



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2020

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Etude clinique et moléculaire d'une cohorte de 79 patients
présentant une variation pathogène du gène *GDF5***

Présentée et soutenue publiquement le 17 décembre 2020 à 18h
au Pôle Recherche

par William DUFOUR

JURY

Présidente :

Madame le Professeur Sylvie MANOUVRIER

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Bernard CORTET

Madame le Professeur Florence PETIT

Madame le Docteur Aurélie MEZEL

Madame le Docteur Fabienne ESCANDE

Directrice de thèse :

Madame le Professeur Sylvie MANOUVRIER

AVERTISSEMENT

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

TABLE DES MATIERES

Résumé.....	1
Introduction.....	2
ETAT DES LIEUX DES CONNAISSANCES.....	4
I Développement osseux	4
1 Formation du mésoblaste et des somites.....	4
2 Ossification endochondrale	7
3 Développement articulaire	9
3.1 Formation de l'interzone articulaire	9
3.2 Cavitation	10
II Formation des membres.....	11
III Développement dentaire.....	13
IV GDF5	15
1 Gène <i>GDF5</i>	15
2 Protéine GDF5/CDMP1.....	16
2.1 Structure	16
2.2 Maturation protéique et régulation extra-cellulaire	18
2.3 Voie de signalisation	20
2.3.1 Voie dépendante de SMAD	20
2.3.2 Voie indépendante de SMAD	22
2.4 Inhibition de GDF5.....	22
3 Territoires d'expression et rôles de GDF5/CDMP1	23
3.1 Expression et rôles au niveau ostéoarticulaire.....	23
3.2 Expression et rôles au niveau dentaire	24
3.3 Expression et rôles au niveau du système nerveux central	25
4 Eléments régulateurs de <i>GDF5</i>	26
5 Modèles animaux	29
V Pathologies associées à <i>GDF5</i>	30
1 Syndromes avec perte de fonction mono-allélique	31
1.1 Brachydactylie type C	32
1.2 Brachydactylie de type A1	33
1.3 Brachydactylie type A2	34
1.4 Dysplasie « en forme d'ange »	36
2 Syndromes avec gain de fonction.....	38

2.1 Symphalangisme proximal de type 1B	38
2.2 Syndrome des synostoses multiples de type 2	39
3 Syndromes avec perte de fonction bi-allélique	41
3.1 Syndrome de Du Pan.....	41
3.2 Chondrodysplasie de type Grebe.....	43
3.3 Chondrodysplasie de type Hunter-Thompson	44
4 Polymorphismes et facteurs de susceptibilité	46
VI Perspectives thérapeutiques	49
1 Etudes chez l'animal.....	50
1.1 Régénération cartilagineuse et osseuse	50
1.2 Formation de la <i>calvaria</i>	50
1.3 Enrobage péri-implant.....	51
1.4 Rôle au niveau vertébral	51
2 Etudes cliniques.....	52
2.1 Enrobage péri-implant.....	52
2.2 Régénération parodontale	52
2.3 Dégénération disques intervertébraux	52
TRAVAIL DE THESE	53
I Matériel et Méthodes.....	53
1 Objectifs.....	53
2 Recueil de données	53
2.1 Recrutement des patients	53
2.2 Recueil des informations cliniques.....	54
2.3 Classification des variations du gène <i>GDF5</i>	55
3 Analyses statistiques	55
3.1 Détermination de la fréquence des signes cliniques.....	55
3.2 Etudes comparatives.....	56
4 Analyses moléculaires	57
4.1 Extraction d'ADN	57
4.2 Séquençage haut débit.....	57
4.3 Séquençage Sanger.....	58
II Résultats	58
1 Répartition des patients	58
2 Brachydactylie de type C	59
2.1 Signes cliniques	59

2.1.1 Atteinte des extrémités	60
2.1.2 Autres signes cliniques	63
2.1.3 Atteinte par classe d'âge	66
2.2 Résultats moléculaires.....	68
3 Symphalangisme proximal de type 1B.....	69
3.1 Signes cliniques	69
3.2 Résultats moléculaires.....	69
4 Synostoses multiples	70
4.1 Signes cliniques	70
4.2 Résultats moléculaires.....	70
5 Syndrome de Grebe	71
5.1 Signes cliniques	71
5.2 Résultats moléculaires.....	72
6 Syndrome de Du Pan	72
6.1 Signes cliniques	72
6.2 Résultats moléculaires.....	73
7 Etude moléculaire	73
III Discussion	75
1 Perte de fonction mono-allélique.....	76
2 Perte de fonction bi-allélique	79
3 Gain de fonction.....	80
4 Interprétation moléculaire	80
4.1 Variations situées au niveau de l'avant-bras (LAP).....	81
4.2 Variations situées au niveau ou à proximité du site de clivage	82
CONCLUSION	84
Bibliographie	95

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Acide Aminé

ACMG : American College of Medical Genetics and Genomics

AER : Crête Ectodermique Apicale (Apical Ectodermal Ridge)

ASPED : Dysplasie en forme d'ange (Angel-Shaped Phalango-Epyphyseal Dysplasia)

BDA : Brachydactylie de type A

BDC : Brachydactylie de type C

BMP : Bone Morphogenetic Protein

β-TCP : Beta Tricalcium Phosphate

CDMP1 : Cartilage-Derived Morphogenetic Protein 1

DDH : Dysplasie Développementale de Hanche

ERK : Extracellular signal-Regulated Kinase

GDF : Growth Différenciation Factor

GWAS : Etude d'Association Pangénomique (Genome-Wide Association Study)

HA : Acide Hyaluronique

HABP : Hyaluronic Acid Binding Protein

LAP : Latency Associated Protein

LLC : Large Latent Complex

LTBP : Latent-Transforming growth factor Beta-binding Protein 1

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase

PCR : Polymerase Chain Reaction

PFC : Preformed Complex

PTH : Prothèse Totale de Hanche

SLC : Small Latent Complex

SNC : Système Nerveux Central

SNP : Single Nucleotid Polymorphism

SYM : Symphalangisme Proximal

SYNS : Syndrome des Synostoses Multiples

TGF : Transforming Growth Factor

UDPGD : Uridine Diphosphoglucose Déhydrogenase

YAP : Yes-associated protein

ZPA : Zone d'Activité Polarisante

Résumé

Le gène *GDF5* est principalement exprimé au niveau des articulations durant la période embryonnaire. Il est connu pour être responsable de différentes pathologies osseuses selon son mécanisme d'altération : brachydactylie en cas de perte de fonction mono-allélique ; symphalangisme et synostoses multiples en cas de gain de fonction hétérozygote ; syndrome de Grebe, syndrome de Du Pan et syndrome de Hunter-Thompson en cas de perte de fonction bi-allélique ; susceptibilité à l'arthrose et dysplasie de hanche en présence de polymorphismes au sein de son promoteur. Par les nombreux phénotypes auxquels il est associé, *GDF5* illustre bien les difficultés d'interprétation des variations identifiées par les nouvelles techniques de séquençage. L'objectif principal de ce travail est la mise en évidence de corrélations génotype phénotype en lien avec des altérations de *GDF5*. Les objectifs secondaires sont la mise en évidence de phénotypes peu connus ainsi que la description précise des différentes atteintes. Nous avons étudié au sein du centre de référence des anomalies des membres de Lille une cohorte de 79 patients porteurs d'une variation pathogène du gène *GDF5*. Il s'agit d'une étude multicentrique internationale rétrospective basée sur les données cliniques et moléculaires de patients étudiés depuis 2000. Cette étude a mis en évidence que la clinodactylie du 2^{ème} rayon est significativement plus fréquente chez les patients de notre cohorte comparativement à ceux décrits dans la littérature jusqu'à présent. Le manque de puissance de notre échantillon de patients n'a pas permis de mettre en évidence d'autres différences statistiquement significatives. Cependant, nous remarquons certaines atteintes qui semblent avoir une fréquence plus importante dans notre cohorte par rapport à la littérature, notamment l'atteinte dentaire, l'atteinte des hanches et l'hyperlaxité.

Introduction

Les anomalies du développement des membres représentent environ 4% des malformations congénitales soit 1 naissance sur 700. Leurs étiologies sont très diverses et peuvent être liées à des maladies génétiques, des pathologies vasculaires, des causes mécaniques ou des molécules tératogènes. L'utilisation récente des capacités d'étude du génome par les techniques de séquençage haut débit a permis d'améliorer les perspectives en matière de diagnostic étiologique dans les malformations congénitales. Ainsi, de nouvelles pathologies génétiques ont été décrites sur le plan clinique et moléculaire permettant de mieux cerner les processus à l'origine du développement des membres. Ces avancées ont grandement modifié les classifications des différentes pathologies qui étaient initialement basées sur les aspects cliniques mais qui tendent de plus en plus à intégrer l'aspect moléculaire. De nombreuses classifications ont été réalisées en tenant compte des aspects cliniques, radiologiques et moléculaire des anomalies des membres. On peut, par exemple, classer les malformations des membres en 4 sous-types : les défauts de formation ou anomalies déficitaires, les défauts de différenciation ou anomalies de séparation, les duplications ou structures surnuméraires et les brachydactylies. Les futurs enjeux de la génétique clinique vont consister en une description phénotypique précise afin de pouvoir orienter correctement l'interprétation des examens de biologie moléculaire. Il est pour cela nécessaire d'obtenir des cohortes de patients de taille suffisante dans des centres de référence afin d'observer les différentes manifestations en lien avec l'expressivité variable des pathologies selon les individus (1).

Ce travail de thèse porte ainsi sur l'étude d'une importante cohorte de patients porteurs d'anomalies du gène *GDF5*, qui code une protéine de 501 acides aminés (AA) : Cartilage-Derived Morphogenetic Protein type 1 (CDMP1). Celle-ci joue un rôle

essentiel dans la mise en place des articulations, notamment au niveau des membres, mais est également impliquée dans le développement de la dent et au niveau du système nerveux central.

Après un résumé de l'état des lieux des connaissances sur la formation des os, la mise en place des articulations, le développement des membres et des dents, le gène *GDF5* et son territoire d'expression, la protéine CDMP1, son processus de maturation et ses rôles au niveau des tissus osseux, dentaires et neurologiques, les modèles animaux d'anomalies de *Gdf5*, les pathologies liées aux anomalies de *GDF5* chez l'homme et les perspectives thérapeutiques, nous détaillerons le travail de thèse, qui a porté sur l'analyse clinique et moléculaire d'une cohorte de 79 patients porteurs de variants délétères de *GDF5* (à notre connaissance la plus importante cohorte de patients porteurs d'anomalies de *GDF5* décrite jusqu'à présent). Nous détaillerons ainsi, la symptomatologie observée chez les patients porteurs de variants de classe 4 et 5 de *GDF5*, soit mono-alléliques responsables d'une perte ou d'un gain de fonction, soit bi-alléliques. Les données de notre cohorte seront comparées aux données de la littérature, puis discutées.

ETAT DES LIEUX DES CONNAISSANCES

Le gène *GDF5* a été décrit pour la première fois en 1994. Depuis son premier séquençage, les mécanismes moléculaires et les voies de signalisation dans lesquelles il intervient ont été précisées. Il existe différentes nomenclatures pour le désigner notamment : Growth Differentiation Factor 5 (*GDF5*) ou Bone Morphogenetic Protein 14 (*BMP14*) ou Cartilage-Derived Morphogenetic Protein 1 (*CDMP1*), cependant nous utiliserons le terme *GDF5*, qui est le terme le plus consensuel.

Nous allons dans un premier temps détailler les processus physiologiques du développement osseux, des membres et de la dentinogénèse dans lesquels *GDF5* est impliqué.

I Développement osseux

Le gène *GDF5*, qui est principalement exprimé au niveau des articulations, exerce un rôle essentiel au niveau de leur mise en place et de leur maintien. Tout d'abord, nous allons décrire l'apparition des ostéoblastes à partir du sclérotome qui constitue la première étape de la formation osseuse. Une fois les structures osseuses en place, nous détaillerons la mise en place des articulations ainsi que les mécanismes moléculaires à l'origine de l'architecture des membres.

1 Formation du mésoblaste et des somites

A la fin de la 3ème semaine de développement embryonnaire se produit la gastrulation aboutissant à la formation de trois feuillets :

- L'endoderme ou endoblaste (hypoblaste).
- L'ectoderme ou ectoblaste (épiblaste).

- Le mésoderme ou mésoblaste.

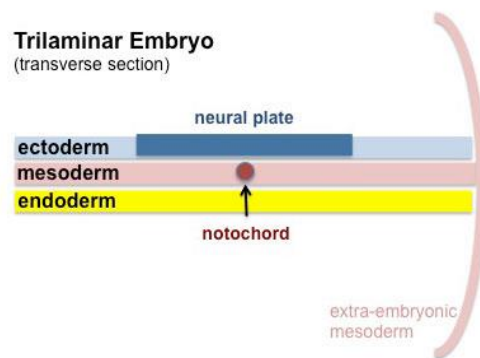


Figure 1 : Schéma représentant les 3 feuillets embryonnaires après la gastrulation en coupe transverse, d'après (2).

Le mésoblaste va ensuite se séparer en deux formant le mésoblaste axial et le mésoblaste intra-embryonnaire séparant les deux autres feuillets embryonnaires.

A J18, sous l'influence de la notochorde, le mésoblaste intra-embryonnaire va se diviser en trois lames :

- La lame para-axiale.
- La lame intermédiaire.
- Les lames latérales.

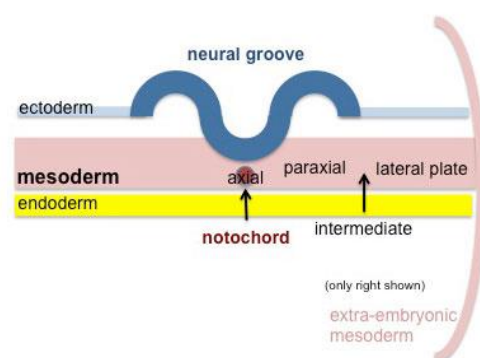


Figure 2 : Schéma représentant l'évolution du mésoblaste en coupe transverse, d'après (2).

La lame para-axiale va former différentes structures individualisées à l'origine du squelette et des muscles : les somites.

2 Ossification endochondrale

Il existe deux types d'ossification : l'ossification endochondrale et l'ossification endomembraneuse.

L'ossification endomembraneuse permet de former des ostéoblastes à partir du mésenchyme sans formation de matrice cartilagineuse intermédiaire. C'est le processus qui a lieu lors de la formation des os du crâne, de la face et des clavicules.

L'ossification endochondrale est le processus de formation à l'origine des os de la base du crâne, du rachis et du squelette appendiculaire.

Les cellules mésenchymateuses à l'origine du squelette appendiculaire expriment la protéine Prx1 (aussi appelé Prrx1). Elles vont ensuite se transformer en chondrocytes afin de pouvoir laisser la place aux ostéocytes et former le processus d'ossification endochondrale.

L'ossification endochondrale est divisée en cinq étapes :

- Transformation des cellules mésenchymateuses en cellules cartilagineuses sous l'influence de facteurs paracrines qui induisent l'expression de *Pax1* et *Scleraxis* au niveau des cellules mésenchymateuses situées à proximité. Ces deux facteurs de transcription sont à l'origine de l'activation des gènes spécifiques au cartilage.
- Les cellules mésenchymateuses vont ensuite se condenser en nodules compacts pour former les cellules cartilagineuses, les chondrocytes. Cette étape est initiée par les protéines N-Cadherine et son maintien est assuré par les protéines N-CAM. Chez l'Homme, le gène *SOX9* est exprimé lors de la phase de condensation précartilagineuse.

- La troisième étape consiste en une prolifération rapide des chondrocytes afin de former la structure de l'os futur. Durant les phases de division cellulaire, ils vont sécréter la matrice extra-cellulaire spécifique au cartilage.
- La quatrième étape débute après la phase de division cellulaire et consiste en l'augmentation de volume des chondrocytes afin de former des chondrocytes hypertrophiés. Ils vont également modifier la matrice extra-cellulaire en ajoutant du collagène X et de la fibronectine pour permettre la formation de carbonate de calcium. La prolifération et l'augmentation de volume des chondrocytes est sous l'influence de la voie de signalisation des protéines de la morphogénèse osseuse (Bone Morphogenetic Proteins ; BMPs), dont fait partie GDF5/CDMP1.
- La cinquième étape est l'invasion du cartilage par les vaisseaux sanguins au niveau du centre de la formation. Les chondrocytes vont ensuite mourir par apoptose et être remplacés par les ostéoblastes en périphérie et l'espace interne des os longs va se transformer en moelle osseuse (3,4).

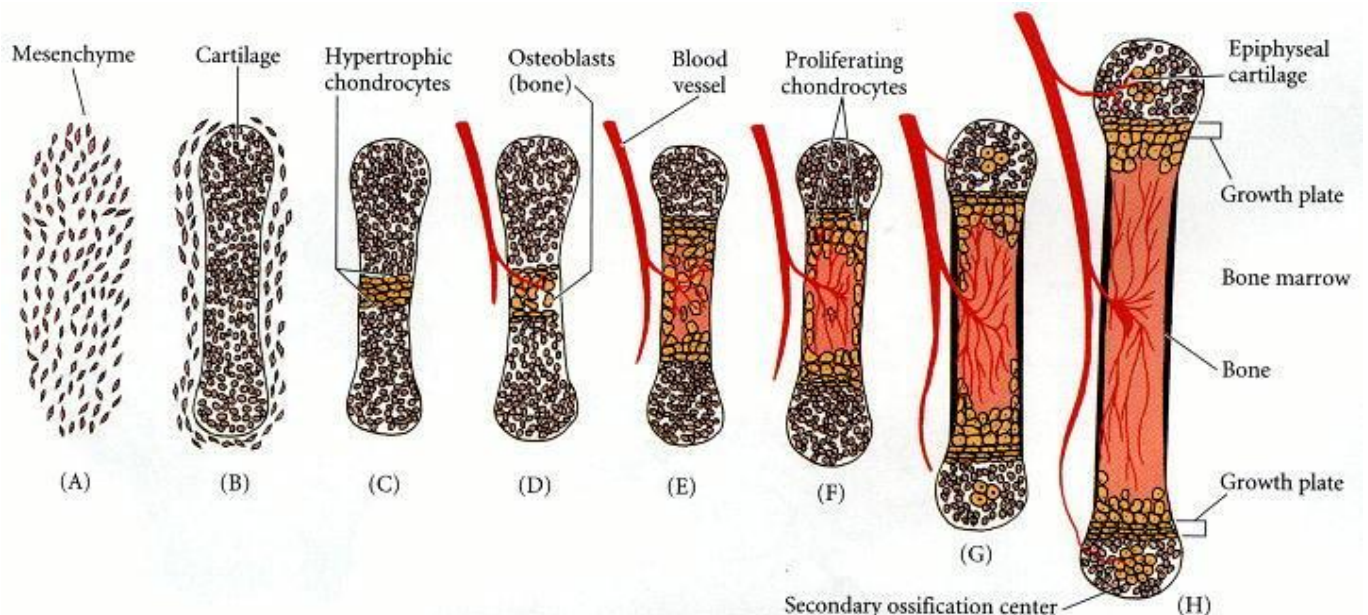


Figure 5 : Schéma représentant la formation des os longs d'après (3).

3 Développement articulaire

Le rôle de l'articulation est de permettre le mouvement entre deux structures osseuses adjacentes. Elle a également un rôle dans l'amortissement et la transmission des charges biomécaniques lors du mouvement. Les articulations sont classées en trois catégories selon le mouvement qu'elles permettent :

- Les synarthroses : ne permettent pas de mouvement, les os sont presque en contact et séparés par une fine membrane de tissu conjonctif (sutures crâniennes)
- Les amphiarthroses : surfaces osseuses contigus, séparées par des disques fibrocartilagineux plats ne permettant qu'un mouvement limité (vertèbres, symphyse pubienne)
- Les diarthroses : permettent un mouvement libre entre les surfaces osseuses. La cavité articulaire est tapissée par une membrane synoviale. Elles peuvent parfois posséder des ménisques ou des ligaments (articulations des membres) (5,6).

Nous étudierons par la suite les étapes du développement de l'articulation synoviale.

3.1 Formation de l'interzone articulaire

L'initiation de la formation de l'articulation est sous le contrôle de la protéine Wnt14 (ou Wnt9a) qui est à l'origine de la formation d'une bande articulaire par condensation et aplatissement des cellules mésenchymateuses, appelée également condensation préchondrogénique. Wnt14 induit l'expression du gène *Gdf5* très précocement, 24 à 36h avant la formation de l'interzone articulaire. Son expression va augmenter progressivement de même que celle des gènes codant les autres protéines

spécifiques de l'interzone (Gdf6, Gdf7, Col1, Col3) et cela va entraîner l'inhibition de l'expression des protéines chondrocytaires (Sox9, Col2a1, Col9, Aggrecan).

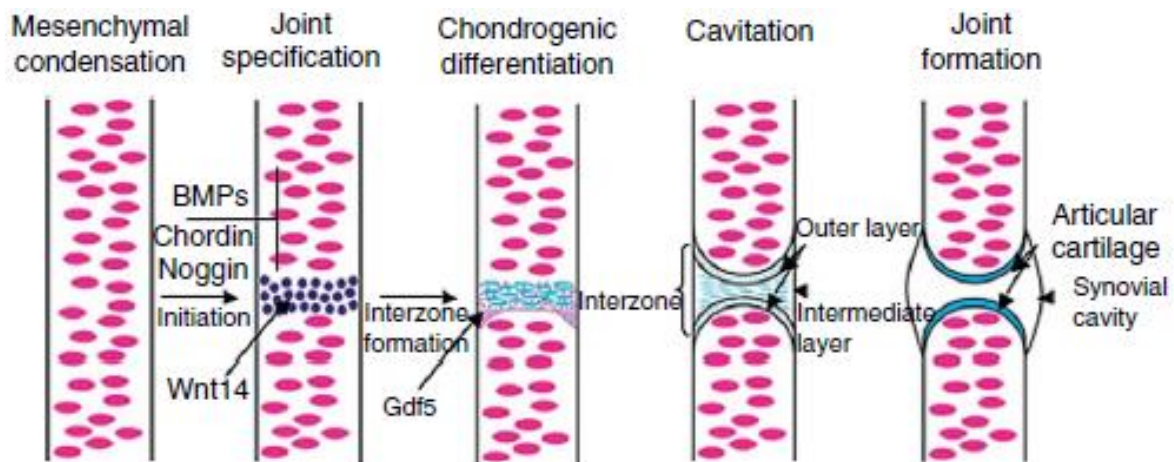


Figure 6 : Schéma représentant la formation de l'articulation synoviale d'après (5).

3.2 Cavitation

L'interzone va ensuite évoluer vers un espace articulaire rempli de liquide, séparant deux éléments squelettiques adjacents, c'est la cavitation. Ce processus est initié par les *stimuli* mécaniques induits par les mouvements embryonnaires. En effet, en l'absence de mouvement, on observe une fusion des surfaces articulaires. Le rôle du mouvement dans la formation de l'articulation n'est pas encore totalement élucidé mais il pourrait être à l'origine d'une croissance différentielle des éléments de la surface articulaire soit en endommageant les tissus, soit en altérant la composition de la matrice extra-cellulaire au niveau de la bande articulaire (7).

