septembre 2012, ; elle a également reçu, le 13 Novembre 2012, un avis favorable du Comité de Protection des Personnes Nord Ouest IV, organisme officiel et indépendant qui a pour vocation notamment de protéger la sécurité des personnes qui se prêtent à la recherche .

En outre, le CHRU de Lille, en sa qualité de promoteur, a souscrit une assurance couvrant notamment votre responsabilité civile dans le cadre de cette étude.

- 9) A qui dois-je m'adresser en cas de questions ou de problèmes ?

Vous pourrez poser toutes les questions que vous souhaitez, avant, pendant et après l'étude.

Pour toute information complémentaire, vous pouvez vous adresser au Professeur ROULAND, au 03.20.44.43.05

Nous vous remercions de bien vouloir parapher chaque page de ce document (réalisé en quatre exemplaires), afin d'attester que vous l'avez bien lu et compris.

Si vous êtes d'accord pour que votre enfant participe à cette étude, nous vous remercions également de bien vouloir donner votre consentement écrit en signant le formulaire ci-après, préparé à cet effet.

Fait à, le

Signature de l'investigateur

Fait à, le

Signature du Volontaire

¹ ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Autorité de santé ayant notamment pour mission d'autoriser, de suivre et de contrôler le déroulement de la recherche.

**Formulaire de Consentement de participation à une recherche biomédicale pour un mineur
Etude prospective de la prise en charge diagnostique et thérapeutique du glaucome
congénital en France
Promoteur : CHRU de Lille - Investigateur coordonnateur : Pr Rouland**

Je, soussigné (e)
M^{re}, M^{lle} (nom, prénom) (Mère titulaire de l'autorité parentale, ou autre
représentant légal [barre mention inutile])
Et
Je soussigné
M. (nom, prénom) (Père titulaire de l'autorité parentale, ou autre
représentant légal [barre mention inutile])

Accepte librement et volontairement que mon enfant :
participe à la recherche biomédicale intitulée « **Etude prospective de la prise en charge
diagnostique et thérapeutique du glaucome congénital en France** » dont le CHRU de Lille est
promoteur et qui m'a été proposée par le Docteur/Professeur (nom, prénom, téléphone,
service).....

Etant entendu que :

- Le médecin qui m'a informé et a répondu à toutes mes questions, m'a précisé que ma décision est libre et que mon enfant est libre de refuser cette participation sans que la relation de soins avec l'équipe médicale soit altérée,
- J'ai été clairement informé (e) des éléments suivants : But de la Recherche- Méthodologie- Durée de ma participation- Bénéfices attendus- Contraintes- Risques prévisibles et j'ai réexpliqué ces informations à mon enfant, en concertation avec le médecin.
- J'ai bien compris que pour pouvoir participer à cette recherche, mon enfant doit être affilié(e) à un régime de sécurité sociale ou ayant-droit d'un assuré social. Je confirme que c'est bien le cas,
- Il m'a été clairement précisé que je peux retirer à tout moment mon consentement à cette participation, sans avoir à me justifier et sans que cela porte atteinte à la qualité des soins qui sont dispensés à mon enfant ; dans ce cas, je m'engage néanmoins, à en informer le médecin en charge de mon enfant,
- Si mon enfant et moi le souhaitons, à son terme, nous serons informés par le médecin des résultats globaux de cette recherche selon les modalités figurant dans la note d'information qui m'a été remise,
- Mon consentement ne décharge en rien le médecin et le promoteur de l'ensemble de leurs responsabilités et je conserve tous mes droits garantis par la loi.
- J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la CNIL (loi du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 39)) s'exerce à tout moment auprès du médecin qui suit mon enfant dans le cadre de la recherche et qui connaît son identité. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin, qui contactera le promoteur de la recherche.

Dans le cadre de cette étude, un examen des caractéristiques génétiques va être effectué. Cet examen vise à identifier des éléments modifiés au sein de l'ADN de patients atteints de glaucome congénital, ce qui permettrait d'améliorer le diagnostic et la prise en charge de ces patients.
 J'accepte qu'il soit procédé à l'examen des caractéristiques génétiques de mon enfant dans le cadre de cette étude, conformément à ce qui m'a été expliqué.
 Je refuse que cet examen des caractéristiques génétiques de mon enfant soit effectué.
-J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche comportant des données génétiques puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur ou pour son compte. J'ai bien noté que le droit d'accès prévu par la CNIL (loi du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 39)) s'exerce à tout moment auprès du médecin qui me suit dans le cadre de la recherche et qui connaît mon identité. Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin, qui contactera le promoteur de la recherche.