Les stimulations mécaniques favorisent la sécrétion d'une enzyme appelée Uridine Diphosphoglucose Déshydrogénase (UDPGD). Cette enzyme joue un rôle dans la maturation de l'acide hyaluronique (HA), qui est un glycosaminoglycane non sulfaté. C'est la molécule majeure à l'origine du processus de cavitation. Les molécules d'HA vont se lier à leur récepteur cellulaire, la protéine CD44 ou HA Binding Protein (HABP),

ce qui va être à l'origine de la séparation des cellules et former ainsi la cavité articulaire (8,9).

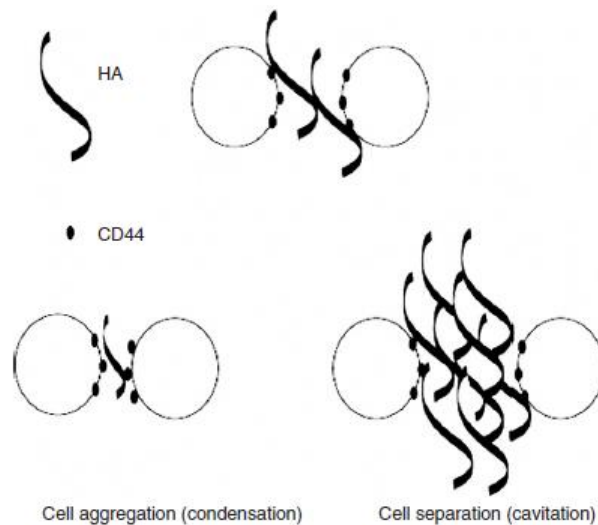


Figure 7 : Schéma représentant le processus moléculaire à l'origine de la cavitation d'après (10).

II Formation des membres

Le développement des membres résulte de processus finement régulés au niveau temporo-spatial où interviennent de nombreux facteurs de transcription et éléments régulateurs permettant la mise en place correcte des membres supérieurs et inférieurs. L'apparition du bourgeon des membres a lieu à partir de J26-J28, sous l'influence principale du gène *TBX5* pour le membre supérieur et J28-J30, sous l'influence des gènes *TBX4* et *PITX1* pour le membre inférieur (11,12).

Le bourgeon du membre est initialement composé de cellules mésenchymateuses homogènes recouvertes de cellules ectodermiques. Les cellules vont ensuite proliférer et se différencier en plusieurs types cellulaires à l'origine du membre final. Ce processus est contrôlé selon 3 axes :

- L'axe proximo-distal (de l'épaule aux doigts et de la hanche aux orteils). La croissance selon cet axe est gouvernée par la crête apicale ectodermique (Apical Ectodermal Ridge, AER) (13).

- L'axe antéro-postérieur (du pouce à l'auriculaire) contrôlé par la zone d'activité polarisante (Zone of Polarizing Activity, ZPA) (14).
- L'axe dorso-ventral (du dos de la main vers la paume ou du pied vers la plante) régulé par l'ectoderme dorsal (15).

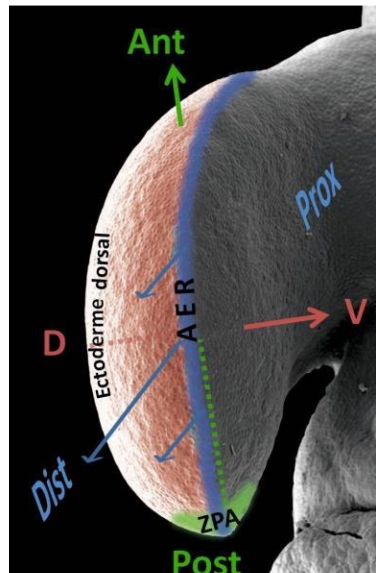


Figure 8 : Représentation des 3 axes de polarisation du bourgeon du membre.
D'après (16), modifié par le Pr PETIT, thèse d'université le 04/12/2014.

Les gènes jouant un rôle essentiel pour la morphogénèse des membres sont les gènes *HOX*. Ce sont des gènes homéotiques répartis en 4 clusters, *HOX A*, *HOX B*, *HOX C* et *HOX D* sur différents chromosomes (7, 12, 17 et 2 chez l'Homme). Ces gènes participent à l'identité des différents segments morphologiques spécifiques de chaque partie du corps le long de l'axe antéro-postérieur, c'est-à-dire que les gènes exprimés en 3' sont exprimés précocement au niveau des régions antérieures et proximales du corps et les gènes situés en 5' sont exprimés plus tardivement dans les régions distales et caudales de l'embryon. Ces gènes sont les architectes à l'origine du plan d'organisation correcte des membres (17).

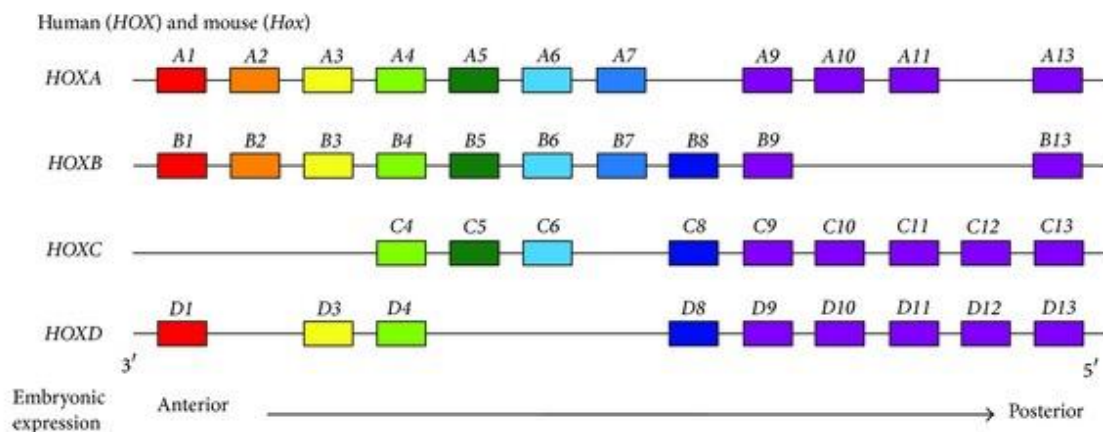


Figure 9 : Schéma de l'organisation des gènes HOX en cluster d'après (17).

III Développement dentaire

Le développement embryonnaire dentaire résulte de l'interaction entre épithélium et mésenchyme. Il est divisé en 4 étapes :

- Le bourgeon dentaire débute vers 6 semaines de grossesse, il correspond à la multiplication de cellules épithéliales au sommet du mésenchyme qui formera la future mâchoire ou lame dentaire.
- Il est suivi par le stade de la cupule qui marque le début de l'agencement des cellules du bourgeon dentaire. Un groupe de cellules mésenchymateuses va former la papille dentaire, qui produira la dentine et la pulpe dentaire. Le bourgeon dentaire va s'organiser autour de la papille et prendre la forme d'une cupule, et produira par la suite l'émail pour devenir l'organe de l'émail. Un autre groupe de cellules mésenchymateuses va s'agglomérer autour des structures précédentes et former le follicule dentaire qui produira le parodonte, la structure de soutien de la dent. Le parodonte est composé du cément, du ligament parodontal ou desmodonte, de la gencive et de l'os alvéolaire.

- Le stade de la cloche correspond à la différenciation histologique et morphologique des cellules dentaires embryonnaires. Son nom provient de la modification de la morphologie de l'organe de l'émail qui prend une forme de cloche. Durant cette période, la lame dentaire, qui relie la dent à l'épithélium buccal, se désintègre, séparant les dents en développement de l'épithélium buccal.
- Le dernier stade correspond au stade de la couronne, durant lequel les tissus minéralisés, émail et dentine, vont se former. Les cellules superficielles de la papille dentaire vont augmenter de volume et se différencier en odontoblastes afin de sécréter la dentine. Durant ce processus, elles vont être repoussées vers le centre de la papille. Secondairement, l'épithélium dentaire interne de l'organe de l'émail va se différencier en améloblastes. Lorsque les améloblastes seront au contact de la dentine elles vont produire une matrice organique qui formera l'émail (18,19).

Toutes ces étapes sont essentielles afin d'obtenir une maturation dentaire correcte.

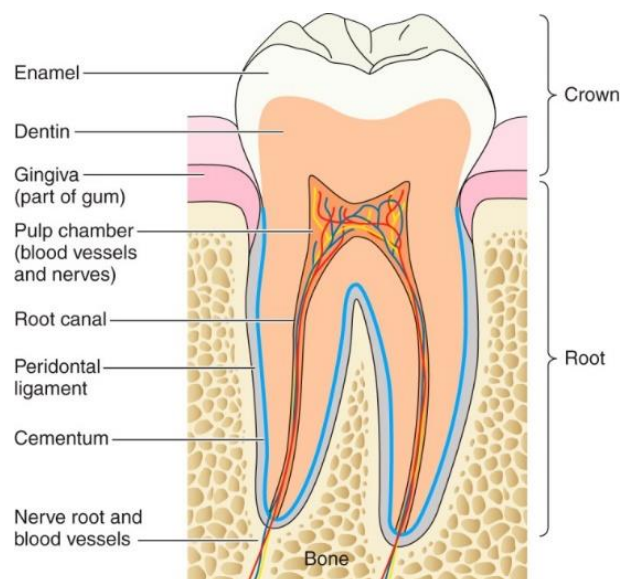


Figure 10 : Schéma de l'anatomie de la dent, d'après (19).

IV GDF5

Nous allons décrire le gène *GDF5*, la protéine GDF5/CDMP1, sa structure, son mécanisme d'action et les voies de signalisation dans lesquelles elle est impliquée, le territoire d'expression et les rôles de CDMP1/GDF5. Nous terminerons en décrivant les éléments régulateurs du gène de découverte plus récente, ainsi que les différents modèles animaux qui ont été utilisés pour mettre en évidence ces découvertes.

1 Gène *GDF5*

GDF5 est situé sur le bras long du chromosome 20 en position 20q11.22 à la position GRCh38 (chr20:35,433,347 - 35,454,749). Il est à l'origine de différents transcrits d'ARN messagers dont un majoritaire au niveau des membres (NM_000557.4) d'une longueur de 2368 paires de bases et qui contient 2 exons codants et 2 exons non-codants.

```
ATGAGACTCCCCAACTCCTCACTTTCTTGCTTTGGTACCTGGCTTGGCTGGACCTGGAA
TTCATCTGCACTGTGTTGGGTGCCCTGACTTGGGCCAGAGACCCAGGGGACCAGGCCA
GGATTGGCCAAAGCAGAGGCCAAGGAGAGGCCCCCCCTGGCCCGGAACGTCTTCAGGCCA
GGGGGTACAGCTATGGTGGGGGGGCCACCAATGCCAATGCCAGGGCAAAGGGAGGCACC
GGGCAGACAGGAGGCCTGACACAGCCCAAGAAGGATGAACCCAAAAAGCTGCCCCCAGA
CCGGGCGGCCCTGAACCCAAGCCAGGACACCCTCCCCAAACAAGGCAGGCTACAGCCCGG
ACTGTGACCCCAAAGGACAGCTTCCCGGAGGCAAGGCACCCCAAAGCAGGATCTGTC
CCCAGCTCCTTCTGCTGAAGAAGGCCAGGGAGCCCGGGCCCCCACGAGAGCCCAAGGAG
CCGTTTCGCCCACCCCCCATCACACCCACGAGTACATGCTCTCGCTGTACAGGACGCTG
TCCGATGCTGACAGAAAGGGAGGCAACAGCAGCGTGAAGTTGGAGGCTGGCCTGGCCAAC
ACCATCACCAGCTTTATTGACAAAGGGCAAGATGACCGAGGTCCCGTGGTCAGGAAGCAG
AGGTACGTGTTTGACATTAGTGCCCTGGAGAAGGATGGGCTGCTGGGGGCCGAGCTGCGG
ATCTTGCGGAAGAAGCCCTCGGACACGGCCAAGCCAGCGGCCCGGAGGCCGGCGGGCT
GCCCCAGCTGAAGCTGTCCAGCTGCCCCAGCGCGCCGAGCCGGCCGCCTTGCTGGATGTG
CGCTCCGTGCCAGGCCTGGACGGATCTGGCTGGGAGGTGTTGACATCTGGAAGCTCTTC
CGAAACTTTAAGAACTCGGCCAGCTGTGCCTGGAGCTGGAGGCCTGGGAACGGGGCAGG
GCCGTGGACCTCCGTGGCCTGGGCTTCGACCGCGCCGCCCGGCAGGTCCACGAGAAAGCC
CTGTTCTGGTGTGTTGGCCGCACCAAGAAACGGGACCTGTTCTTTAATGAGATTAAGGCC
CGCTCTGGCCAGGACGATAAGACCGTGTATGAGTACCTGTTAGCCAGCGGGCGAAAACGG
CGGGCCCACTGGCCACTCGCCAGGGCAAGCGACCCAGCAAGAACCTTAAGGCTCGCTGC
AGTCGGAAGGCACTGCATGTCAACTTCAAGGACATGGGCTGGGACGACTGGATCATCGCA
CCCCCTGAGTACGAGGCTTCCACTGCGAGGGGCTGTGCGAGTTCCTATTGCGCTCCAC
CTGGAGCCACGAATCATGCAGTCATCCAGACCCTGATGAACTCCATGGACCCCGAGTCC
ACACCACCCACCTGCTGTGTGCCACGCGGCTGAGTCCCATCAGCATCCTCTTCATTGAC
TCTGCCAACCAACGTGGTGTATAAGCAGTATGAGGACATGGTCTGGAGTCTGTGGCTGC
AGG
```

Figure 11 : Séquence codante de l'ARNm du gène *GDF5*.
En vert peptide signal ; en rose site de clivage ; en bleu la protéine mature.

2 Protéine GDF5/CDMP1

2.1 Structure

La superfamille des Transcription Growth Factor β (TGF β) contient 33 membres chez les mammifères incluant Nodal, les Activines, les Inhibines, les BMPs. Les BMPs contiennent différents sous-groupes selon leur structure protéique relativement similaire : les BMP 2-4 ; les BMP 5-6-7 (OP-1-8) ; les BMP 9-10 ; ainsi que les protéines GDF5(BMP14)-GDF6(BMP13)-GDF7(BMP12), qui ont 83% d'homologie entre elles et 46 à 57% avec les autres BMPs.

GDF5 code une protéine de 501 acides aminés (AA) aussi connue sous le nom de Cartilage-Derived Morphogenetic Protein type 1 (CDMP1), qui fait partie de la superfamille des TGF β , dans le groupe des BMPs. GDF5/CDMP1 est d'abord synthétisée sous la forme d'un précurseur de 501 AA incluant un peptide signal N-terminal de 27AA et un site de clivage polybasique en position 377-382 : Arginine-Arginine-Lysine-Arginine-Arginine (RRKRR). Le prodomaine est constitué de 354AA avec un unique site de glycosylation contenant un N de liaison en position 189 et un site de liaison potentiel à l'héparine (239LRILRKKP246). La protéine mature contient 117AA dont 7 cystéines très conservées en C-terminal, 6 d'entre-elles permettent, à l'aide de ponts disulfures, de créer une structure 3D caractéristique la « cystéine knot structure » permettant la conformation de la protéine. GDF5/CDMP1 est maturée puis se dimérise au niveau du compartiment intracellulaire en homo ou hétéro-dimère grâce à la 4^{ème} cystéine en position 465 qui permet la liaison à d'autres protéines BMPs par formation d'un pont disulfure. Il y a ensuite une protéolyse au niveau du site de clivage puis sécrétion au niveau du compartiment extra-cellulaire lui permettant de se lier à ses récepteurs et d'activer ses différentes voies de signalisation (20–22).

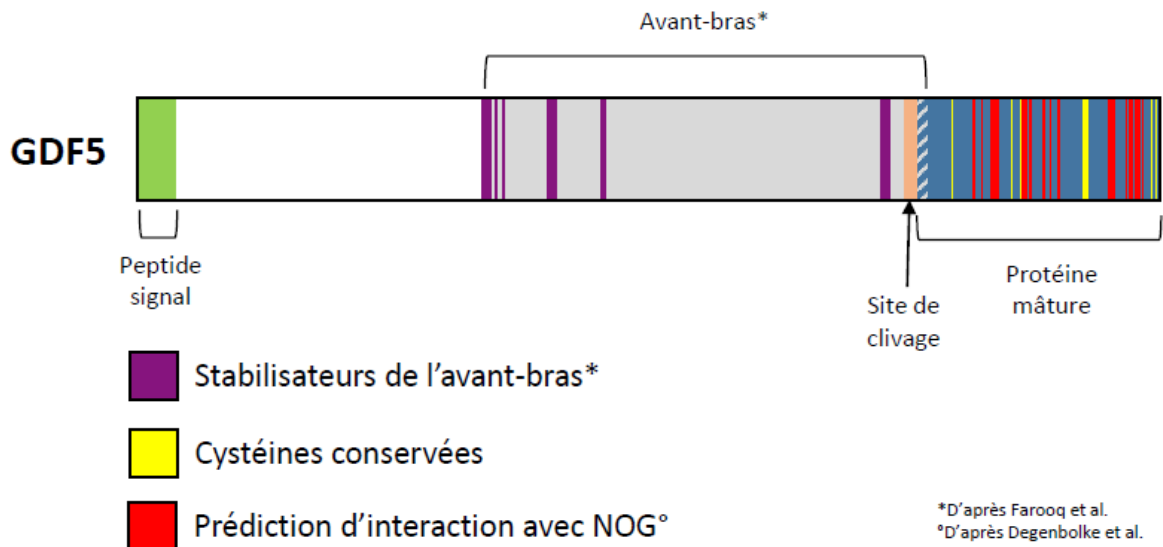


Figure 12 : Schéma représentant la pro-protéine GDF5 avec les différents sites impliqués dans les interactions de la protéine.

En vert : peptide signal. En gris : avant-bras ou LAP. En violet : sites prédits comme stabilisateurs de l'avant-bras d'après (23). En rose le site de clivage RRKRR. En bleu : protéine mature. En rouge : prédiction des sites de fixation à son inhibiteur NOG à l'aide du complexe BMP7:NOG (PDB 1m4u) de la base de données Protein Data Bank, d'après (24). En jaune : cystéines conservées.

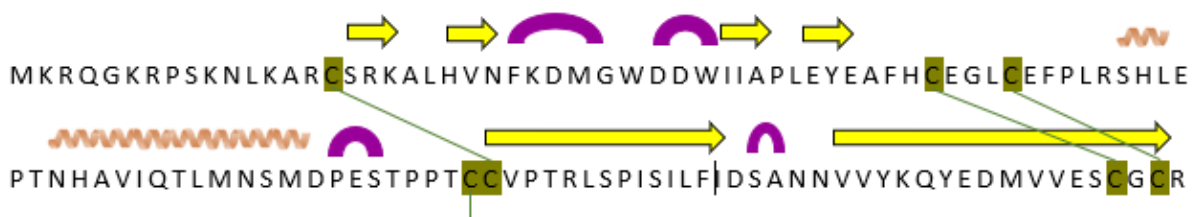


Figure 13 : Séquence de la protéine mature GDF5 d'après Protein Data Bank.

Feuillet plissé β représenté par des flèches jaunes. Hélice α représentée par une hélice rose. Boucle représentée par des courbes violettes. Les cystéines ont été surlignées en vert et leurs ponts disulfure ont été représentés par des traits verts.

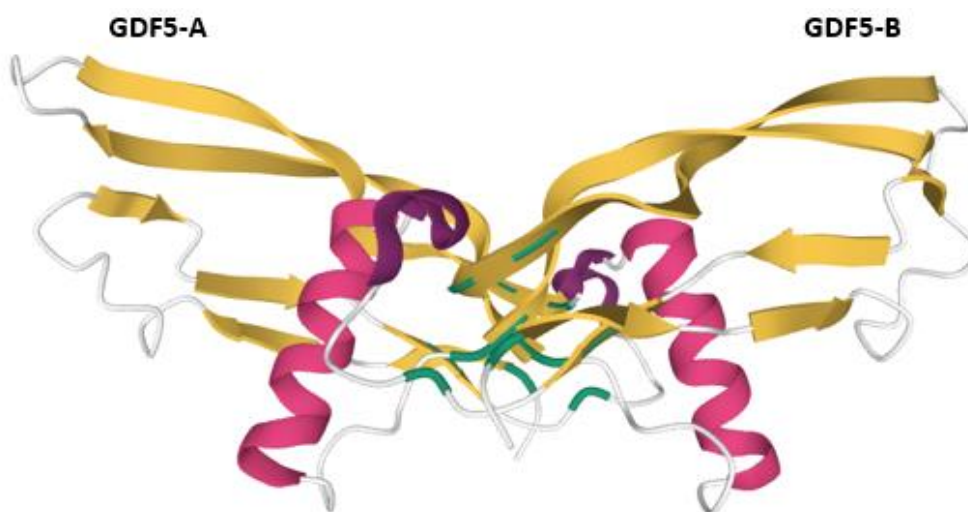


Figure 14 : Représentation de la structure tridimensionnelle d'un dimère de protéine GDF5 actif d'après Protein Data Bank.

Feuillet plissé β représenté par des flèches jaunes. Hélice α représentée par une hélice rose. Boucle représentée par des courbes violettes. Ponts disulfures représentés par des traits verts.

2.2 Maturation protéique et régulation extra-cellulaire

Les structures secondaires au sein de la famille des TGF β sont relativement conservées expliquant la relative similarité entre les 33 membres de la famille ce qui permet de supposer un mécanisme commun de maturation et de régulation (25).

Le mécanisme suivant a été décrit pour les protéines de la famille TGF β donc nous pouvons penser qu'il a également lieu avec la protéine GDF5/CDMP1.

Lors de la synthèse, le domaine mature de la protéine TGF β reste lié à son prodomaine par liaison non-covalente, afin de maintenir la protéine dans une conformation adéquate pour sa dimérisation. TGF β va ensuite être clivée par des proprotéines convertases subtilisine-like mais reste liée à son prodomaine appelé LAP (Latency Associated Protein). L'ensemble LAP + TGF β est nommé Small Latent Complex (SLC). Le LAP va se lier aux protéines LTBP (Latent Transforming growth factor β Binding Protein) grâce à un pont disulfure afin de former le Large Latent Complexe (LLC), qui est essentiel pour la sécrétion de la protéine.

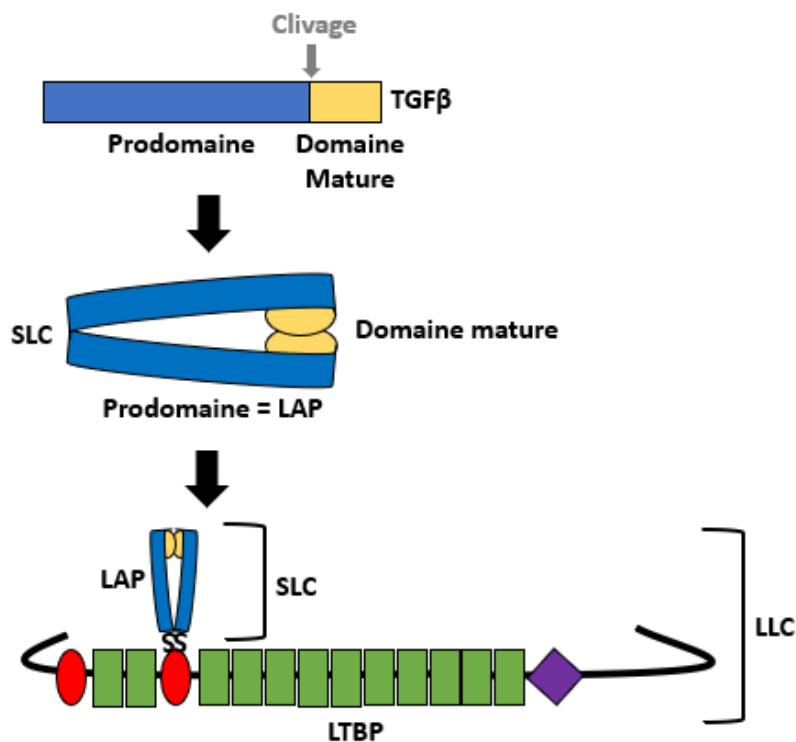


Figure 17 : Schéma représentant les étapes de formation du complexe LLC.

Une fois sécrété au niveau de la matrice extracellulaire, le LLC permet, par l'intermédiaire de LTBP1 ou 2, de se lier aux fibrillines 1 et ainsi être connecté à la matrice fibreuse extracellulaire. Cette liaison permet de garder les protéines TGF β sous forme latente et les empêche de se lier à leurs récepteurs tant qu'elles sont associées au complexe. Ce complexe joue un rôle de réservoir de cytokines pouvant passer sous forme circulante active après clivage par des métalloprotéinases (26–29). L'interaction de GDF5/CDMP1 avec les protéines LTBP a été démontrée par la découverte d'une variation délétère au niveau du prodomaine de GDF5. Cette variation faux-sens est responsable d'un effet dominant négatif par perturbation de la dimérisation des protéines GDF5 après clivage du prodomaine. Le dimère protéine mutée/sauvage empêche la liaison de l'hétérodimère aux protéines LTBP et est responsable d'une absence de sécrétion de la protéine GDF5/CDMP1 (23).

La partie du prodomaine de la protéine impliquée dans l'exportation de la protéine mature GDF5 est aussi appelée avant-bras (forearm).

L'interaction entre GDF5/CDMP1 et les protéines LTBP se modifie au cours du développement car LTBP1 est surtout actif dans la phase précoce de condensation cartilagineuse alors que LTBP2 est surtout actif dans la phase tardive du développement articulaire des doigts (30).

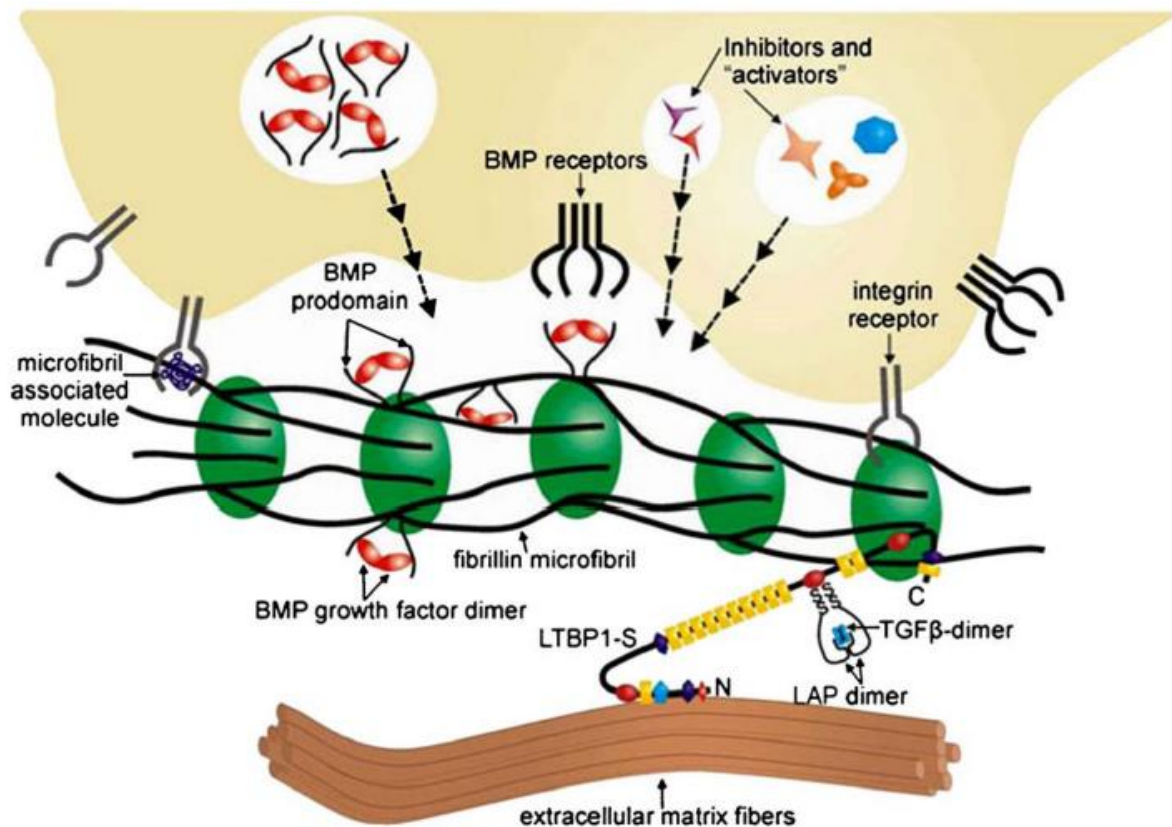


Figure 18 : Schéma représentant l'interaction extracellulaire des protéines TGFβ d'après (28).

2.3 Voie de signalisation

Une fois la protéine GDF5/CDMP1 sous forme de dimère circulant, elle se lie aux récepteurs serine/thréonine kinase membranaires de type I et II afin d'activer les voies de signalisation intracellulaires dépendante ou indépendante de SMAD (31).

2.3.1 Voie dépendante de SMAD

GDF5/CDMP1 se lie spécifiquement aux récepteurs de type I : BMPR1B (ALK6) et, avec une très faible affinité, BMPR1A (ALK3) afin d'activer la voie dépendante de SMAD. C'est une Arginine en position 57 qui est responsable de la forte affinité de GDF5/CDMP1 pour BMPR1B contrairement à la protéine BMP2 qui a une affinité pour les 2 types de récepteurs (32).

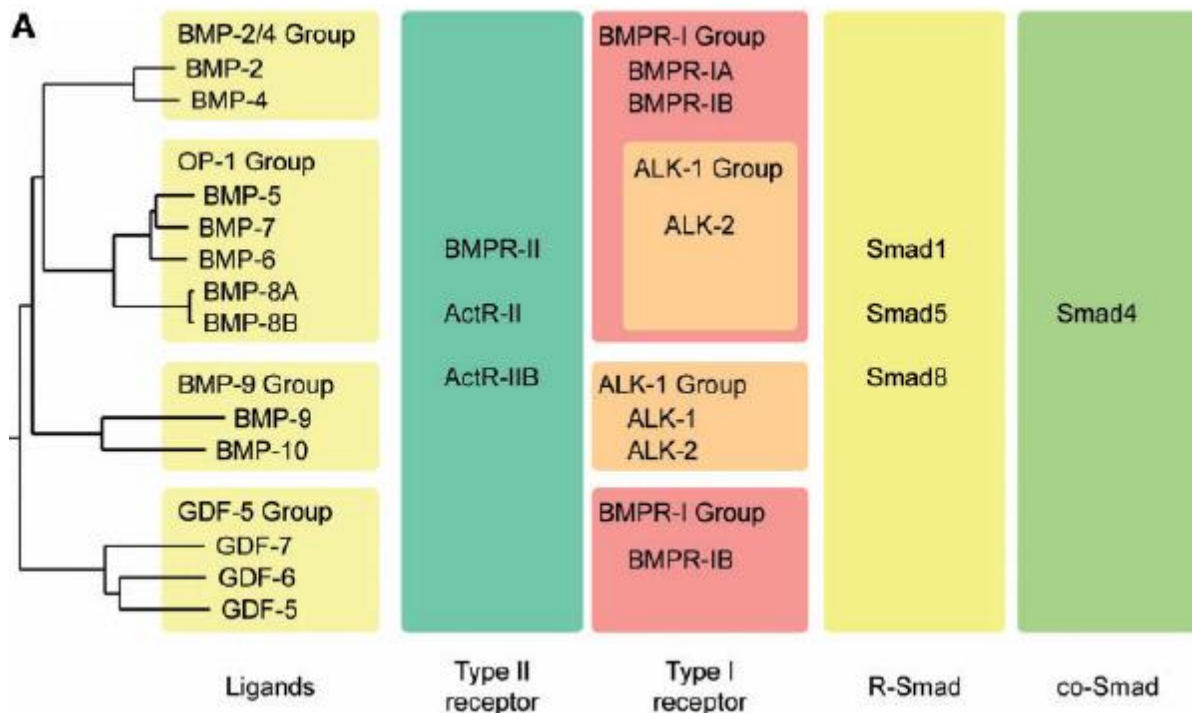


Figure 15 : Classification des différentes familles de protéines BMP et leurs récepteurs d'après (33).

En présence de ligand, les récepteurs de type I et II s'oligomérisent en homo ou hétérodimères afin de former un complexe préformé (PFC). Une fois sécrété et dimérisé en homo ou hétérodimère, GDF5 se lie au PFC. Les récepteurs de type II vont ensuite phosphoryler les récepteurs de type I au niveau d'un domaine riche en glycine et serine (GS domain) localisé en N-terminal du domaine sérine/thréonine kinase. Une fois activés, les récepteurs de type I vont phosphoryler les récepteurs SMAD 1/5/8 aussi connus sous le nom de R-SMAD. Les R-SMAD vont se lier à SMAD4, appelé également co-SMAD, ce qui permet leur translocation dans le noyau et assure la régulation de gènes cibles *via* des facteurs de transcription, des co-activateurs et des co-répresseurs (33–37).

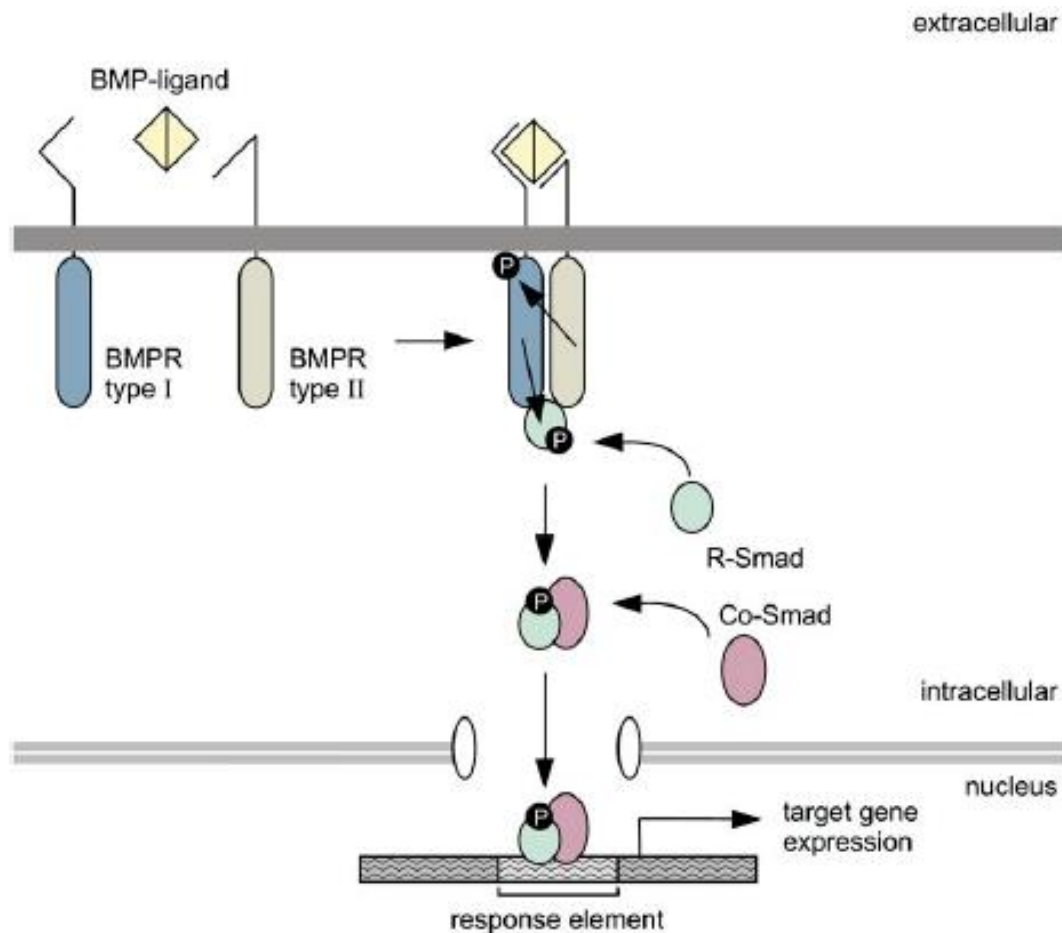


Figure 16 : Représentation de la voie de signalisation dépendante de SMAD des protéines BMP d'après (38).

2.3.2 Voie indépendante de SMAD

GDF5/CDMP1 peut également activer différentes voies de signalisation indépendantes de SMAD, non spécifiques des BMP, comme la voie mitogen-activated protein kinase (MAPK) p38 ou la voie Extracellular signal-Regulated Kinase (ERK) 1/2 dont le rôle est surtout lié à la prolifération et la différenciation ou l'apoptose (33,37,39).

2.4 Inhibition de GDF5

L'activité de GDF5/CDMP1 est inhibée par un antagoniste des BMP appelé NOGGIN qui masque le site de liaison aux récepteurs par une interaction directe protéine-protéine et empêche sa fixation aux récepteurs de type I et II (33).

GDF5 peut exercer lui-même un rôle d'antagoniste de BMP2 dépendant du type cellulaire. En effet, ce phénomène a été observé dans des cellules myoblastiques murines (C2C12) mais n'a pas été observé dans des cellules de tératocarcinome murin (ATCD5). Les cellules ATCD5 semblent être un modèle très représentatif de la maturation osseuse et cartilagineuse ce qui laisse supposer que ce mécanisme n'a pas lieu durant la chondrogénèse (40). Le mécanisme à l'origine de ce phénomène est encore peu connu, probablement en lien avec un co-récepteur (41).

3 Territoires d'expression et rôles de GDF5/CDMP1

3.1 Expression et rôles au niveau ostéoarticulaire

GDF5 est principalement exprimé dans les tissus osseux et cartilagineux durant la période embryonnaire mais persiste à un niveau plus faible et de manière plus ubiquitaire tout au long de la vie.

Durant la formation de l'interzone articulaire, *Gdf5* est exprimé au centre de la condensation préchondrogénique où il favorise la différenciation chondrocytaire et l'augmentation de volume des cellules ce qui conditionnera la taille de la future articulation. Son expression va ensuite être diminuée par l'intermédiaire de son inhibiteur Noggin pour se localiser au niveau des bordures de l'interzone articulaire avant et durant la phase de cavitation. *Gdf5* joue alors un rôle dans la prolifération chondrocytaire afin de favoriser la croissance du segment osseux sous-jacent (4,5,7,10,42,43).

Gdf5 ne participe pas à l'étape de cavitation mécano-dépendante car son expression n'est que très modérément diminuée par la stimulation mécanique. Cependant, il exerce un rôle d'inhibiteur de l'aide hyaluronique (HA) au niveau de la bordure de l'interzone articulaire, afin de délimiter dans l'espace la phase de cavitation (9,44).

Plus récemment, des études ont montré que *Gdf5* avait également un rôle au niveau du maintien de l'articulation mature, par l'intermédiaire d'une activation de *Sox11* (45). De plus, *Gdf5* semble avoir un rôle dans la réparation cartilagineuse. Il a été démontré une augmentation de l'expression de *Gdf5* dans des modèles murins d'arthrose, ainsi que dans du cartilage humain arthrosique. Son expression est également augmentée après un traumatisme articulaire aigu chez des souris. Ce processus de réparation implique les séquences régulatrices d'aval du gène et l'expression de *Gdf5* est inversement proportionnelle à celle du co-facteur de transcription Yes-associated protein (YAP) (46).

Par ailleurs, une étude suppose que le gradient d'expression de *GDF5* au niveau du bourgeon des membres est à l'origine de l'induction de l'expression de *TBX3* (47).

3.2 Expression et rôles au niveau dentaire

Le rôle de *GDF5* au cours de la formation dentaire demeure encore incertain, cependant de récentes études semblent préciser son implication.

L'expression de *GDF5* a été initialement détectée durant le développement de la racine dentaire au niveau du ciment, du ligament parodontal, de l'os alvéolaire et des odontoblastes (48).

Gdf5 est exprimé dans le tissu parodontal en développement chez le rat, dans les cellules du ligament parodontal ainsi que dans les cellules à proximité de l'os alvéolaire et du ciment durant la formation de la racine. Son expression est très limitée dans le temps et elle diminue lors de la terminaison de la formation de la racine (49).

Le rôle de *GDF5* a été confirmé par de nombreuses études chez l'animal montrant que l'administration de *GDF5* humain recombinant (rhGDF5) favorise la régénération parodontale. Un rôle similaire a été démontré sur des cellules humaines *in vitro*,

cependant, une étude clinique plus récente n'a pas montré de différence significative sur la régénération du parodonte chez l'Homme (50–55).

Une étude récente a évoqué un possible rôle de GDF5 durant l'amélogénèse, supposant qu'une partie du signal détecté durant la formation racinaire ne serait finalement que le reflet de son action au niveau de la phase tardive de l'amélogénèse. Il a été constaté chez les souris porteuses d'une variation de *Gdf5*, connue pour être responsable de synostoses multiples chez l'Homme (W408R, N445T), une augmentation de la formation de l'émail et une activation de la phosphorylation de Smad 1/5/8. Plusieurs hypothèses restent à confirmer pour expliquer cette observation mais il semblerait que la stimulation de la voie de signalisation de *BMP2* soit en cause, soit par perte d'antagonisme de NOGGIN, soit par perte de spécificité de *GDF5* pour BMPR-I (56).

3.3 Expression et rôles au niveau du système nerveux central

Bien que peu étudiée pour le moment, la protéine GDF5 semble avoir un rôle au niveau du système nerveux central (SNC). Elle semble favoriser la croissance et la ramification axonale sympathique durant la phase de développement post-natal du SNC. Elle a également montré son rôle dans la survie des neurones dopaminergiques au sein des noyaux gris centraux.

Cette découverte met en lumière des éventuelles perspectives thérapeutiques de la protéine rhGDF5 dans la maladie de Parkinson (57,58).

4 Eléments régulateurs de *GDF5*

Les aires d'activité de *GDF5* au cours du développement embryonnaire sont relativement bien conservées chez la souris, le poulet et l'Homme ce qui a permis d'en identifier les éléments régulateurs (59–61).

Le site d'initiation de la transcription ainsi que le promoteur de *GDF5* ont été identifiés peu de temps après le séquençage du gène. Le promoteur minimal est situé à proximité immédiate du site d'initiation et a une taille de 108pb. Il est activé par un facteur de transcription en doigt de zinc YY1.

Récemment, différents enhancers de *GDF5* ont été mis en évidence en amont et en aval du gène (62,63).

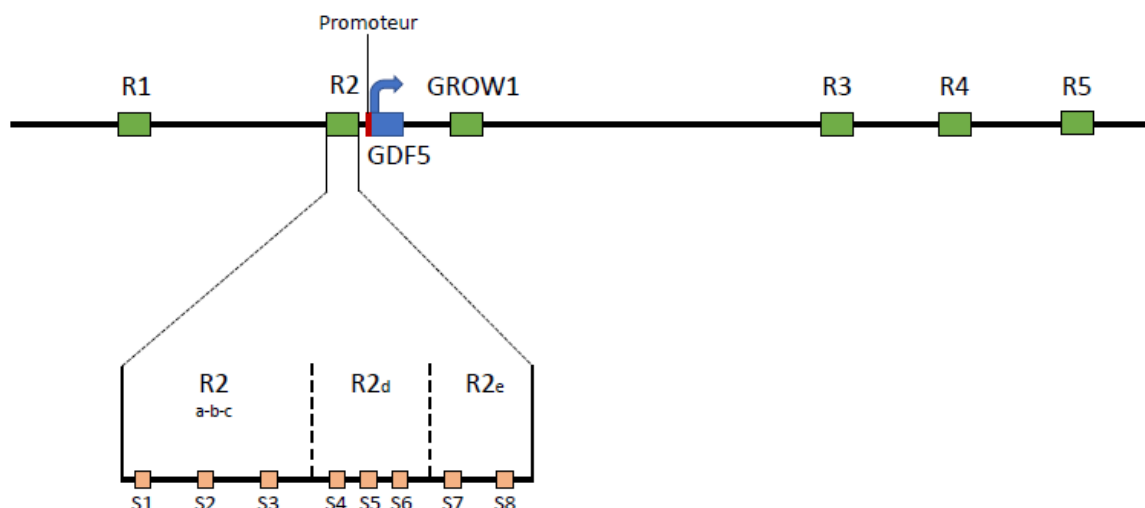


Figure 20 : Schéma représentant les différents éléments cis-régulateurs de *GDF5* identifiés.

En amont :

- Une première région de 754 pb, dénommée R1, située 5 kb avant le gène, en contrôle l'activité principalement au niveau du squelette axial, en particulier au niveau des côtes, de la colonne vertébrale, de la tête et de la mâchoire. Son activité est également retrouvée au niveau de l'espace interdigital antérieur des pattes avant et arrière.

- Une deuxième région de 802 pb, dénommée R2, située à proximité immédiate du promoteur de *GDF5*, contrôle son activité au niveau des articulations proximales des épaules, des coudes, des hanches et des genoux. Par ailleurs, son activité est très faible au niveau des doigts et absente au niveau de l'articulation huméro-ulnaire.

Afin de préciser le mécanisme de cet enhancer, les auteurs ont montré que la partie d'aval de R2, appelé R2d+e était très conservée au cours de l'évolution et était suffisante pour exprimer *GDF5* au niveau des régions précédemment citées. R2d est exprimé uniquement au niveau des hanches et des genoux alors que R2e est exprimé uniquement au niveau des épaules et des coudes.

Les auteurs ont également identifié des sites de fixation au facteur de transcription BARX2 au niveau des enhancers R2d et R2e. La fixation de BARX2 sur un site nommé S6 au niveau de R2d active l'activité de *GDF5* au niveau des genoux. La fixation de BARX2 sur des sites nommés S7 et S8 au niveau de R2e permet son activité au niveau des épaules.