Fait à, le

Signature du père, titulaire de l'autorité parentale :
(J'atteste être le seul titulaire de l'autorité parentale : barrer si inutile)
V 19.1 du 11/05/2017

Signature de la mère, titulaire de l'autorité parentale :

(J'atteste être le seul titulaire de l'autorité parentale : barrer si inutile)

Signature : autre représentant légal : (uniquement si le mineur est placé sous tutelle : dans ce cas : barrer les mentions père/mère ci-dessus)

L'enfant refuse-t-il de signer ? : oui non
(à remplir par l'enfant, ou par les titulaires de l'autorité parentale/représentant légal)

Signature éventuelle de l'enfant :

Fait à, le/...../.....

Signature du médecin investigateur ou du médecin qui le représente (barrer la mention inutile) :

Le présent formulaire ainsi que la note d'information sont réalisés en quatre exemplaires, dont deux sont remis aux parents.
Un exemplaire sera conservé par l'investigateur ; le dernier sera conservé par le promoteur en toute confidentialité, conformément à la loi.

Etude CONGLAU		 Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille																															
Investigateur Principal : Pr Jean-François ROULAND Service ophtalmologie CHRU de Lille, Place Verdun 59037 Lille Cedex Tel. : 03 20 44 53 54		FICHE PRELEVEMENT Centres extérieurs V1 du 31.05.2013																															
IDENTIFICATION PATIENT																																	
INITIALES :	<input type="text" value="NOM"/> <input type="text" value="PRENOM"/>	IDENTIFIANT : Numéro patient	<input type="text" value="CENTRE"/> <input type="text" value="NUMERO D'INCLUSION"/>																														
SEXE :	<input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> F	VISITE :	<input type="text" value="Inclusion"/>																														
CONSENTEMENT SIGNE : <input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON																																	
<small>Identifiant : première lettre du nom + première lettre du prénom</small>																																	
Centres : <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td>01 Amiens</td> <td>06 Caen</td> <td>11 Lille</td> <td>16 Nice</td> <td>21 Reims</td> <td>26 Toulouse</td> </tr> <tr> <td>02 Angers</td> <td>07 Dijon</td> <td>12 Marseille</td> <td>17 Paris - Fondation Rothschild</td> <td>22 Rouen</td> <td>27 Tours</td> </tr> <tr> <td>03 Besançon</td> <td>08 Grenoble</td> <td>13 Montpellier</td> <td>18 Paris - Necker</td> <td>23 Saint Etienne</td> <td></td> </tr> <tr> <td>04 Bordeaux</td> <td>09 Lyon</td> <td>14 Nancy</td> <td>19 Paris - Quinze Vingts</td> <td>24 Strasbourg</td> <td></td> </tr> <tr> <td>05 Brest</td> <td>10 Limoges</td> <td>15 Nantes</td> <td>20 Poitiers</td> <td>25 Rennes</td> <td></td> </tr> </table>				01 Amiens	06 Caen	11 Lille	16 Nice	21 Reims	26 Toulouse	02 Angers	07 Dijon	12 Marseille	17 Paris - Fondation Rothschild	22 Rouen	27 Tours	03 Besançon	08 Grenoble	13 Montpellier	18 Paris - Necker	23 Saint Etienne		04 Bordeaux	09 Lyon	14 Nancy	19 Paris - Quinze Vingts	24 Strasbourg		05 Brest	10 Limoges	15 Nantes	20 Poitiers	25 Rennes	
01 Amiens	06 Caen	11 Lille	16 Nice	21 Reims	26 Toulouse																												
02 Angers	07 Dijon	12 Marseille	17 Paris - Fondation Rothschild	22 Rouen	27 Tours																												
03 Besançon	08 Grenoble	13 Montpellier	18 Paris - Necker	23 Saint Etienne																													
04 Bordeaux	09 Lyon	14 Nancy	19 Paris - Quinze Vingts	24 Strasbourg																													
05 Brest	10 Limoges	15 Nantes	20 Poitiers	25 Rennes																													
Commentaires :																																	
PRELEVEMENT SANGUIN																																	
Prélèvement réalisé à jeun		<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON																															
TUBES PRELEVES (cochez la case si les tubes ont été prélevés)																																	
TUBES EDTA (K2E) 2.5 mL : _____ 2 <input type="checkbox"/>		Si tous les tubes n'ont pas été prélevés, indiquez la quantité exacte à coté de la case à cocher.																															
Date du Prélèvement : <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> 2 0 <input type="text"/> <input type="text"/>																																	
Heure du Prélèvement : <input type="text"/> <input type="text"/> : <input type="text"/> <input type="text"/>																																	
Nom du Préleveur (<i>capitales</i>)		Signature																															
Heure de congélation : <input type="text"/> <input type="text"/> : <input type="text"/> <input type="text"/>		Réception CRB - CHRU Lille :																															
Nom et signature :		Date <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> 2 0 <input type="text"/> <input type="text"/>																															
		Nom et signature :																															

Annexe 8: Membres investigateurs :