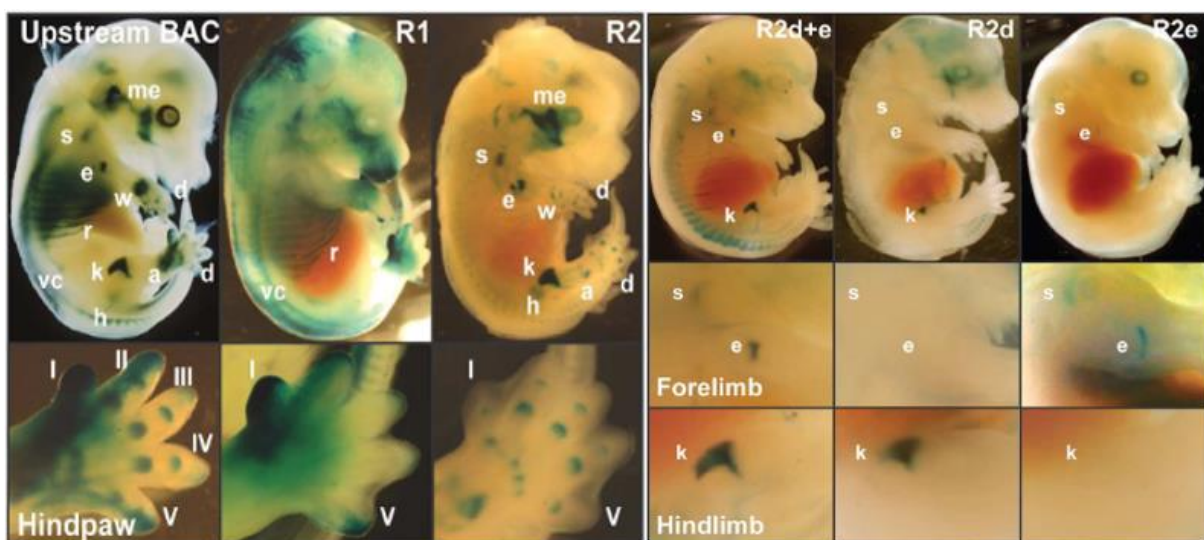


Figure 21 : Territoires d'activité de R1 et R2, d'après (63).

En aval :

- Une région de 586 pb, dénommée R3, située en +71 kb en aval du gène, est exprimée au niveau des espaces interdigitaux et plus modérément au niveau d'une bande digitale transverse, des coudes et des genoux.
- Une région de 975 pb, dénommée R4, située à +81 kb en aval, est exprimée au niveau des articulations des coudes, des genoux et des articulations interphalangiennes. Son activité est plus modérée au niveau des épaules et des hanches.
- Une autre région de 337 pb, dénommée R5, située à +98kb du gène, est exprimée au niveau des phalanges en développement et modérément au niveau des coudes et genoux.

R3 et R4 pourraient avoir un rôle répresseur sur l'activité de R5 au niveau des doigts. Les auteurs émettent l'hypothèse d'une régulation à l'aide d'un élément trans-régulateur inconnu à ce jour.

Enfin, une région de 2,5 kb, située à +45kb du gène, nommée GROW1 est exprimée au niveau de la zone de croissance des os longs. Elle expliquerait le rôle de GDF5 au niveau de la croissance des os longs (64).

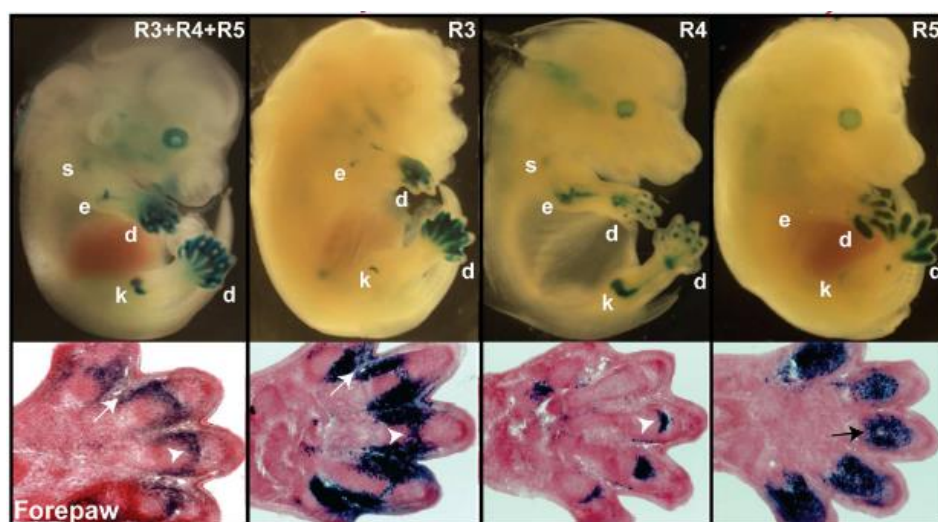


Figure 22 : Territoires d'activité de R3, R4, R5, d'après (63).

5 Modèles animaux

De nombreux modèles animaux ont été développés au fil des années afin de mieux cerner le rôle et les territoires d'expression de *GDF5*.

La protéine homologue de Gdf5 chez le zebrafish est appelée « Contact ». Elle est impliquée initialement dans la croissance cartilagineuse et la différenciation du mésenchyme condensé au niveau des nageoires dorsales, anales et caudales. Plus tard, Contact est exprimé au niveau de la segmentation des nageoires radiales dorsales et anales (65).

Chez le poulet, l'administration de Gdf5 a confirmé son rôle dans la croissance et la différenciation des cartilages épiphysaires des doigts sans induire la formation d'articulation synoviale. Son rôle semble relativement similaire à celui observé chez l'Homme ce qui fait du poulet un bon modèle d'étude (60).

Chez la souris, un modèle d'étude spontané appelé « brachypodisme » est porteur de variations délétères inactivatrices bi-alléliques de *Gdf5*. Elle présente un raccourcissement des 4 membres, prédominant au niveau de la *fibula*, sans atteinte du squelette axial. On remarque une fusion des phalanges proximales et médianes, des anomalies de nombre des phalanges ainsi que des fusions du carpe et du tarse. La condensation mésenchymateuse est présente chez ces souris et identique à celle des souris sauvages, alors que la formation de l'interzone n'a pas lieu.

Ces différentes observations ont permis de mieux cerner les mécanismes fondamentaux de la formation articulaire et renforce le poids de la protéine GDF5/CDMP1 lors de la mise en place de l'articulation embryonnaire ainsi que de la croissance des épiphyses des os longs (66).

En dehors du squelette, *Gdf5* est exprimé chez la souris au niveau de l'utérus, du placenta, de l'oviducte, du cerveau, du thymus, du cœur, des poumons, des reins, des surrénales, mais sans altération décrite lors de son inactivation (67).

L'absence d'atteinte du squelette axial chez les souris *Gdf5*^{-/-} pourrait s'expliquer par une possible compensation par d'autres Gdf (*Gdf6* ou *Gdf7*) étant donné leur homologie. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les souris double KO pour *Gdf5* et *Gdf6* présentent des défauts majeurs de formation des articulations ainsi que de la longueur des os, touchant aussi bien le squelette axial que le squelette appendiculaire (68,69).

Les souris ont ensuite été le modèle d'étude privilégié afin de mieux comprendre la physiopathologie des variations à l'origine de phénotypes spécifiques comme le symphalangisme (70,71).

V Pathologies associées à *GDF5*

Dans l'espèce humaine, les anomalies du gène *GDF5* sont associées à de nombreux syndromes suivant le type de l'altération moléculaire en cause. Nous étudierons d'abord les formes cliniques en lien avec une perte de fonction mono-allélique, dont la plus caractéristique est la brachydactylie de type C. Il existe également d'autres formes de brachydactylies, plus rares, en cas de variation de *GDF5*, les brachydactylies de type A1 et A2. Nous détaillerons par la suite les syndromes en lien avec un gain de fonction mono-allélique du gène, soit le symphalangisme proximal de type 1B et le syndrome des synostoses multiples de type 2. Nous évoquerons ensuite les phénotypes en lien avec une perte de fonction bi-allélique qui sont : le syndrome de Grebe, le syndrome de Du Pan et le syndrome de Hunter-Thompson. Nous terminerons l'étude des phénotypes liées aux anomalies du gène *GDF5* par le rôle des

polymorphismes au sein de son promoteur tant que facteurs de prédisposition à l'arthrose et la dysplasie de hanche.

1 Syndromes avec perte de fonction mono-allélique

La brachydactylie est l'atteinte la plus fréquente en cas de perte de fonction mono-allélique de *GDF5*. Elle correspond au raccourcissement d'un ou plusieurs doigts/orteils. Différentes phalanges, métacarpiens ou métatarsiens peuvent être atteints selon le mécanisme moléculaire en cause permettant de les classifier. La première classification a été élaborée radiologiquement par Temtamy en 1951, puis modifiée en 1978 par Temtamy et McKusick pour classer les brachydactylies de A à E avec 7 sous-groupes pour la brachydactylie de type A (72).

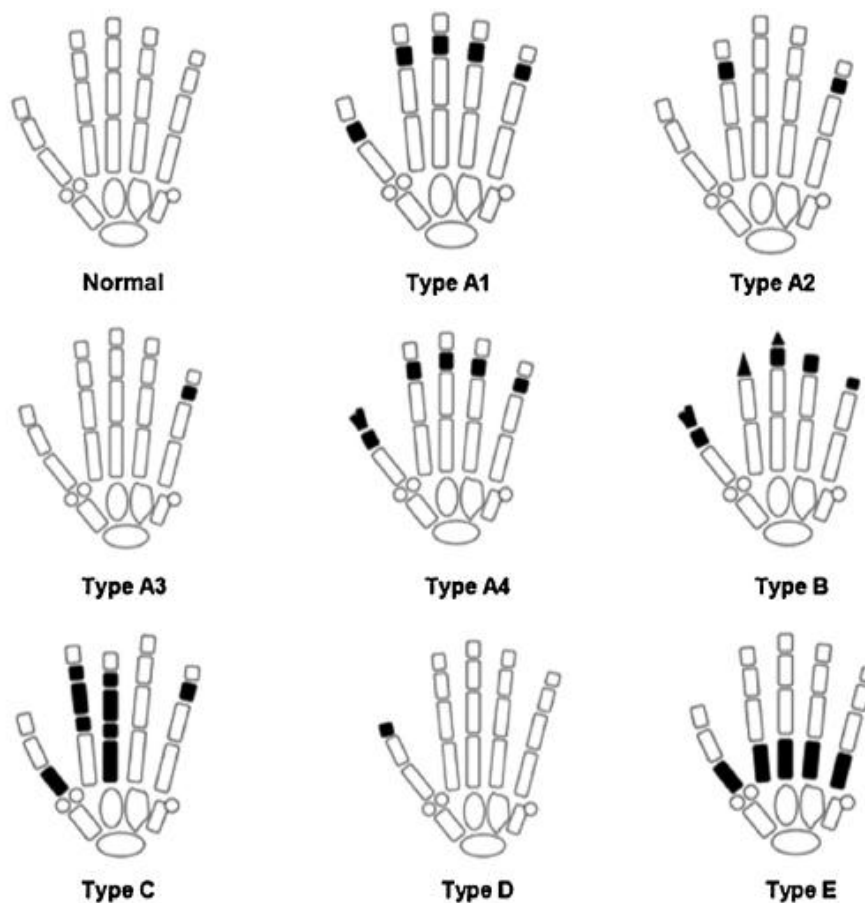


Figure 23 : Classification de Temtamy 1978, d'après (73).

Depuis de nombreuses classifications sont apparues, se basant sur cette première description, en la modifiant à mesure que les mécanismes moléculaires en cause étaient découverts (73–76).

La brachydactylie de type C est l'atteinte typique décrite dans les anomalies du gène *GDF5*, cependant certains cas de brachydactylie de type A1 ou A2 ont été rattachées à des anomalies de ce gène.

1.1 Brachydactylie type C

La brachydactylie de type C (BDC) ou de type Haws [#113100] est l'atteinte caractéristique en cas de variation « perte de fonction » hétérozygote de *GDF5*. Cependant, certains auteurs rapportent des variations faux-sens à l'état homozygote dans trois familles différentes (77,78).

Elle correspond à un raccourcissement des phalanges médianes des rayons II, III et V, ainsi qu'un raccourcissement du 1^{er} métacarpien. Le 4^{ème} rayon est conservé et devient le doigt le plus long. Il peut parfois s'associer une atteinte des pieds mais qui reste en général plus modérée. On retrouve parfois une polyphalangie en particulier au niveau des phalanges proximales et médianes des rayons II et III.

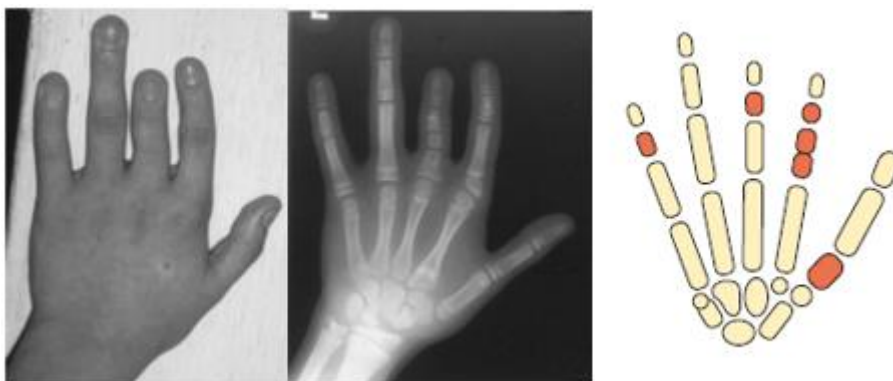


Figure 25 : Photographie, radiographie et schéma des caractéristiques de la BDC, d'après (74,79).

En dehors de l'atteinte des extrémités, il est fréquemment associé des anomalies dentaires, une relative petite taille, une hyperlaxité légère, une dysplasie de hanche et un retard d'âge osseux.

1.2 Brachydactylie de type A1

La brachydactylie de type A1 (BDA1) ou de Farabee [#112500] correspond à un raccourcissement des phalanges médianes des doigts II à V avec une atteinte de la phalange proximale du pouce. Elle est habituellement transmise sur un mode autosomique dominant et rattachée à des variants délétères d'*IHH*. Cependant, ce type de brachydactylie a été rapporté à plusieurs reprises dans la littérature scientifique en lien avec des variations du gène *GDF5*.

- Chez des sujets homozygotes pour un variant délétère de *GDF5* (c.1195C>T), dans une famille canadienne d'origine française (80).
- Le second article mentionne une BDA1 associée à une maladie des synostoses multiples en lien avec une variation hétérozygote de *GDF5*. Il semblerait cependant que le raccourcissement des phalanges médianes soit la conséquence de la synostose précoce et non d'un défaut primaire du développement des phalanges (24).



Figure 26 : Photographie, radiographie et schéma des caractéristiques de la BDA1, d'après (74,81).

1.3 Brachydactylie type A2

La brachydactylie de type A2 (BDA2) ou de Mohr-Wriedt [#112600] correspond à une atteinte isolée de la phalange médiane des 2^{èmes} rayons des index et des orteils entraînant une déviation ulnaire. Transmise sur un mode autosomique dominant, elle est génétiquement hétérogène et peut être rattachée à des variations délétères de *BMPR1B*, de *GDF5* ou à une duplication dans un élément régulateur en aval de *BMP2*. (82–85).



Figure 28 : Photographie, radiographie et schéma des caractéristiques de la BDA2, d'après (74,86).

Mutation	Protéine	Type	Statut	Pathogénicité	Localisation	Phénotype	Article
c.121delG	p.Gly41AspfsTer46	décalage du cadre de lecture	htz	classe 4	prodomaine	BDC	(87) et (90)
c.158delT	p.Leu53ArgfsTer34	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(88) et (89)
c.158_159insC	p.Ala54GlyfsTer40	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(88)
c.206_207insG	p.Thr70HisfsTer24	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(79), (88), et (90)
c.297dupC	p.Arg100GlnfsTer6	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(91)
c.404delC	p.Pro135GlnfsTer12	décalage du cadre de lecture	htz	classe 4	prodomaine	BDC	(92)
c.493delC	p.Ile167SerfsTer26	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(87)
c.498dupC	p.Ile167HisfsTer18	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(91)
c.517A>C	p.Met173Leu	faux-sens	hmz	classe 4	stabilisateur avant-bras	BDC	(78)
c.527delT	p.Leu176ArgfsTer17	décalage du cadre de lecture	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	(93)
c.527T>C	p.Leu176Pro	faux-sens	htz	classe 4	Stabilisateur avant-bras	BDC	(23)
c.601A>C	p.Thr201Pro	faux-sens	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	(94)
c.608C>A	p.Thr203Asn	faux-sens	hmz	classe 4	stabilisateur avant-bras	BDC	(77)
c.612C>A	p.Ser204Arg	faux-sens	htz	classe 3	Stabilisateur avant-bras	BDC	(88)
c.759delG	p.Ala254ProfsTer10	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	(90)
c.788T>C	p.Leu263Pro	faux-sens	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	(94)
c.803_827delinsTGCTGTC CGCCTTGCTGGATGTGCG	p.Cys268_Ser276delinsLeuLeu SerAlaLeuLeuAspValArg	faux-sens	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	(95)
c.811ins23					prodomaine/avant-bras	BDC	(88)
c.830delT	p.Leu277CysfsTer176	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	(88)
c.901C>T	p.Arg301Ter	non-sens	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	(90)
c.1139G>A	p.Arg380Gln	faux-sens	htz	classe 4	Site de clivage	BDA2	(84)
c.1195C>T	p.Arg399Cys	faux-sens	hmz	classe 3	protéine mûre	BDA1	(80)
c.1240T>C	p.Trp414Arg	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG/BMPRI1A/BMPRI1B	BDA1/SYNS2	(24)
c.1312C>T	p.Arg438Cys	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG/BMPRI1A/BMPRI1B	BDC	(88), (90) et (96)
c.1322T>C	p.Leu441Pro	faux-sens	htz	classe 4	protéine mûre	BDA2	(82) et (83)
c.1456G>A	p.Val486Met	faux-sens	hmz	classe 4	protéine mûre	BDC	(77)
c.1461T>G	p.Tyr487Ter	non-sens	htz	classe 5	Site de fixation NOG	BDC	(97)
c.1493G>C	p.Cys498Ser	faux-sens	htz	classe 4	cystéine conservée	BDC	(88)

Tableau 1 : Variations de *GDF5* rapportées dans la littérature scientifique comme responsables de brachydactylies, d'après (23,24,77–80,82–84,87–97).

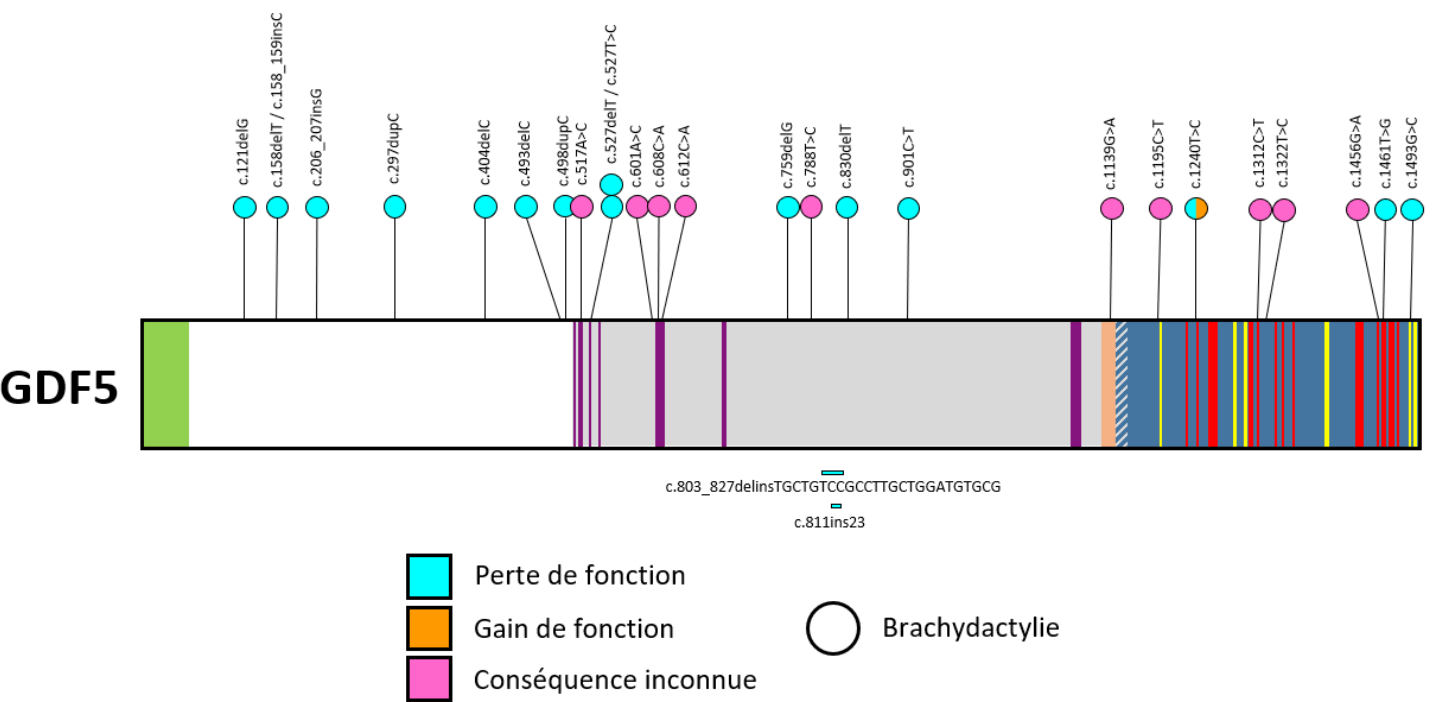


Figure 29 : Schéma représentant la position des variations de *GDF5* responsables de brachydactylies rapportées dans la littérature scientifique.

1.4 Dysplasie « en forme d'ange »

La dysplasie « en forme d'ange » [#105835] ou « Angel-Shaped Phalango-Epiphyseal Dysplasia » (ASPED) a été décrite sous ce nom pour la première fois par Giedion en 1993, en référence à la ressemblance avec les petits anges utilisés pour décorer le sapin de Noël. Cependant, les premiers patients avaient été décrits en 1967 par Bachman dans « hereditary peripheral dysostosis », sans que cette dysplasie soit réellement identifiée à l'époque (98,99).

Il s'agit d'une perturbation complète du développement des épiphyses, diaphyses et métaphyses des phalanges médianes, pouvant comporter des épiphyses en cônes ou pseudo-épiphyses, responsables d'une apparence d'ange. La forme d'ange des phalanges a également été décrite au niveau des phalanges médianes des pieds et du 1^{er} métacarpien. Elle est secondaire à un asynchronisme de croissance entre les épiphyses, métaphyses et diaphyses des phalanges.

Les différents composants de « l'ange » sont : les ailes formées par une manchette diaphysaire, un centre méta-diaphysaire correspondant au « corps » qui peut être vide ou associé à une épiphyse en cône formant la « jupe » et une pseudoépiphyse formant la « tête ».

Cette anomalie est visible uniquement durant la croissance et se normalise progressivement pour aboutir, à l'âge adulte, à un raccourcissement des phalanges médianes et du premier métacarpien.

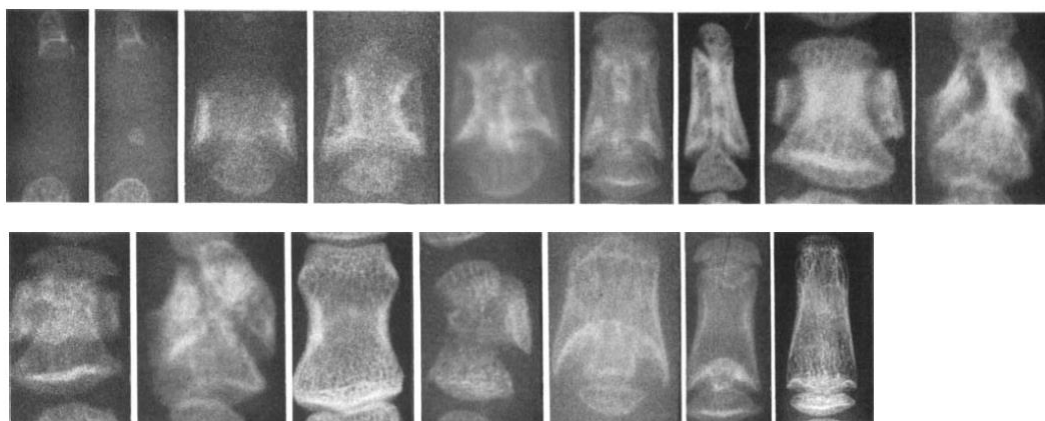


Figure 30 : Radiographie des différents aspects de la dysplasie en ailes d'ange, d'après (99).

Il est fréquemment associé à cette dysplasie un profil métacarpo-phalangien particulier, une dysplasie des épiphyses fémorales supérieures et, parfois, une hyperlaxité distale ainsi qu'une hypodontie.

L'ASPED peut se retrouver dans de nombreuses dysplasies osseuses associées à un retard d'âge osseux : chondrodysplasie ponctuée brachy-télé-phalangique, dysplasie spondylo-megaépiphysio-métaphysaire, ostéochondrodysplasie létale, acrodysplasie avec hypoplasie fibulaire... Il ne s'agit pas d'un syndrome en tant que tel mais plutôt d'une description radiologique permettant d'orienter les investigations vers une catégorie de dysplasie osseuse avec retard d'âge osseux.

L'association de la dysplasie en aile d'ange avec la brachydactylie de type C, par variation délétère de *GDF5* a été identifiée plus tard dans plusieurs cohortes de patients mais elle reste relativement peu rapportée dans la littérature scientifique. Cela peut s'expliquer par le caractère transitoire de l'aspect « d'ange » des épiphyses au cours de la croissance ou du caractère peu connu de cette dysplasie qui n'est que rarement identifiée en dehors de consultations spécialisées (91,92,100).

2 Syndromes avec gain de fonction

2.1 Symphalangisme proximal de type 1B

Le symphalangisme proximal type 1B (SYM1B) [#615298] est une affection, de transmission autosomique dominante, touchant les articulations. Il est caractérisé par une fusion progressive des articulations interphalangiennes proximales des mains, de degré variable et épargnant le pouce. Parfois les articulations métacarpo-phalangiennes peuvent également être touchées. Un signe clinique fréquemment observé est l'impossibilité de serrer le poing. Il est souvent associé à une coalition des os du carpe, du tarse et, parfois, à une surdité de transmission par fusion des osselets.



Figure 31 : Radiographie de patients atteints de SYM1B, d'après (101,102).

Il a été décrit pour la première fois en 1915 par Cushing, qui lui a donné son nom. De nombreux cas ont été décrits par la suite avant que le gène ne soit identifié. Dans un premier temps (1999) le symphalangisme proximal a été rattaché à des variants hétérozygotes délétères du gène *NOGGIN* responsables d'une perte de fonction (SYM1A) (OMIM 185800) (101,103–108).

Secondairement, des variants délétères de *GDF5* ont été identifiés chez des patients atteints de symphalangisme proximal (SYM1B) [#615298]. Ces variations délétères hétérozygotes sont situées dans le domaine actif ou dans le prodomaine de la protéine *GDF5* et aboutissent à un gain de fonction protéique. *GDF5* perd alors sa spécificité

pour le récepteur BMPR1B, augmente son affinité pour le récepteur BMPR1A, sans modification de son affinité pour son répresseur NOGGIN (32,82).

Un modèle murin Knock-in a été créé avec la variation située dans le prodomaine rapportée dans la littérature : p.Leu373Arg. Dans ce modèle murin, on observe une augmentation de la protéolyse de la protéine Gdf5 *in vivo* ainsi qu'une augmentation de la phosphorylation des Smad 1/5/8 et de la transcription des gènes cibles *Smurf1*, *Col2a1* et *Sox9*. Les souris présentent un phénotype similaire à celui observé chez les patients atteints de symphalangisme (70).

Ainsi, trois variants délétères de *GDF5* ont été rapportés dans la littérature médicale dans le cadre d'un SYM1B. Elles sont décrites dans le tableau 2.

2.2 Syndrome des synostoses multiples de type 2

Le syndrome des synostoses multiples de type 2 (SYNS2) [#610017], associe un symphalangisme à une atteinte de plus grosses articulations (fusion progressive au niveau des poignets, chevilles, genoux, coudes et du rachis lombaire), à une surdité de transmission par fusion des osselets et à une dysmorphie caractéristique (face allongée, nez tubulaire avec hypoplasie des ailes du nez, philtrum court et lèvre supérieure fine).

La maladie des synostoses multiples a été décrite pour la première fois en 1966 par Fuhrmann puis a été rapportée de nombreuses fois dans la littérature médicale. De transmission autosomique dominante, elle est génétiquement hétérogène et peut être liée à des variants délétères de *NOG* (SYNS1) [#186500], *GDF5* (SYNS2) [#610017], *FGF9* (SYNS3) [#612961] et *GDF6* (SYNS4) [#17898] (108–112).



Figure 32 : Schéma représentant la voie de signalisation de GDF5 par son récepteur BMPR1B et les différentes protéines responsables de maladie des synostoses multiples. Les flèches vertes représentent le rôle activateur de la protéine. Les traits rouges représentent le rôle inhibiteur de la protéine.

Au niveau de *GDF5*, seules 5 variations faux-sens entraînant un gain de fonction par perte de l'inhibition par NOGGIN ont été répertoriées dans le cadre de SYNS2. Elles sont décrites dans le tableau 2.

Mutation	Protéine	Type	Statut	Pathogénicité	Localisation	Phénotype	Article
c.1118T>G	p.Leu373Arg	faux-sens	htz	classe 4	prodomaine / avant-bras	SYM1B	(97)
c.1240T>C	p.Trp414Arg	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	BDA1/SYNS2	(24)
c.1313G>T	p.Arg438Leu	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	SYM1B/SYNS2	(82), (102) et (114)
c.1334A>C	p.Asn445Thr	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG	SYNS2	(116)
c.1335T>G	p.Asn445Lys	faux-sens	htz	classe 5	Site de fixation NOG	SYNS2	(116)
c.1424G>A	p.Ser475Asn	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation BMPR1A/BMPR1B	SYNS2	(115)
c.1471G>A	p.Glu491Lys	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	SYM1B	(113)

Tableau 2 : Variations de *GDF5* rapportées dans la littérature scientifique comme associées au symphalangisme et aux synostoses multiples, d'après (24,82,97,102,113–116).

Il y a une erreur de nomenclature dans l'article (82) car la séquence codante de *GDF5* contient 1503pb et la variation est décrite comme c.1632G>T. En se référant à la nomenclature protéique, R438L, on peut supposer que la mutation de cet article est la même que celle de l'article (102), du moins elle a la même conséquence au niveau de la protéine.

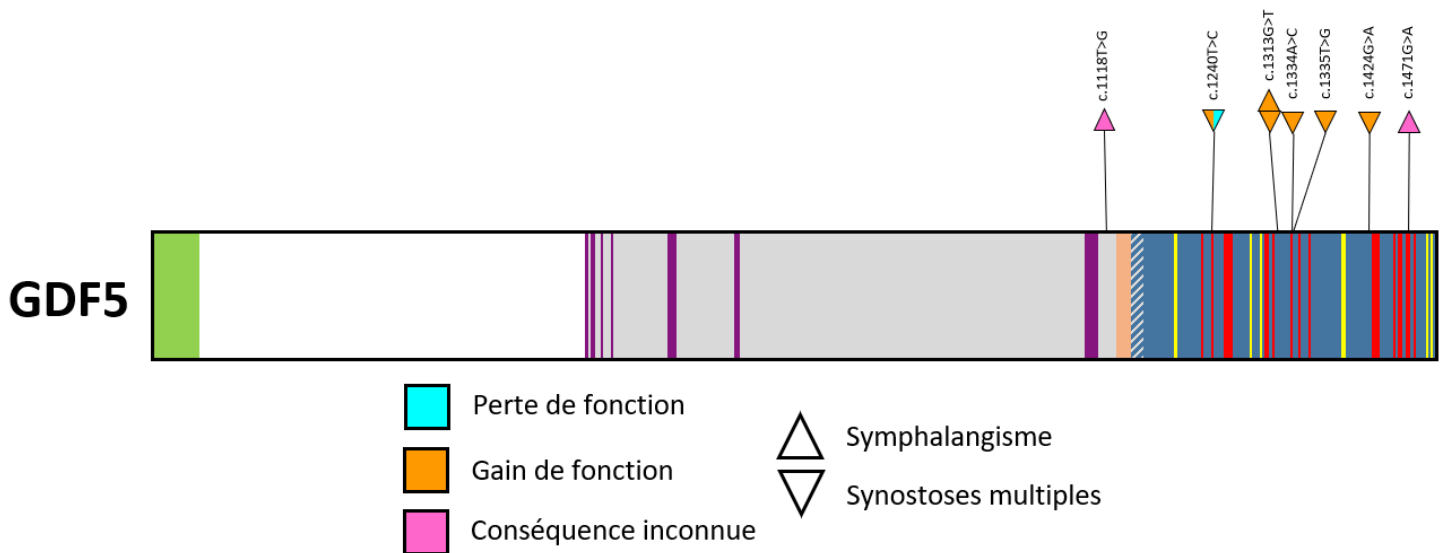


Figure 33 : Schéma représentant la position des variations de *GDF5* associées au symphalangisme et aux synostoses multiples rapportées dans la littérature scientifique.

3 Syndromes avec perte de fonction bi-allélique

3.1 Syndrome de Du Pan

Le syndrome de Du Pan [#228900] a probablement été décrit pour la première fois en 1924 par Du Pan. Il associe une hypoplasie ou aplasie de la *fibula* et une brachydactylie complexe. Depuis sa première description, quatre familles ont été décrites dans la littérature scientifique, deux d'origine européenne, une d'origine arabe et une d'origine pakistanaise. L'atteinte fibulaire est assez variable : classiquement il s'agit d'une agénésie mais récemment un patient a été décrit avec une hypoplasie fibulaire (117–121).



Figure 34 : Radiographies de patients atteints de syndrome de Du Pan, d'après (117,119,121).

La brachydactylie est assez hétérogène avec une atteinte prépondérante des phalanges médianes et proximales et un respect des phalanges distales. L'atteinte du pouce est plus importante avec une brachydactylie sévère entraînant un défaut fonctionnel. Il peut également s'y associer une fusion des os du carpe.

Les parents porteurs de variations à l'état hétérozygote sont généralement asymptomatiques, cependant on note parfois une brachymésophalangie discrète chez certains d'entre eux.

Les variations délétères à l'origine du syndrome de Du Pan sont, le plus souvent, des variants faux-sens, homozygotes ou hétérozygotes composites, situés au niveau du domaine actif de *GDF5*. Cependant, un cas de transmission autosomique dominante a été décrit (121) : Les deux patientes atteintes (une mère et sa fille) sont porteuses

de trois variants délétères en *cis* (sur le même allèle). Ces variations sont décrites dans le tableau 3.

3.2 Chondrodysplasie de type Grebe

Le syndrome de Grebe [#200700] a été décrit en 1952 par Hans Grebe (122). Il est caractérisé par une atteinte sévère du squelette appendiculaire avec un gradient de sévérité proximo-distal, sans atteinte extra-squelettique ou du squelette axial. On observe un raccourcissement rhizomélique modéré avec un raccourcissement mésomélique plus important notamment une atteinte importante de l'*ulna* et de la *fibula* entraînant une incurvation radiale et tibiale. L'atteinte est plus sévère aux membres inférieurs qu'aux membres supérieurs. Au niveau des extrémités l'atteinte est très importante avec une désorganisation des os du carpe, des métacarpiens et métatarsiens très raccourcis et des phalanges absentes ou extrêmement courtes, plus ou moins associées à une polydactylie.



Figure 35 : Photographies et radiographies de patients atteints de syndrome de Grebe, d'après (123–125).

L'anomalie moléculaire a été découverte en 1997 par J. Terrig Thomas dans une famille brésilienne avec 20 individus atteints. L'étude du gène *GDF5* a révélé la

présence d'un variant délétère (c.1199G>A) à l'état homozygote chez les individus atteints et une hétérozygotie composite pour ce variant et un second (c.1144delG) chez un individu. Des études fonctionnelles ont montré que le variant c.1199G>A empêche la sécrétion de la protéine GDF5 et exerce un effet dominant négatif avec la possibilité de former un hétéro-dimère avec les protéines BMP2, BMP3, BMP7 (OP1) à l'origine de leur inactivation (123).

Par la suite d'autres variations tronquantes homozygotes de *GDF5* ont été décrites, elles sont résumées dans le tableau 3.

3.3 Chondrodysplasie de type Hunter-Thompson

De nombreux nanismes mésoméliques ont été décrits par Campailla et Martinelli en 1971, mais c'est en 1976 que Hunter et Thompson décrivent pour la première fois cette entité distincte. Dans le syndrome de Hunter-Thompson [201250] l'atteinte est limitée aux membres avec une atteinte principale des segments mésoméliques et acroméliques, et une atteinte prédominante des membres inférieurs. Il peut s'y associer des luxations au niveau des hanches, des genoux, des chevilles et des coudes. L'atteinte des mains est variable selon les patients mais on note un respect relatif des dernières phalanges. L'atteinte des membres inférieurs est majeure au niveau des segments mésoméliques (126,127).

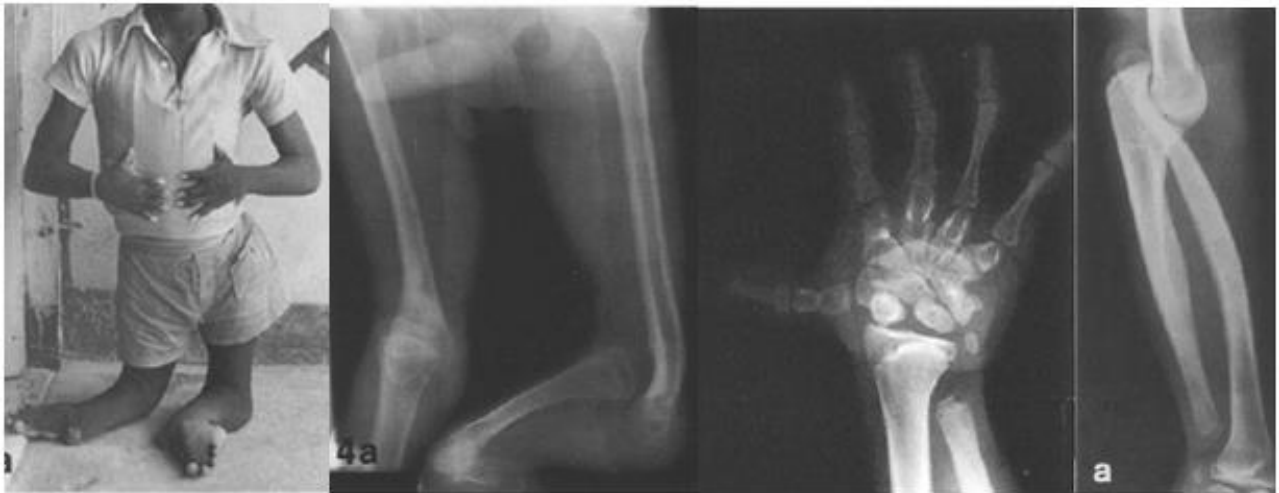


Figure 36 : Photographie et radiographie d'un patient atteint de syndrome de Hunter-Thompson, d'après (128).

A ce jour, seulement trois patients ont été décrits dans la littérature scientifique, une écossaise initialement décrite par Hunter et Thompson, et un frère et une sœur originaires de la tribu des indiens Cholos de Colombie.

La dysplasie de Hunter-Thompson semble être un phénotype intermédiaire entre la dysplasie de Du Pan et la dysplasie de Grebe.

Sur le plan moléculaire, une seule variation a été décrite dans cette dysplasie, il s'agit d'une insertion, à l'état homozygote, de 22 paires de bases au niveau du domaine actif de *GDF5* (c.1453_1474ins22). Cette variation aboutit à un codon stop prématuré et à une protéine tronquée qui est non fonctionnelle (129).

Tous ces syndromes avaient été décrits cliniquement avant la découverte du gène *GDF5*, ce qui explique la présence de chevauchements phénotypiques entre eux. Ils semblent correspondre à un spectre phénotypique lié à une même entité allant du moins sévère, le syndrome de Du Pan, au plus sévère, le syndrome de Grebe, mais partagent une même caractéristique : des variations bi-alléliques de *GDF5*.

Mutation	Protéine	Type	Statut	Pathogénicité	Localisation	Phénotype	Article
c.157dupC	p.Leu53ProfsTer41	décalage du cadre de lecture	hmz	classe 5	prodomaine	Grebe	(124)
c.206_207insG	p.Thr70HisfsTer24	décalage du cadre de lecture	hmz	classe 5	prodomaine	Grebe	(130)
c.297dupC	p.Arg100GlnfsTer6	décalage du cadre de lecture	hmz	classe 5	prodomaine	Grebe	(123) et (131)
c.527T>C	p.Leu176Pro	faux-sens/perte de fonction	hmz	classe 4	stabilisateur de l'avant-bras	Grebe	(23)
c.704T>C	p.Leu235Pro	faux-sens	hmz	classe 3	prodomaine/avant-bras	Grebe	(132)
c.872G>A	p.Trp291Ter	non-sens	hmz	classe 5	prodomaine/avant-bras	Grebe	(124)
c.1114insGAGT	p.Tyr372Ter	non-sens	hmz	classe 5	prodomaine/avant-bras	Grebe	(125) et (133)
c.1129C>T	p.Arg377Trp	faux-sens	hmz	classe 4	Site de clivage	Grebe	(134)
c.1133G>A	p.Arg378Gln	faux-sens	htz cp	classe 4	Site de clivage	Du Pan	(117)
c.1144delG	p.Ala382Thr	décalage du cadre de lecture	htz cp	classe 5	Site de clivage	Grebe	(123)
c.1199G>A	p.Cys400Tyr	faux-sens	hmz/htz cp	classe 4	cystéine conservée	Grebe	(123)
c.1306C>A	p.Pro436Thr	faux-sens	htz cp	classe 4	Site de fixation NOG/BMPRI1A/BMPRI1B	Du Pan	(117)
c.1309_1311del/c.1315T>A/c.1319A>T	p.?		cis		Site de fixation BMPRI1A/BMPRI1B	Du Pan	(121)
c.1309_1330dup	p.Thr444IlefsTer44	décalage du cadre de lecture	hmz	classe 5	protéine mûre	Ht-Th	(129)
c.1322T>C	p.Leu441Pro	faux-sens	hmz	classe 4	protéine mûre	Du Pan	(118)

Tableau 3 : Variations bi-alléliques de *GDF5* rapportées dans la littérature scientifique comme associées aux syndromes de Grebe, Du Pan et Hunter-Thompson, d'après (23,117,118,121,123–125,129–134).

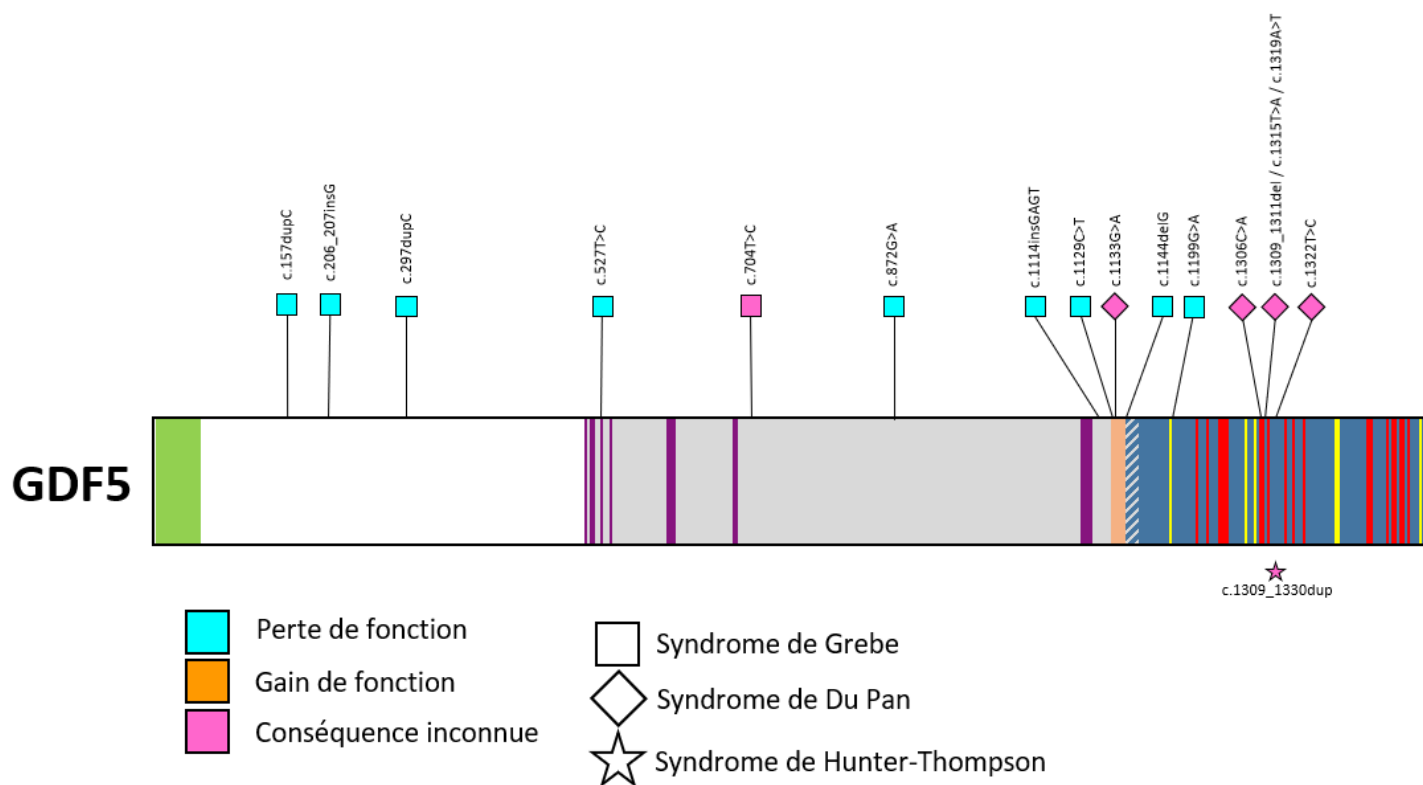


Figure 37 : Schéma représentant la position des variations bi-alléliques de *GDF5* associées aux syndromes de Grebe, Du Pan et Hunter-Thompson rapportées dans la littérature scientifique.

4 Polymorphismes et facteurs de susceptibilité

La dysplasie congénitale de hanche ou dysplasie développementale de hanche (DDH) [#142700] est un trouble du développement de l'articulation coxo-fémorale responsable d'un défaut d'implantation de la tête fémorale au niveau de l'*acetabulum*

pouvant se manifester par une légère laxité de l'articulation, une luxation, une dysplasie acétabulaire ou de la tête fémorale. A plus ou moins long terme, cette malformation est responsable d'ostéo-arthrose entraînant une atteinte fémorale et une limitation des mouvements, nécessitant une prothèse totale de hanche (PTH) précoce. C'est l'une des malformations squelettiques les plus fréquentes dans la population c'est pourquoi sa détection et son traitement rapide sont essentiels afin de retarder le recours à la chirurgie et diminuer son impact fonctionnel (47,48).