<p>Docteur DUREAU Pascal Fondation Rothschild, Paris</p>	<p>Docteur ROZET Jean-Michel CHU Necker – Enfants malades, Paris</p>
<p>Docteur ROCHE Olivier CHU Necker – Enfants malades, Paris</p>	<p>Professeur DELBOSC Bernard CHU de Besançon</p>
<p>Professeur MURAINÉ Marc CHU Rouen</p>	<p>Docteur COCHARD-MARIANOWSKI Catherine CHU Brest</p>
<p>Docteur DENION Eric CHU Caen</p>	<p>Professeur DENIS Danièle CHU Marseille</p>
<p>Professeur MILAZZO Solange CHU Hôpital Saint Victor, Amiens</p>	<p>Docteur PALOMBI Karine CHU de Grenoble</p>
<p>Professeur SPEEG-SCHATZ Claude CHU- Hôpital civil, Strasbourg</p>	<p>Pr KOROBELNIK Jean-François CHU Bordeaux-Pellegrin</p>
<p>Professeur DENIS Philippe CHU- Hôpital Edouard Herriot, Lyon</p>	
<p>Professeur GAIN Philippe CHU Hôpital Bellevue, Saint-Étienne</p>	
<p>Docteur CAMPOLMI Nelly CHU Saint Etienne/ Hôpital Nord</p>	
<p>Docteur MANOLI Pierre CHU Saint Etienne/ Hôpital Nord</p>	
<p>Professeur DUCASSE Alain CHU Hôpital Robert Debré, Reims</p>	
<p>Professeur PECHEREAU Alain CHU Nantes</p>	
<p>Professeur PISELLA Pierre-Jean CHU Tours- Bretonneau</p>	
<p>Professeur BRON Alain CHU Dijon</p>	
<p>Docteur LEMEUR Guylène CHU Hôtel Dieu, Nantes</p>	
<p>Docteur CAIGNARD Angélique CHU d'Angers</p>	
<p>Professeur ROBERT Pierre-Yves Hôpital Dupuytren, CHU de Limoges</p>	
<p>Professeur MALECAZE François Hôpital Purpan, Toulouse</p>	
<p>Docteur MERCIE Martial CHU-pole Medipool, Poitiers</p>	
<p>Professeur MORTEMOUSQUE Bruno CHU Rennes</p>	

AUTEUR : Nom : RAMSKI

Prénom : MARGAUX

Date de soutenance : Lundi 12 octobre 2020

Titre de la thèse : « Etude génétique par séquençage haut-débit d'une cohorte française de jeunes patients atteints de glaucome congénital. »

Thèse - Médecine - Lille 2020

Cadre de classement : Médecine

DES d'Ophtalmologie

Mots-clés : Glaucome congénital ; Dysgénésies oculaires ; Séquençage haut-débit ; Diagnostic moléculaire

RESUME :

Contexte : Le glaucome congénital primitif isolé (GCPI) est une pathologie oculaire rare mais potentiellement cécitante, survenant dans les premières semaines de vie, secondaire à une anomalie développementale de l'angle irido cornéen. Peu de gènes en cause ont été identifiés à ce jour, *CYP1B1* étant le plus fréquent.

Méthode : Une étude prospective sur une population quasi exhaustive des cas incidents en France a été initiée à Lille depuis avril 2013, dans le cadre d'un Programme Hospitalier de Recherche Clinique National (PHRC-N). Afin de réaliser le génotypage par séquençage haut-débit des patients atteints de glaucome congénital, un panel d'essai comprenant 150 gènes candidats a été élaboré. A ce jour, 66 patients inclus dans le PHRC ont été génotypés.

Résultats : Sur les 66 patients inclus, 63 ont été analysés avec succès et 28 ont un résultat génétique positif (44%). Parmi eux, 15 patients (24%) sont confirmés génétiquement et 13 autres (21%) sont considérés partiellement ou potentiellement élucidés. Dans ces deux groupes, les gènes les plus représentés pour le GCPI sont *CYP1B1* et *ABCB6*. Les autres gènes impliqués sont : *ADAMTSL4*, *ASB10*, *B3GALTL*, *COL18A1*, *CRYGC*, *TRPM3* et *WDR36*. D'autres phénotypes ont également été résolus, de type Axenfeld-Rieger, aniridie, mégalocornée et des cas de glaucome syndromique.

Conclusion : Notre étude a non seulement permis d'identifier de nouveaux variants et gènes en lien avec les glaucomes congénitaux, mais elle a aussi permis d'écarter certains gènes candidats discutés dans la littérature. Notre panel va ainsi évoluer, en adaptant la liste de gènes à séquencer, pour offrir à l'avenir et en dehors du PHRC, une analyse génétique à Lille pour les patients atteints de glaucome congénital. Le diagnostic génétique permettra une prise en charge médicale personnalisée pour les patients et leur famille

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Jean-François ROULAND

Asseseurs : Monsieur le Professeur Pierre LABALETTE et Madame le Docteur Céline TON VAN

Directrice de thèse : Madame le Docteur Claire-Marie DHAENENS