L'étiologie de cette malformation est multifactorielle avec une part environnementale et une part génétique qui se précise d'années en années.

Le rôle de *Gdf5*, par l'intermédiaire de ses séquences régulatrices d'aval, a été démontré sur la morphologie de la hanche. En effet, les séquences régulatrices d'aval gouvernent l'expression de *Gdf5* au niveau de l'acétabulum et de la tête fémorale en prénatal et peu en post-natal chez la souris (135).

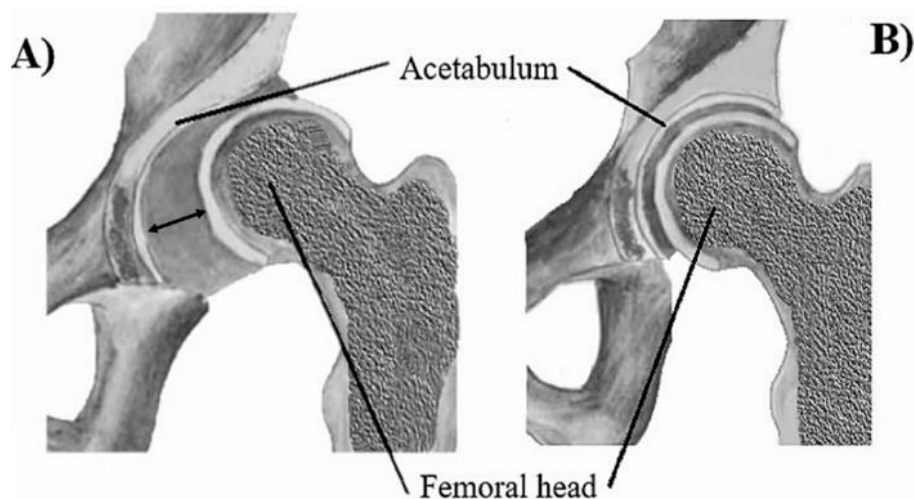


Figure 38 : Comparaison d'une hanche dysplasique (A) avec une hanche normale (B), d'après (136).

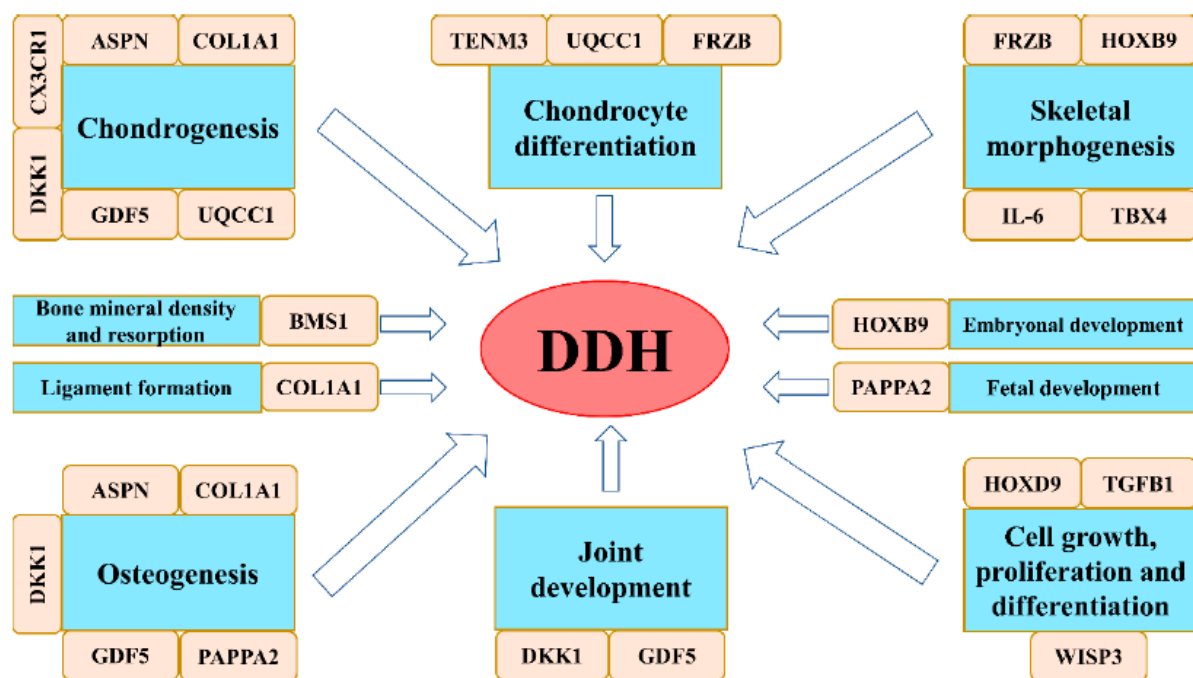


Figure 39 : Représentation des différents facteurs génétiques impliqués dans la survenue de DDH d'après (136).

Un polymorphisme nucléotidique (Single Nucleotide Polymorphisme, SNP) dans la région du 5'UTR de *GDF5*, initialement décrit comme plus fréquent chez les patients souffrant d'arthrose précoce (rs143383 ou c.+104T>C) a été également observé dans des populations japonaises et chinoises d'origine Han atteintes de dysplasie développementale de hanche. L'implication des polymorphismes au sein de la région 5'UTR a été confirmée sur des populations caucasiennes grâce à plusieurs études d'association pangénomiques (Genome-Wide Association Study, GWAS). Ces études ont confirmé le rôle du SNP précédemment décrit (rs143383) ainsi que d'un autre polymorphisme (rs143384 ou c.+105C>T) sur des populations françaises et britanniques (137–139).

Cet allèle diminue modérément l'activité du promoteur de *GDF5* dans les cellules chondrogéniques et non chondrogéniques. Le mécanisme de régulation de l'expression de *GDF5* semble complexe et l'effet du polymorphisme rs143383 serait influencé par le deuxième polymorphisme, rs143384. L'allèle T du rs143383 est

responsable d'une diminution de l'expression de *GDF5* uniquement lorsqu'il est suivi en cis par l'allèle T du rs143384 et forme l'haplotype TT (61,140,141).

Récemment, il a été démontré que le promoteur de *GDF5* était plus fréquemment hyperméthylé en cas de DDH qu'en l'absence de DDH. Cela pourrait expliquer le mécanisme d'action des 2 SNP décrits précédemment. Cependant aucune étude n'a étudié le lien entre ces SNP et la méthylation du promoteur de *GDF5* pour le moment (142).

De nombreuses études ont ensuite précisé l'implication de ce SNP rs143383 dans la survenue d'arthroses précoces de genou, de hanche, du rachis lombaire et des doigts. Bien que plusieurs méta-analyses ont confirmé l'implication du SNP comme facteur de risque d'arthrose de genou, les résultats sont contradictoires sur la survenue d'arthroses du rachis lombaire, de hanche et des mains selon les populations étudiées (61,143–145).

VI Perspectives thérapeutiques

Le gène *GDF5* a été séquencé pour la première fois en 1994 permettant ainsi la production de la protéine recombinante humaine *GDF5* (rh*GDF5*) *in vitro*, ainsi que la production d'anticorps anti-*GDF5* humain. Cette découverte a permis de mieux comprendre le rôle et le territoire d'expression de cette protéine, cependant, cette méthode ne permettait pas de production à grande échelle (21).

C'est en 2000, qu'une nouvelle technique de production de rh*GDF5* par « repliement direct » a été mise au point, permettant une production industrielle de la protéine entraînant une diminution des coûts de production. Cette découverte a ouvert la voie à une possible utilisation de la protéine à des fins thérapeutiques (146).

De nombreuses études pré-cliniques ont été effectuées *in vitro* et *in vivo* depuis cette découverte afin de mettre au point une thérapie efficace par rhGDF5 sur différentes atteintes osseuses.

1 Etudes chez l'animal

1.1 Régénération cartilagineuse et osseuse

Plusieurs études ont montré la capacité de formation de cartilage *in vitro* et *in vivo*. La première étude, basée sur l'implantation ectopique de rhGDF5 associée à une matrice de collagène I et d'hydroxyapatite au niveau de la région thoracique et tibiale postérieure a montré la formation ectopique de tissu cartilagineux et osseux chez le rat. Une seconde étude avec injection ectopique de rhGDF5 associée à du collagène I dans le muscle du mollet du rat montre également une formation cartilagineuse avec un peu de formation osseuse et d'une structure ressemblant à de la moelle osseuse. Une troisième étude chez des souris, a montré que l'injection d'une construction par bio-impression 3D de GDF5 associé à des cellules souches hématopoïétiques favorisait la formation et la réparation cartilagineuse ainsi que la chondroprotection. Enfin, les propriétés d'induction de formation osseuse par perte d'inhibition de *NOGGIN* via des variations délétères à l'origine de synostoses multiples ont été utilisées en thérapeutique. La protéine GDF5^{N44T} a montré sa supériorité sur la régénération osseuse par rapport à la protéine GDF5^{WT} chez le rat. Cette protéine GDF5 modifiée est appelée GDF5 superagoniste (147–150).

1.2 Formation de la *calvaria*

Des études ont initialement mis en évidence que l'injection, au niveau du périoste, de rhGDF5 associé à de l'atelocollagène de type I bovin permettait une meilleure

formation d'os et de moelle osseuse sur le plan quantitatif et qualitatif comparativement à de l'atelocollagène seul chez le rat. Par la suite, une autre étude a montré que l'administration de rhGDF5 associé à du *beta*-tricalcium phosphate (β -TCP) à des rats présentant un défaut de calvaria permettait une régénération de la calvaria 5 fois supérieure au traitement standard (151–153).

1.3 Enrobage péri-implant

Plusieurs études ont montré le rôle favorisant l'ostéoformation et l'intégration des implants osseux au niveau fémoral chez le lapin, du plancher du sinus maxillaire chez le cochon, mandibulaire et de l'os alvéolaire chez le chien lorsqu'ils étaient enrobés d'un assemblage contenant de la rhGDF5 (154–156).

1.4 Rôle au niveau vertébral

Plusieurs études, sur différents modèles animaux (lapin, mouton), ont montré que l'administration de rhGDF5 associé à une solution d'hydroxyapatite et de collagène type I (Healos) permettait d'améliorer le processus de fusion vertébrale après arthrodèse comparativement à l'autogreffe ce qui pourrait constituer une alternative intéressante à cette dernière. L'administration de rhGDF5 associé à une matrice de disque intervertébral bovine a également montré son efficacité sur l'augmentation de la synthèse de protéoglycanes *in vitro*, ainsi que sur l'augmentation de la hauteur des disques intervertébraux *in vivo*, chez le lapin. (157–160).

De nombreuses études pré-cliniques ont été effectuées chez l'animal avec des résultats relativement encourageants pour certaines indications, cependant il n'y a encore que très peu d'études cliniques sur l'utilisation de rhGDF5 en thérapeutique chez l'Homme. Nous allons les détailler ci-dessous.

2 Etudes cliniques

2.1 Enrobage péri-implant

Une étude prospective randomisée a été réalisée à la suite de ces résultats permettant de montrer l'innocuité de rhGDF5 associée à du β -TCP sur l'augmentation du plancher du sinus maxillaire en cas d'extraction dentaire, parodontite ou pneumatisation du sinus. Un essai clinique randomisé de phase IIa a été effectué pour évaluer l'efficacité et l'innocuité de rhGDF5 associé à du β -TCP sur l'augmentation du plancher du sinus maxillaire. Il a été montré que le gain obtenu avec rhGDF5 était similaire à celui obtenu par le traitement standard, sans effet indésirable associé (161,162).

2.2 Régénération parodontale

Deux essais cliniques randomisés de phase IIa ont montré l'absence d'effet indésirable sur la régénération parodontale de rhGDF5 associée à du β -TCP en traitement de la parodontite. Cependant, concernant l'efficacité, les essais manquaient de puissance pour obtenir une différence statistiquement significative (55,163).

2.3 Dégénération disques intervertébraux

Plusieurs essais cliniques de phase I et II ont été effectués récemment afin d'évaluer la sécurité et la tolérance de l'injection de rhGDF5 au niveau des disques intervertébraux de patients présentant une dégénération discale débutante. Ce traitement a été testé sur des populations australiennes, coréennes et américaines. Les premiers résultats semblent montrer de bons résultats au niveau de la tolérance ce qui laisse penser que de futures études de phase III vont être effectuées afin d'étudier l'efficacité de ce traitement (164,165).

TRAVAIL DE THESE

I Matériel et Méthodes

1 Objectifs

L'équipe clinico-biologique de Génétique du centre hospitalier de Lille est le centre de référence français en matière d'étude des malformations du développement des membres aboutissant à la centralisation des analyses moléculaires dans cette indication depuis environ 20 ans. Elle reçoit également des demandes d'analyse en provenance de l'étranger. C'est dans le cadre de ces expertises qu'a été constituée cette cohorte de patients porteurs de variants délétères de *GDF5*.

Il s'agit, à notre connaissance, de la plus importante cohorte de patients porteurs d'une variation pathogène de *GDF5* rapportée dans la littérature scientifique, nous permettant de réaliser une étude de cohorte multicentrique internationale rétrospective. L'objectif principal de l'étude est la caractérisation de corrélations génotype-phénotype. Les objectifs secondaires sont la mise en évidence de phénotypes peu décrits dans la littérature scientifique, ainsi que la détermination de la fréquence des différentes atteintes liées aux variations délétères de *GDF5*.

2 Recueil de données

2.1 Recrutement des patients

Les patients ont été recrutés parmi les patients adressés entre 2000 et 2020 au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille, spécialisé dans les anomalies du développement des membres. Les patients proviennent de différents centres de Génétique de France (Amiens, Caen, Clermont-Ferrand, Dijon, Lille, Lyon, Marseille, Montpellier, Nantes, Nice, Paris, Rennes, Rouen, Saint-Denis, Strasbourg, Toulouse et Tours) ainsi que de l'étranger (Belgique, Grande-Bretagne, Italie, Mexique).

L'indication de l'étude moléculaire des gènes impliqués dans les anomalies du développement des membres, contenant le gène *GDF5*, a été validée en réunion clinico-biologique après recueil des informations cliniques et radiologiques et des consentements signés par les patients. Les indications de l'analyse moléculaire étaient : brachydactylie, synostoses multiples, symphalangisme, dysplasie en « aile d'ange » ou chondrodysplasie de type Grebe. Les patients pour lesquels les informations cliniques n'étaient pas disponibles, ainsi que les patients porteurs de variations de classe inférieure à 4 selon la classification ACMG, ont été exclus (166)¹.

2.2 Recueil des informations cliniques

Dans un premier temps, une revue exhaustive de la littérature nous a permis d'établir une fiche clinique détaillée reprenant les différentes atteintes rapportées chez les patients porteurs de variations délétères de *GDF5* (Cf. annexe 1). Cette fiche a été adressée, sous forme d'un questionnaire, aux différents prescripteurs extérieurs au centre hospitalier de Lille afin de compléter, ou actualiser, les informations communiquées lors de la demande d'analyse moléculaire. Le nombre de questionnaires adressés aux prescripteurs extérieurs au centre hospitalier de Lille est de 51, avec taux de réponse de 90,2% (46/51).

Les dossiers des patients adressés par le Centre Labellisé pour les Anomalies du Développement (CLAD) de Lille ont été réévalués rétrospectivement afin de renseigner la même fiche. Les radiographies et photographies ont été analysées lorsqu'elles étaient disponibles.

¹ La classification de l'American College of Medical Geneticists (ACMG) permet de classer les variations en 5 groupes : 1 non délétère ; 2 probablement non délétère ; 3 de signification inconnue ; 4 probablement délétère ; 5 délétère.

2.3 Classification des variations du gène *GDF5*

Une nouvelle interprétation, selon la classification ACMG, des variations de *GDF5* rapportées dans la littérature scientifique ainsi qu'au sein de notre cohorte a été réalisée. Au sein de notre cohorte, 3 patients porteurs d'une variation de classe 1, ainsi que 4 patients porteurs d'une variation de classe 3 ont été exclus. La présence de variations de classe 1 est liée aux résultats rendus avant la publication des critères de la classification ACMG. Ces variations avaient été rendues à titre informatif, sans conclure à leur pathogénicité.

En revanche, pour l'étude comparative entre notre cohorte et les données de la littérature scientifique, les variations de la littérature scientifique de classe 3 (chez un patient atteint de BDC (88), un patient atteint de syndrome de Grebe (132) et une famille atteinte de syndrome de Du Pan (121)), après réinterprétation selon la classification ACMG, ont été conservées au sein de notre étude car les auteurs avaient considéré ces variations comme pathogènes lors de la publication.

3 Analyses statistiques

3.1 Détermination de la fréquence des signes cliniques

Lors de l'analyse de la littérature scientifique, nous avons noté une grande difficulté à déterminer la fréquence des atteintes présentes chez les patients atteints de BDC, compte-tenu de descriptions parfois approximatives. Afin de tenir compte de la subjectivité inter-individuelle lors de l'interprétation des images radiologiques, et pour permettre une uniformité entre les patients, les atteintes des mains ont été interprétées uniquement pour les publications présentant une iconographie comportant les radiographies. Pour les autres atteintes, elles ont été considérées comme non disponibles en l'absence de notion dans la description clinique de l'article.

Au sein de notre cohorte, seuls les signes cliniques retrouvés chez au moins deux patients ont été pris en compte. La déficience intellectuelle, bien que présente chez plus de deux patients, n'a pas été prise en compte car elle était expliquée par d'autres étiologies. L'atteinte des mains a été analysée uniquement chez les patients dont les radiographies étaient disponibles. Les autres symptômes ont été considérés comme négatifs dès lors qu'ils n'étaient pas mentionnés dans la fiche clinique remplie. L'âge osseux a été déterminé uniquement chez les enfants dont les radiographies étaient disponibles.

Les analyses de fréquence ont été effectuées uniquement chez les patients présentant une brachydactylie de type C car les effectifs des patients présentant d'autres phénotypes en lien avec des anomalies de *GDF5* étaient trop faibles.

3.2 Etudes comparatives

Les analyses statistiques ont été effectuées par l'équipe de biostatistique du CHU de Lille. La fréquence des atteintes a été comparée entre les patients de notre cohorte et ceux de la littérature scientifique à l'aide d'un test du χ^2 ou test exact de Fisher selon les cas (pour les anomalies dentaires, anomalies des hanches et hyperlaxité). Le seuil de significativité statistique a été fixé de manière usuelle par $p < 0,05$. L'analyse n'a pu être réalisée pour les atteintes vertébrales, le retard d'âge osseux, l'arthrose et les patients asymptomatiques en raison d'un effectif trop faible.

Une analyse descriptive des différentes atteintes par tranche d'âge (0-6 ans, 6-18 ans, >18 ans) a ensuite été effectuée sur l'ensemble des patients (littérature + cohorte). Aucune analyse comparative n'a été réalisée par tranche d'âge en raison d'un effectif trop faible pour chaque sous-catégorie.

4 Analyses moléculaires

Les techniques de biologie moléculaire ayant évolué durant la période de recrutement, les patients n'ont pas tous bénéficié des mêmes techniques d'analyse. Initialement le séquençage de *GDF5* était effectué par la technique de séquençage Sanger mais, avec l'arrivée des techniques de séquençage haut débit, le séquençage Sanger n'est plus utilisé que pour la validation des variations identifiées en NGS. Ne seront décrites dans cette étude que les techniques utilisées actuellement par le laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille.

4.1 Extraction d'ADN

L'ADN génomique a été extrait chez les patients et leurs parents, si disponible, à partir d'un prélèvement sanguin périphérique sur tube EDTA par la technique Chemagic Star (Hamilton, Chemagen) avec le kit B1k (PerkinElmer®) selon le protocole recommandé par le fournisseur. Si le patient était un fœtus, l'ADN a été extrait à partir de tissu congelé par la technique Chemagic Prepito-D avec le kit Prepito Cyto Pure (PerkinElmer®). L'ADN a été dosé par spectrophotométrie par le kit Quant-iT™ PicoGreen™ (ThermoFisher scientific®) selon le protocole recommandé par le fournisseur. La lecture a été réalisée sur un spectrophotomètre SAFAS Xenius®.

4.2 Séquençage haut débit

Les bibliothèques ont été préparées par la technique de capture SureSelect QXT (Agilent®), selon le protocole du fournisseur. Le séquençage Paired-end (2x150pb) a été effectué sur un séquenceur MiSeq (Illumina®) sur une Flowcell standard. Les données de FastQ ont été alignées sur le génome humain de référence (GRCh37-hg19) en utilisant l'algorithme Burrows-Wheeler Aligner (BWA, v0.7.15-r1140). L'appel

de variants a été effectué en utilisant le logiciel Genome Analysis Tool Kit (GATK, v3.7). Le Variant Call Format (VCF) a été annoté par Varscan (v2.3.6) et intégré à une base de données interne appelée DVD (CHU-Lille). La recherche de réarrangements a été réalisée par les logiciels open source CNVkit v0.8.5 (167) et CANOES (168).

4.3 Séquençage Sanger

Le séquençage Sanger a été utilisé pour analyser les exons non couverts, pour confirmer les variations identifiées par séquençage haut débit et pour réaliser l'étude de ségrégation familiale lorsque les prélèvements parentaux étaient disponibles. Les fragments ont été amplifiés par la technique ABI Prism 3730XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems®, Courtaboeuf, France).

II Résultats

1 Répartition des patients

Durant la période d'étude, un variant de *GDF5* a été identifié chez 88 patients. Après classification des variations selon les critères ACMG, il s'agissait, pour 7 d'entre eux d'une variation de classe 3 ou moins et les informations cliniques étaient absentes chez 2 patients. Ces patients ont été exclus. Les 79 patients restants étaient composés de 48 cas index et 31 apparentés.

Parmi eux, 74 patients présentent une BDC, un est atteint de SYM1B, deux souffrent de SYNS2, deux ont une chondrodysplasie de type Grebe et un patient est atteint d'un syndrome de Du Pan. La patiente 43 présente à la fois un phénotype de BDC et de

SYM1B ce qui explique qu'elle soit comptabilisée 2 fois et que le total de patients soit, par conséquent, de 79 et non 80.



Figure 40 : Schéma représentant la répartition des patients de la cohorte.

A noter que la patiente 43 présente à la fois une BDC et un SYM1B ce qui explique le nombre de patients présentant une brachydactylie soit de 74 (73+1) et que le nombre de patients total soit de 79 et non 80.

2 Brachydactylie de type C

2.1 Signes cliniques

74 patients présentaient un phénotype compatible avec une brachydactylie de type C.

Ils sont répartis en 45 cas index et 29 apparentés. Les radiographies étaient

disponibles pour 59 patients. Les résultats et la comparaison avec les données de la littérature sont résumés dans le tableau 4.

	cohorte		littérature		Significativité statistique
Effectif	74		33		
Sexe	42F/32M		12F/17M		
Âge (années)	moy 20,6 min 0 - max 76		moy 11,3 min 0,75 - max 52		
Dysplasie en « ailes d'ange »	22/63	34,9%	5/27	18,5%	p=0,12
Brachymétacarpie 1 ^{ers} rayons	49/63	77,8%	16/27	59,3%	p=0,072
Brachymésophalangie 2 ^{èmes} rayons	51/63	81%	18/27	66,7%	p=0,14
Brachymésophalangie 3 ^{èmes} rayons	36/63	57,1%	13/27	48,1%	p=0,43
Brachymésophalangie 5 ^{èmes} rayons	47/63	74,6%	19/27	70,4%	p=0,68
Brachybasophalangie 2 ^{èmes} rayons	14/63	22,2%	8/27	29,6%	p=0,45
Brachybasophalangie 3 ^{èmes} rayons	14/63	22,2%	10/27	37%	p=0,15
Clinodactylie 2 ^{èmes} rayons	22/66	33,3%	17/30	56,7%	p=0,031
Clinodactylie 3 ^{èmes} rayons	14/66	21,2%	11/30	36,7%	p=0,11
Clinodactylie 5 ^{èmes} rayons	43/66	65,2%	17/30	56,7%	p=0,33
Polyphalangies	19/63	30,2%	9/27	33,3%	p=0,77
Pseudoépiphyses	16/63	25,4%	6/27	22,2%	p=0,75
Autres atteintes					
Atteinte des pieds	20/49	40,8%	11/26	42,3%	p=0,9
Taille<-2DS	21/57	36,8%	7/19	36,8%	p=1
Retard d'âge osseux	24/26	92,3%	7/8	87,5%	effectif<8
Anomalies dentaires	19/55	34,5%	1/15	6,7%	p=0,051
Anomalies des hanches	15/61	24,6%	3/19	15,8%	p=0,54
Hyperlaxité	16/62	25,8%	2/17	11,8%	p=0,33
Atteinte vertébrale	5/60	8,3%	2/19	10,5%	effectif<8
Arthrose	6/33	18,2%	0/14	0%	effectif<8
Asymptomatique	3/74	4,1%	4/33	12,1%	effectif<8

Tableau 4 : Fréquence des différentes atteintes des patients présentant une brachydactylie de type C
Les patients de l'article (91) ont été exclus de la colonne littérature car ils font partie de notre cohorte.

2.1.1 Atteinte des extrémités

Les anomalies les plus fréquentes des extrémités (retrouvées dans plus de 50% des cas) sont une brachymésophalangie bilatérale des 2^{èmes}, 3^{èmes} et 5^{èmes} rayons, une brachymétacarpie bilatérale des 1^{ers} rayons et une clinodactylie des 5^{èmes} rayons. Les autres atteintes comme la brachybasophalangie et la clinodactylie des 2^{èmes} et 3^{èmes}

rayons ou la polyphalangie sont relativement moins fréquentes mais assez caractéristiques de la BDC. La polyphalangie est présente chez 30,2% des patients étudiés, elle concerne principalement les phalanges proximales et médianes des 2^{èmes} et 3^{èmes} rayons.

La dysplasie en « ailes d'ange » a une fréquence de 34,9% et touche principalement les phalanges qui sont le plus souvent raccourcies comme les 1^{ers} métacarpiens et les phalanges médianes des 2^{èmes}, 3^{èmes} et 5^{èmes} rayons. Elle est exceptionnellement présente au niveau de la phalange médiane des 4^{èmes} rayons chez un patient. Les pseudo-épiphyses sont présentes chez 25,4% et se situent au niveau de la base des 2^{èmes} métacarpiens.

Les clinodactylies des 2^{èmes} et 3^{èmes} rayons sont habituellement secondaires à une dysplasie de l'articulation de la base des phalanges proximales en *delta* entraînant une déviation des doigts. Cela n'est pas le cas de la clinodactylie des 5^{èmes} rayons, qui est secondaire à une dysplasie intrinsèque de la phalange médiane des 5^{èmes} rayons.

L'atteinte des pieds est présente chez un peu moins de la moitié des patients de notre cohorte et de la littérature, respectivement 40,8% et 42,3%. Elle est extrêmement variable et systématiquement moins sévère que celle des mains. On retrouve, le plus fréquemment, une brachymésophalangie des 2^{èmes}, 3^{èmes}, 4^{èmes} et 5^{èmes} rayons, jusqu'à une agénésie totale pour les formes les plus sévères. On peut parfois observer une atteinte des 1^{ers} métacarpiens ou de la phalange proximale des 1^{ers} rayons. Aucune analyse précise sur la fréquence de chaque atteinte n'a été effectuée au niveau des pieds car les radiographies n'ont été que peu réalisées.

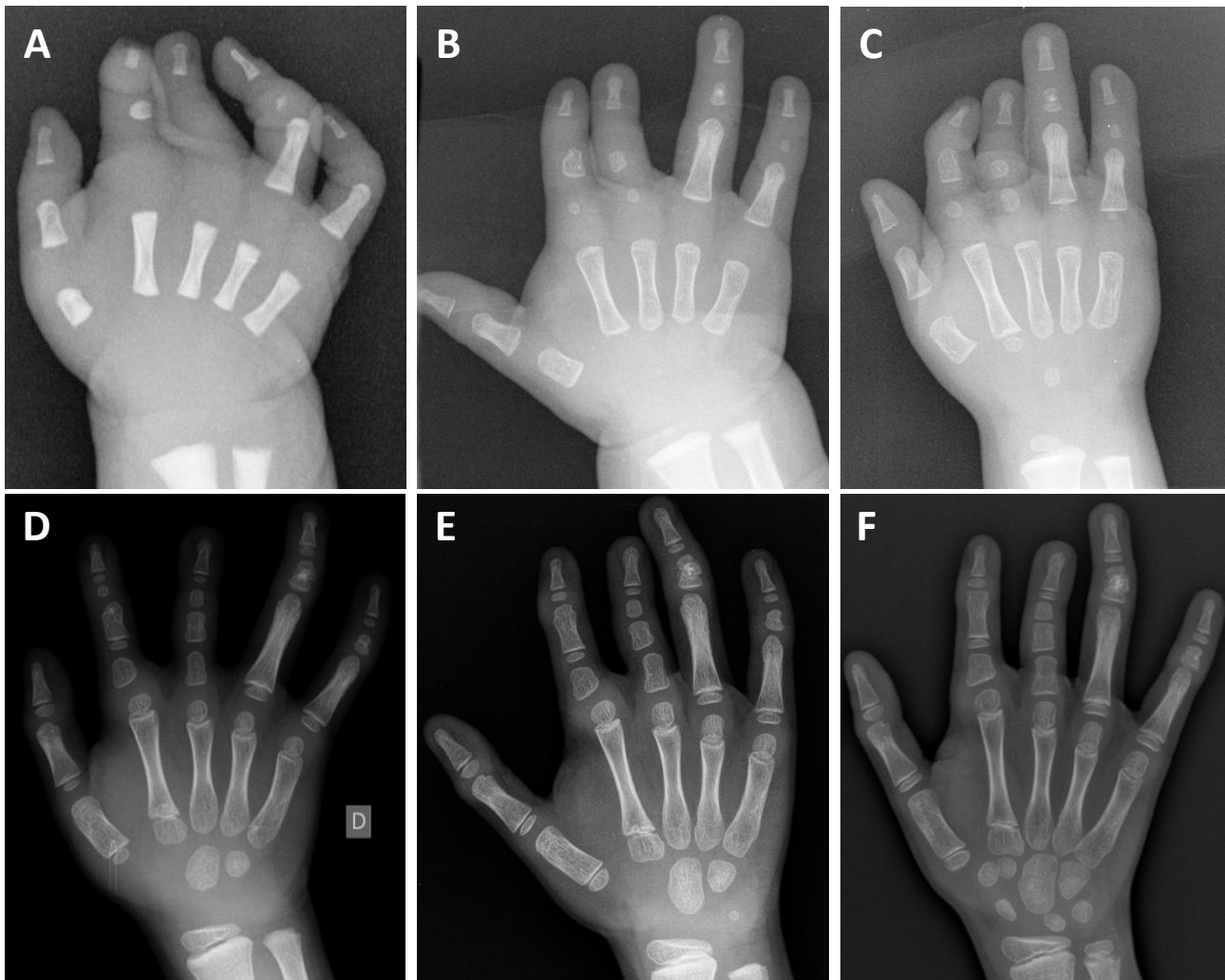


Figure 41 : radiographie de la main droite du patient 10-1 montrant l'évolution de la BDC.

A : 2 mois ; B : 13 mois, apparition d'une dysplasie en ailes d'ange à la phalange médiane du 4^{ème} rayon ; C : 22 mois, apparition d'une pseudoépiphyse à la base du 2^{ème} métacarpien ; D : 6 ans, après chirurgie de réaxation, apparition d'une polyphalangie au niveau de la phalange proximale du 3^{ème} rayon ; E : 8 ans ; F : 11 ans.

La seule différence statistiquement significative mise en évidence concerne les clinodactylies des 2^{èmes} rayons. Elles sont relativement plus fréquentes dans la littérature scientifique comparativement à notre cohorte avec des fréquences respectives de 56,7% dans la littérature *versus* 33,3% dans notre cohorte. Pour les autres atteintes il n'y a pas de différence statistiquement significative mise en évidence au seuil de $p=0,05$.

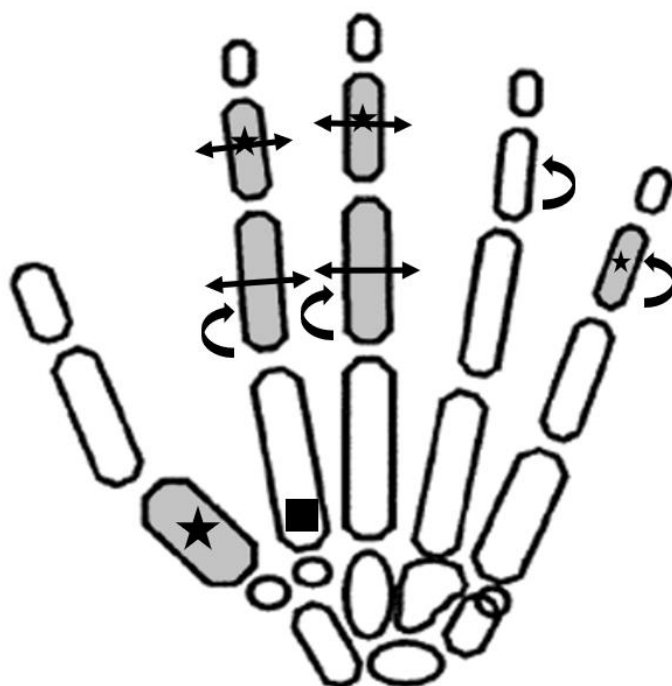


Figure 42 : Schéma représentant les atteintes classiques retrouvées dans la brachydactylie de type C. Les flèches droites indiquent les phalanges atteintes de polyphalangie. Les flèches courbées indiquent les doigts atteints de clinodactylie. Les phalanges en gris indiquent un raccourcissement. Les étoiles indiquent les phalanges atteintes de dysplasie en « ailes d'ange ». Le carré indique la localisation des pseudoépiphyses.

2.1.2 Autres signes cliniques

Le retard statural est présent chez 36,8% des patients de notre étude (21/57) et de la littérature (7/19). Il est systématiquement modéré, toujours supérieur à -3,5 DS, et semble bien répondre à l'administration d'hormone de croissance pour les quelques patients qui en ont bénéficié. La taille moyenne finale chez l'adulte est de -1,2DS (n=17).

L'atteinte la plus fréquente est le retard d'âge osseux. Elle est présente chez 92,3% des patients dont les radiographies étaient disponibles (24/26). La comparaison avec les patients de la littérature n'a pas été possible car le nombre de patient avec mention d'un retard d'âge osseux était trop faible (n<8).

Les atteintes dentaires sont très variables selon les familles, on observe majoritairement des caries et des malpositions dentaires, plus rarement une relative fragilité dentaire ou un retard d'éruption, ainsi que d'autres atteintes rapportées chez

un seul individu : anomalie d'émail, hypoplasie racinaire, agénésie dentaire. Il est de ce fait difficile d'identifier une atteinte caractéristique en lien avec les anomalies de *GDF5*. La fréquence des atteintes dentaires semble néanmoins plus fréquente dans notre cohorte avec 34,5% de patients (19/55) atteints *versus* 6,7% pour la littérature (1/15), cependant cette différence n'est pas statistiquement significative avec $p=0,051$. L'atteinte des hanches est principalement une dysplasie de l'articulation coxo-fémorale mais on observe également des luxations congénitales de hanche ainsi que des ostéochondrites. Elle paraît toucher plus fréquemment les patients de notre cohorte avec 24,6% des patients (15/61) atteints contre 15,8% dans la littérature (3/19), sans que cette différence soit statistiquement significative.

L'hyperlaxité est le plus souvent modérée et n'engendre une gêne fonctionnelle que de manière exceptionnelle. Elle touche plus fréquemment les articulations distales, cependant il est possible qu'elle soit majoritairement proximale. Elle semble plus fréquente dans notre cohorte avec 25,8% des patients atteints (16/62) contre 11,8% dans la littérature (2/17), bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative.

L'atteinte vertébrale touche respectivement 8,3% des patients de notre cohorte (5/60) contre 10,5% des patients de la littérature (2/19). On observe essentiellement des scolioses non sévères chez trois patients de notre cohorte ainsi qu'un patient atteint de spondylolisthésis et un autre présentant une vertèbre surnuméraire avec un défaut de fusion de l'arc postérieur.

L'arthrose est très variable selon les patients et peut toucher différentes articulations : cervicale, digitale, coxarthrose, gonarthrose. Elle est présente chez 18,2% (6/33) des patients de notre cohorte alors qu'elle n'a jamais été mentionnée dans les patients de

la littérature scientifique (0/14). Les patients atteints d'arthrose ont un âge compris entre 35 et 46 ans.

La fréquence des patients asymptomatiques semble plus élevée dans la littérature scientifique avec 12,1% des patients (4/33) comparativement à notre cohorte qui ne comporte que 4,1% de patients asymptomatiques (3/74). Cependant, une analyse statistique n'a pas pu être effectuée par manque d'effectif suffisant.

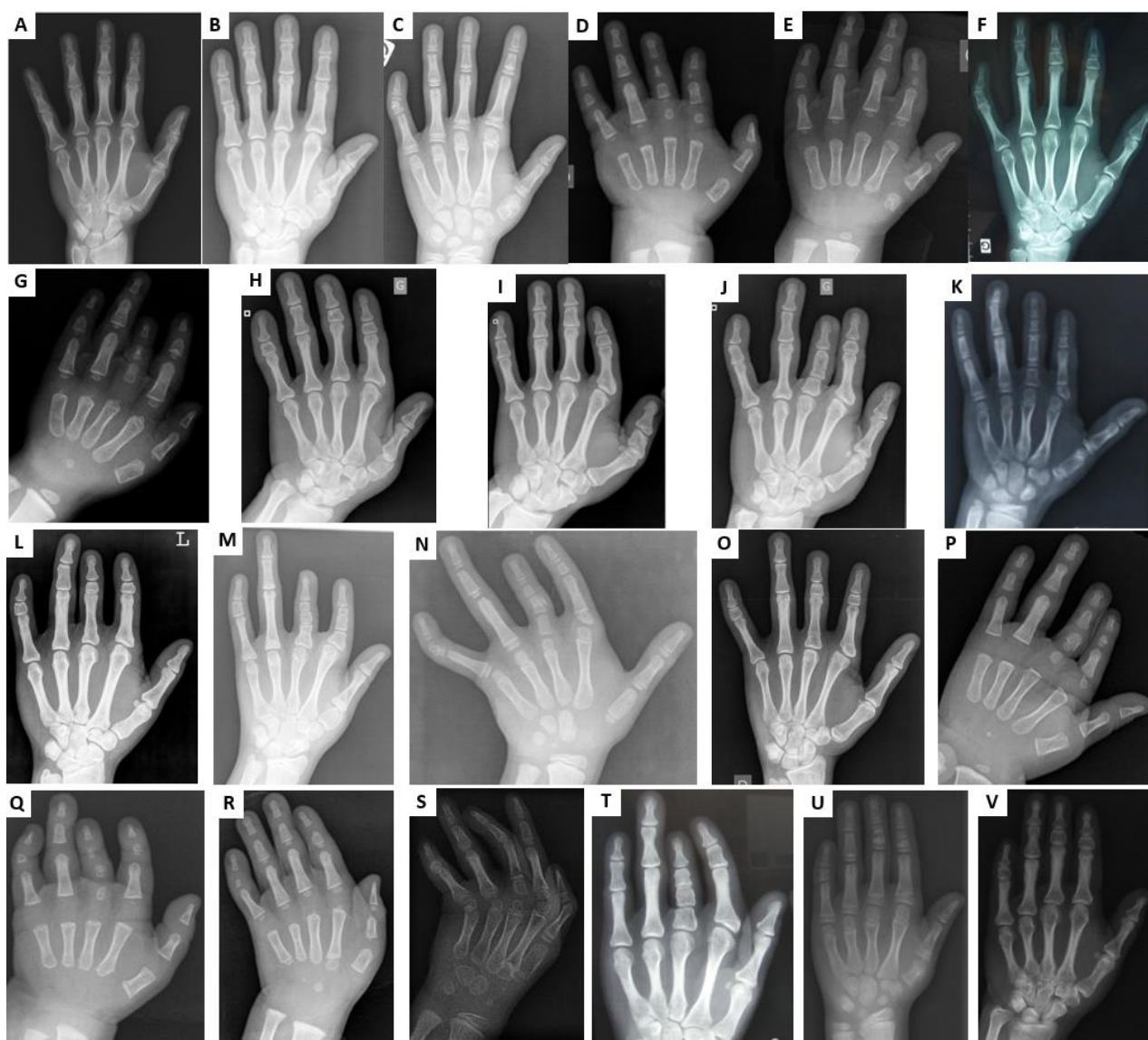


Figure 43 : Radiographie de la main gauche de différents patients de la cohorte.

A : patient 37-2, B : patient 2-1, C : patient 2-2, D : patient 33-3 à l'âge de 1 an, E : patient 42 à l'âge de 1 an, F : patient 31, G : patient 37-1 à l'âge de 27mois, H : patient 18-1, I : patient 18-2, J : patient 18-3, K : patient 20 à l'âge de 8ans et 5mois, L : patient 1-1, M : patient 1-2, N : patient 1-3, O : patient 24, P : patient 38-3, Q : patient 21-1 à l'âge de 10mois, R : patient 3-1 à l'âge de 2 ans, S : patient 11-1 à l'âge de 5ans, T : patient 11-2, U : patient 6-1 à l'âge de 10 ans, V : patient 6-2.

2.1.3 Atteinte par classe d'âge

On remarque que les dysplasies en « ailes d'ange » ainsi que les pseudo-épiphyses ne touchent aucun adulte, elles sont uniquement présentes chez les patients de 0 à 6 ans et de 6 à 18 ans. Cela est cohérent avec le fait que ces anomalies ne sont visibles que lors de la phase de croissance osseuse. Le retard d'âge osseux n'est présent, par définition, que durant la phase de croissance ce qui explique qu'il n'est plus constaté à l'âge adulte.

On observe le phénomène inverse pour l'arthrose qui est seulement présente chez les patients de plus de 18 ans. Ce résultat concorde avec la physiopathologie de l'arthrose qui est plus fréquente chez les personnes âgées.

Les autres signes cliniques ne semblent pas être influencés par l'âge car la proportion de patients atteints ne varie que peu selon les classes d'âge.

Variables		Classe d'âge		
Signes cliniques	Modalité	<6 ans N=23	6-18 ans N=16	>18 ans N=34
Dysplasie en « ailes d'ange »	absent	10 (47,6%)	3 (21,4%)	27 (100%)
	présent	11 (52,4%)	11 (78,6%)	0 (0%)
Brachymétacarpie 1 ^{ers} rayons	absent	2 (9,5%)	3 (21,4%)	9 (33,3%)
	présent	19 (90,5%)	11 (78,6%)	18 (66,7%)
Brachymésophalangie 2 ^{èmes} rayons	absent	4 (19%)	0 (0%)	8 (29,6%)
	présent	17 (81%)	14 (100%)	19 (70,4%)
Brachymésophalangie 3 ^{èmes} rayons	absent	7 (33,3%)	5 (35,7%)	15 (55,6%)
	présent	14 (66,7%)	9 (64,3%)	12 (44,4%)
Brachymésophalangie 5 ^{èmes} rayons	absent	2 (9,5%)	2 (14,3%)	11 (40,7%)
	présent	19 (90,5%)	12 (85,7%)	16 (59,3%)
Brachybasophalangie 2 ^{èmes} rayons	absent	14 (33,3%)	11 (78,6%)	23 (85,2%)
	présent	7 (66,7%)	3 (21,4%)	4 (14,8%)
Brachybasophalangie 3 ^{èmes} rayons	absent	15 (71,4%)	11 (78,6%)	23 (85,2%)
	présent	6 (28,6%)	3 (21,4%)	4 (14,8%)
Clinodactylie 2 ^{èmes} rayons	absent	15 (71,4%)	9 (64,3%)	20 (66,7%)
	présent	6 (28,6%)	5 (35,7%)	10 (33,3%)
Clinodactylie 3 ^{èmes} rayons	absent	13 (61,9%)	11 (78,6%)	27 (90%)
	présent	8 (38,1%)	3 (21,4%)	3 (10%)
Clinodactylie 5 ^{èmes} rayons	absent	4 (19%)	4 (28,6%)	14 (46,7%)
	présent	17 (81%)	10 (71,4%)	16 (53,3%)
Polyphalanges	absent	14 (66,7%)	9 (64,3%)	21 (77,8%)
	présent	7 (33,3%)	5 (35,7%)	6 (22,2%)
Pseudoépiphyses	absent	14 (66,7%)	6 (42,9%)	27 (100%)
	présent	7 (33,3%)	8 (57,1%)	0 (0%)
Atteinte des pieds	absent	11 (68,8%)	7 (63,6%)	10 (47,6%)
	présent	5 (31,3%)	4 (36,4%)	11 (52,4%)
Taille<-2DS	absent	12 (63,2%)	10 (71,4%)	14 (60,9%)
	présent	7 (36,8%)	4 (28,6%)	9 (39,1%)
Retard d'âge osseux	absent	0 (0%)	2 (18,2%)	0
	présent	15 (100%)	9 (81,8%)	0
Anomalies dentaires	absent	12 (75%)	8 (57,1%)	15 (62,5%)
	présent	4 (25%)	6 (42,9%)	9 (37,5%)
Anomalies des hanches	absent	15 (75%)	11 (78,6%)	20 (76,9%)
	présent	5 (25%)	3 (21,4%)	6 (23,1%)
Hyperlaxité	absent	18 (90%)	8 (50%)	20 (80%)
	présent	2 (10%)	8 (50%)	5 (20%)
Atteinte vertébrale	absent	19 (95%)	13 (92,9%)	22 (88%)
	présent	1 (5%)	1 (7,1%)	3 (12%)
Arthrose	absent	0	6 (100%)	21 (80,8%)
	présent	0	0 (0%)	5 (19,2%)
Asymptomatique	absent	23 (100%)	16 (100%)	31 (91,2%)
	présent	0 (0%)	0 (0%)	3 (8,8%)

Tableau 5 : Différents signes cliniques par classe d'âge : <6 ans, 6-18 ans, >18 ans.

2.2 Résultats moléculaires

Trois variations délétères sont retrouvées de manière récurrente dans notre cohorte et la littérature : c.157dupC ; c.498dupC et c.1312C>T.

- La variation c.157dupC a été rapportée chez de nombreux patients de familles différentes : 11-1, 11-2, 17, 18-1, 18-2, 18-3, 22, 34, 41 et (124). On observe le même phénomène pour la variation c.498dupC : 1-1, 1-2, 1-3, 3-1, 3-2, 3-3, 3-4, 26-1, 26-2. Dans le cas de ces deux variations, l'architecture du gène, qui comporte des sites de répétition poly-A ou poly-C en amont, pourrait favoriser les erreurs lors de la réplication, et donc l'ajout ou le retrait d'une base Adénine ou Cytosine. Il s'agit d'un mécanisme bien connu d'apparition de variations récurrentes au sein du génome. On constate par ailleurs, une délétion au niveau du même nucléotide (c.157del) chez les patients 21-1 et 21-2 ce qui est très en faveur de ce mécanisme.
- La 3^{ème} variation, c.1312C>T, est un faux-sens hétérozygote présente également dans des familles différentes : 9, 29-1, 29-2, (88), (90) et (96). Ces familles sont originaires de régions très variées ce qui n'est pas en faveur d'un éventuel effet fondateur. De plus, le mécanisme cité précédemment n'a pas lieu dans la survenue de cette variation car il n'y a pas de site de répétition nucléotidique en amont. Nous pouvons supposer, en nous basant sur le phénotype de BDC observé chez les patients, que cette variation est responsable d'une perte de fonction protéique, sans que cela ait été confirmé sur le plan fonctionnel. Il serait intéressant de réaliser des études fonctionnelles de cette variation afin de mieux comprendre les raisons de sa récurrence et ses conséquences.

3 Symphalangisme proximal de type 1B

3.1 Signes cliniques

Notre cohorte comporte une patiente atteinte de SYM1B. Son père serait également atteint, cependant le séquençage de *GDF5* n'a pas été effectué chez lui, par conséquent il ne fait pas partie de notre cohorte.

Cette patiente numéro 43 présente un début de synostose des articulations interphalangiennes proximales des rayons 2-3-4-5 de manière bilatérale au niveau des mains. Elle présente également une brachymétacarpie, une brachymétatarsie ainsi qu'une dysplasie bilatérale des 1^{ers} rayons.

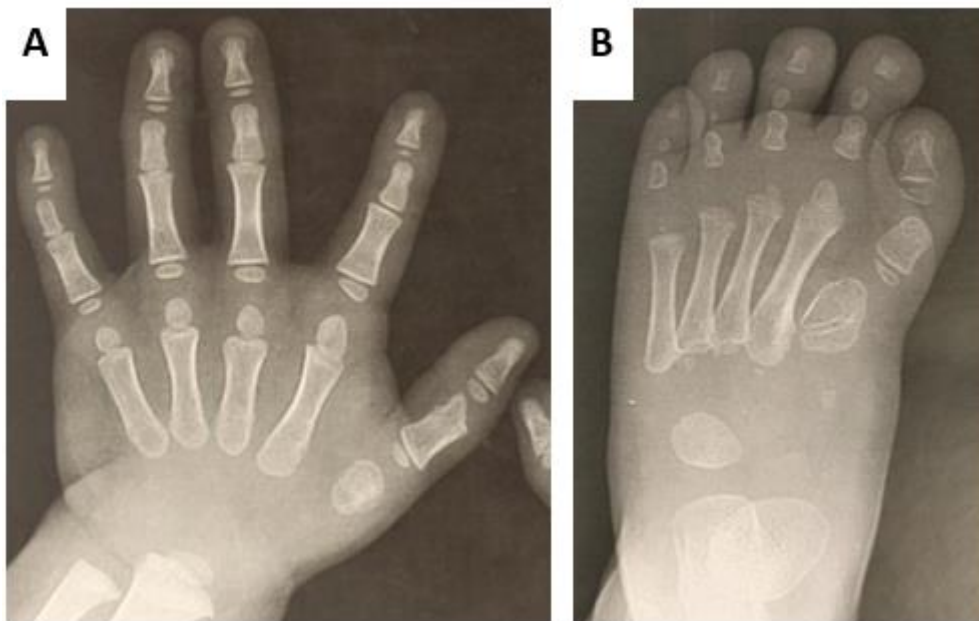


Figure 44 : Radiographie de la main (A) et du pied (B) de la patiente 43.

3.2 Résultats moléculaires

La variation détectée chez la patiente 43 : c.1118T>C, est une variation faux-sens responsable de la modification de la Leucine en position 373 par une Proline. Cette variation se situe au niveau de l'avant-bras dans le prodomaine de la protéine *GDF5/CDMP1*, à proximité du site de clivage. Une variation faux-sens au même codon

responsable de la modification de la Leucine en position 373 en Arginine a été rapportée dans la littérature comme responsable d'un SYM1B (97).

4 Synostoses multiples

4.1 Signes cliniques

La cohorte comprend deux patients d'une même famille présentant un phénotype compatible avec une maladie des synostoses multiples. La patiente 45-1 a été adressée en consultation de génétique en raison d'une fusion des articulations interphalangiennes proximales au niveau des rayons 3-4-5 associée à une rétraction des coudes, une raideur du rachis lombaire et une rétraction des orteils. Le patient 45-2 est le frère de la patiente 45-1 et il présente également une rétraction des doigts et des orteils. Les patients présentent par ailleurs une taille inférieure à -2DS.



Figure 45 : Radiographies patiente 45-1

4.2 Résultats moléculaires

La variation identifiée dans la famille : c.1240T>C, est une variation faux-sens hétérozygote responsable de la modification d'un acide aminé Tryptophane par une

Arginine en position 414. Elle se situe au niveau de la protéine mature et altère un acide aminé impliqué dans la fixation à NOG, BMPR1A et BMPR1B. Cette variation avait déjà été rapportée comme responsable d'une maladie des SYNS2 ainsi que d'une BDA1 (24).

5 Syndrome de Grebe

5.1 Signes cliniques

Notre cohorte comporte deux patients d'une même famille, d'origine pakistanaise, atteints d'un syndrome de Grebe.

Le patient 47-1 est un enfant de 9 ans présentant un raccourcissement huméral, radial et ulnaire associé à une brachydactylie extrême. Au niveau de la main droite il possède 4 doigts possédant une ou deux phalanges, avec un 5^{ème} doigt pédiculé dont l'exérèse a été réalisée chirurgicalement. Au niveau de la main gauche il présente 6 doigts possédant une à deux phalanges, avec une duplication du 5^{ème} doigt. L'atteinte est plus marquée aux membres inférieurs avec des raccourcissements fémoraux, tibiaux et fibulaires associés à une luxation congénitale de hanche. Il présente 5 orteils très courts au niveau du pied droit et 4 orteils au niveau du pied gauche en raison de l'amputation d'un 5^{ème} orteil pédiculé.

Le patient 47-2 est un fœtus, dont la grossesse a été interrompue à 14 semaines d'aménorrhée, après la découverte anténatale de malformations évocatrices d'un syndrome de Grebe. Ce fœtus présentait une agénésie cubitale, un raccourcissement huméral et radial ainsi qu'une hexadactylie au niveau de la main gauche. Il n'y avait pas d'ossification des membres inférieurs mais présence bilatérale de 5 orteils.



Figure 46 : Photographies du patient 47-1

5.2 Résultats moléculaires

La variation retrouvée chez les patients : c.1129C>T, est une variation faux-sens à l'état homozygote responsable de la modification d'une Arginine en position 377 en Tryptophane au niveau du site de clivage de la protéine GDF5/CDMP1. Cette variation a déjà été identifiée à l'état homozygote dans la littérature scientifique comme responsable d'un syndrome de Grebe (134).

6 Syndrome de Du Pan

6.1 Signes cliniques

Notre cohorte comporte une patiente présentant un phénotype évocateur d'un syndrome de Du Pan. La patiente 46 est issue d'un couple apparenté. Elle présente une agénésie des phalanges médianes au niveau des mains ainsi qu'une hypoplasie au niveau des pieds. Elle présente également un retard statural à -3,5DS cependant il

n'a pas été noté d'hypoplasie au niveau des *fibulae*. Elle avait été adressée initialement au laboratoire pour étude du gène *IHH* dans l'hypothèse d'une BDA1.

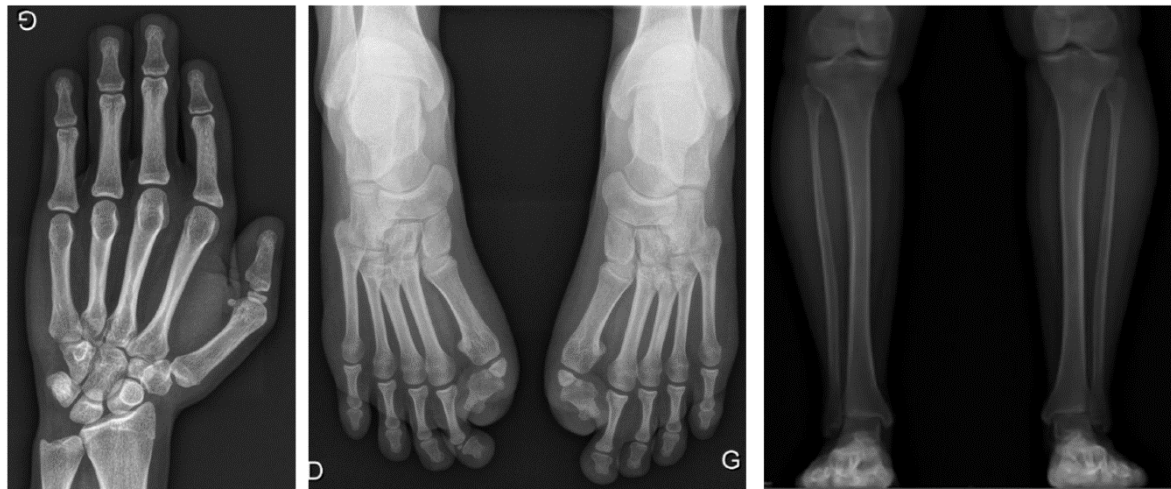


Figure 47 : Radiographie patiente 46.

6.2 Résultats moléculaires

La variation : c.1130G>A a été retrouvée à l'état homozygote. Elle est responsable de la substitution d'une Arginine en position 377 par une Glutamine au niveau du site de clivage de la protéine GDF5/CDMP1. Elle n'a jamais été rapportée dans la littérature scientifique.

7 Etude moléculaire

Trente-quatre variations différentes de *GDF5* ont été identifiées au sein de notre cohorte, dont 27 qui n'avaient jamais été décrites dans la littérature scientifique. Au total, ce sont 76 variations différentes de *GDF5* qui ont été identifiées chez les patients de notre cohorte et de la littérature scientifique jusqu'à présent. Les variations sont réparties en :

- Quarante-trois variations tronquantes réparties tout le long du gène dont une délétion complète du gène.

- Trente et une variations faux-sens situées principalement au niveau de l'avant-bras, du site de clivage et de la protéine mature, dont une variation (c.631G>A) touchant un site accepteur d'épissage. Ces variations faux-sens ont des conséquences variables selon leur localisation et les caractéristiques physico-chimiques de l'acide aminé impliqué. Ces conséquences sont difficiles à prédire et leur interprétation a été effectuée au cas par cas.
- Par ailleurs, la description de plusieurs variations en *cis*, sur le même allèle, (c.1309_1311del ; c.1315T>A ; c.1319A>T), chez un patient présentant un phénotype de syndrome de Du Pan rend l'interprétation très difficile et ces conséquences impossibles à déterminer (121).

Les variations faux-sens, identifiées chez les patients de notre cohorte, situées au sein du domaine mature de la protéine ont été modélisées en 3D à l'aide du logiciel missense 3D. On remarque que, dans la plupart des cas, elles sont responsables d'une modification de conformation de la protéine qui pourrait expliquer leur pathogénicité. Par ailleurs, pour les variations représentées en B et N sur la figure 48 (p.Cys400Tyr et p.Cys498Ser), le changement de conformation de la protéine peut s'expliquer par la rupture d'un pont disulfure car il y a remplacement d'une Cystéine par un autre acide aminé. En ce qui concerne la variation représentée en E (p.Pro436Thr), le logiciel prédit le remplacement d'un isomère Proline en *cis* (*cis*-Proline) par un autre acide aminé, ce qui enlève un acide aminé important pour la conformation protéique. Il est donc très probable que cette variation soit pathogène. Enfin, la variation représentée en D (p.Gly431Arg) concerne une Glycine située dans une courbure protéique, selon le logiciel, cela aboutit à une conformation aberrante avec un score MolProbity clash élevé ce qui est en faveur de son caractère pathogène.

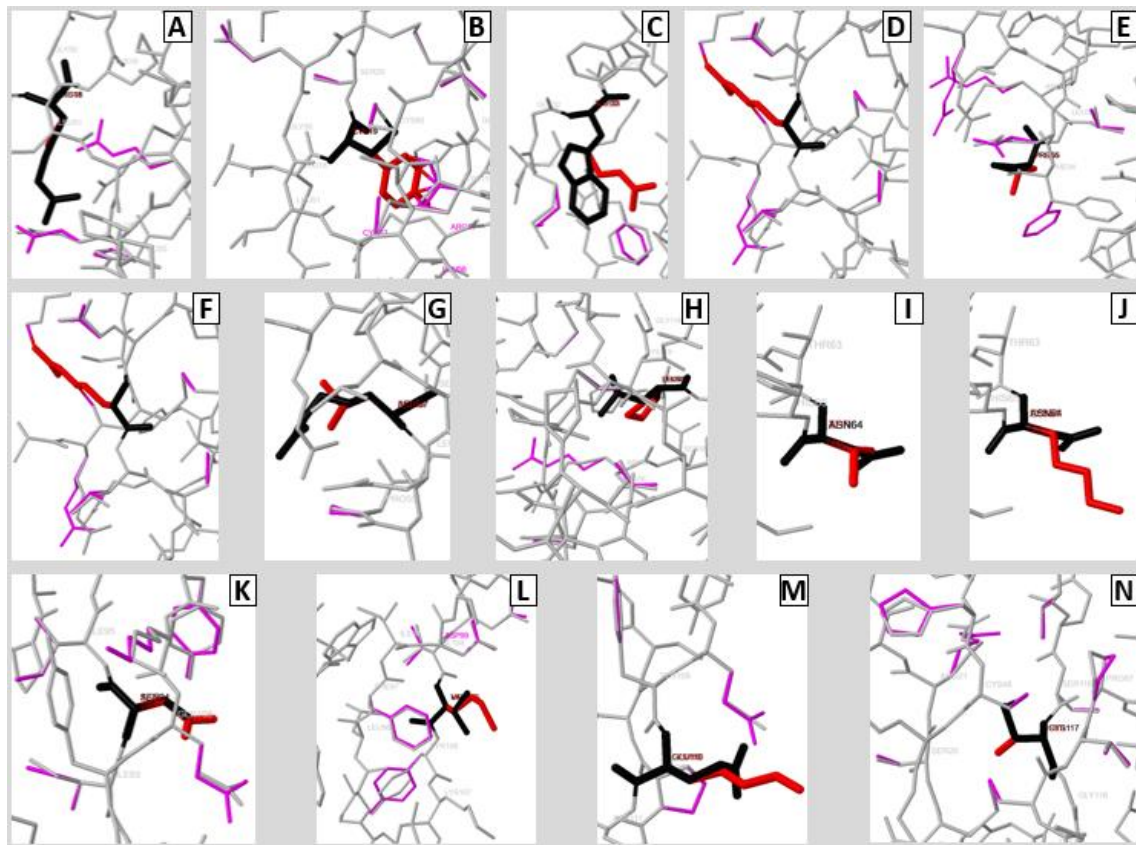


Figure 48 : Schéma représentant la modification de la conformation 3D de la protéine GDF5 en cas de variation faux-sens obtenu à l'aide du logiciel missense 3D (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/>).

La structure de la molécule sauvage est indiquée en gris, l'acide aminé sauvage impliqué est indiqué en noir. La modification de la structure de la protéine mutée est indiquée en rose, l'acide aminé impliqué par la variation est indiqué en rouge. A : p.Arg399Cys, B : p.Cys400Tyr, C : p.Trp414Arg, D : p.Gly431Arg, E : p.Pro436Thr, F : p.Arg438Cys, G : p.Arg438Leu, H : p.Leu441Pro, I : p.Asn445Thr, J : p.Asn445Lys, K : p.Ser475Asn, L : p.Val486Met, M : p.Glu491Lys, N : p.Cys498Ser.

III Discussion

Le recueil d'informations cliniques et moléculaires durant plus de 20 ans par le centre de référence des malformations des membres du CHU de Lille a permis d'établir la plus importante cohorte de patients porteurs d'anomalies du gène *GDF5* connue à ce jour. Après l'application des critères d'exclusion nous avons obtenu une cohorte de 79 patients présentant une variation délétère de *GDF5*. Après le recueil des informations cliniques des différents patients nous avons pu établir une corrélation génotype-phénotype la plus précise possible, ainsi qu'une description des différentes atteintes observées. La fréquence des atteintes a pu être comparée entre les patients de notre cohorte et ceux de la littérature scientifique. Cependant, le seul signe présentant une

différence statistiquement significative dans notre cohorte par rapport aux patients de la littérature est la clinodactylie des 2^{èmes} rayons. Cela peut s'expliquer par un manque de puissance de l'étude. En effet, la problématique d'un faible nombre d'échantillon de patients est récurrente dans le cadre des maladies rares. Il est difficile d'établir une fréquence relative pour les différents signes cliniques à l'aide des patients rapportés dans la littérature compte tenu de leur très faible effectif. De plus, cela expose à de nombreux biais difficilement évitables (absence d'information homogène entre les articles). Nous avons cependant décidé de calculer une fréquence en fonction des patients décrits dans la littérature afin d'avoir un point de comparaison par rapport aux patients de notre cohorte, malgré les nombreuses limites de cette analyse. Toutes ces raisons expliquent que la mise en évidence de variations significatives soit difficile et que la seule différence statistiquement significative soit la clinodactylie des 2^{èmes} rayons. D'autres signes cliniques ont une fréquence probablement différente entre les patients décrits jusqu'à présent et notre cohorte comme la brachymétacarpie des 1^{ers} rayons, les anomalies dentaires ou l'arthrose, cependant cette différence n'a pas été mise en évidence du fait d'un trop faible effectif des patients de la littérature. C'est pourquoi la centralisation des données de patients dans un centre de référence ou la mise en commun des informations cliniques et moléculaires est essentielle afin d'avoir un échantillon suffisant de patients atteints de maladies rares à comparer lors de prochaines études. Ce n'est que grâce à ces étapes de description cliniques détaillées que nous pourrons améliorer la prise en charge de ces pathologies encore trop peu connues.

1 Perte de fonction mono-allélique

Le phénotype typique de l'altération mono-allélique de *GDF5* est la BDC cependant, certaines variations peuvent être responsables d'un phénotype de BDA1 ou BDA2

rendant le diagnostic différentiel difficile. Les atteintes classiques de la BDC sont résumées dans la figure 42. Ces atteintes sont toutes inconstantes et présentent une variabilité inter-individuelle importante, pouvant aller jusqu'à l'absence de symptômes. En reprenant les patients de la littérature décrits comme présentant une BDA1 ou BDA2 en lien avec une anomalie de *GDF5* on remarque qu'il y a systématiquement associé un raccourcissement, parfois modeste, du 1^{er} métacarpien, ce qui n'est pas classique pour une BDA1 ou BDA2. L'étude du 1^{er} métacarpien semble donc être un bon élément d'orientation vers le gène *GDF5* (80,82–84).

Concernant les atteintes associées, chez les patients souffrants de BDC :

- Le retard d'âge osseux est extrêmement fréquent lorsque les radiographies sont réalisées en période de croissance.
- Il est vraisemblable que les fréquences respectives de la dysplasie en "ailes d'ange" et des pseudo-épiphyses sont sous-estimées dans les différentes cohortes car ces deux types d'atteinte sont uniquement visibles à une certaine période du développement des phalanges et ne le sont plus à l'âge adulte, comme le montre notre étude en sous-groupe d'âge. Les radiographies n'étant pas réalisées systématiquement au moment de leur visibilité, il est facile de passer à côté de ces atteintes.
- Concernant les différences respectives de fréquences, observées entre notre cohorte et celle de la littérature, pour l'atteinte dentaire, l'hyperlaxité et l'atteinte des hanches. Elle peut s'expliquer par le fait que ces questions, que nous avons spécifiquement posées dans notre questionnaire clinique (ce qui a permis de compléter le phénotype des patients de notre cohorte), ne l'ont probablement pas été dans d'autres études.

- On observe une proportion de 34,5% de patients souffrant d'une atteinte dentaire dans notre cohorte, cependant les atteintes présentées par les patients sont très variables. Cette variabilité nous interroge sur le lien de causalité de cette atteinte et les anomalies du gène *GDF5*. L'examen orthodontique ainsi que des panoramiques dentaires n'étant que très rarement effectués en consultation de génétique, il serait nécessaire d'étudier plus précisément cette atteinte afin de préciser son lien avec la pathologie des patients.
- L'hyperlaxité étant majoritairement modérée et n'engendrant qu'exceptionnellement une gêne fonctionnelle, il est probable qu'elle soit sous-évaluée.
- Les patients ayant majoritairement consulté ponctuellement en génétique clinique, nous n'avons que peu d'éléments concernant leur suivi. Cela peut expliquer la faible proportion de patients présentant de l'arthrose. Il serait intéressant de mettre en place un suivi longitudinal de ces patients à l'âge adulte afin de dépister et de prendre en charge précocement la survenue d'arthrose.

Concernant le nombre de patients asymptomatiques portant une variation pathogène du gène *GDF5*, on remarque une fréquence supérieure, bien que non significative, dans la littérature par rapport à celle de notre cohorte. Cette différence peut s'expliquer par notre recherche d'exhaustivité. En effet, nous avons systématiquement demandé des radiographies chez les patients décrits comme asymptomatiques. Ceci nous a permis de mettre en évidence des atteintes *a minima*, principalement une brachymétacarpie des 1^{ers} rayons chez plusieurs patients sans plainte fonctionnelle, qui auraient pu aisément être considérés comme non atteints. Par conséquent, la

proportion réelle de patients totalement asymptomatiques est probablement surestimée dans la littérature.

2 Perte de fonction bi-allélique

Les deux patients présentant un syndrome de Grebe ont un phénotype concordant avec la littérature scientifique. Ils présentent une atteinte plus marquée au niveau des membres inférieurs, en particulier au niveau distal. Cela engendre une gêne fonctionnelle importante mais il n'y a aucune atteinte des capacités intellectuelles. Il est intéressant d'observer une polydactylie chez de nombreux patients alors qu'elle n'est jamais présente dans les autres formes cliniques liées aux anomalies du gène *GDF5*.

Concernant la patiente atteinte d'un syndrome de Du Pan, elle présente une agénésie des phalanges médianes qui n'est pas classique. Cette atteinte est plutôt caractéristique d'une BDA1 par perte de fonction hétérozygote du gène *IHH*. Cependant la patiente présente également une dysplasie des phalanges proximales des hallux, en lien avec des phalanges *delta*, ainsi qu'une absence d'hypoplasie des *fibulae*. Ces nombreuses atteintes atypiques font douter de la classification de syndrome de Du Pan, cependant la ressemblance avec le patient de l'article (117), ainsi que les caractéristiques de la variation identifiée à l'état homozygote nous ont amené à ce diagnostic.

A notre connaissance aucun patient présentant un syndrome de Hunter-Thompson, autre que ceux de la description princeps et des indiens Cholos, n'a été rapporté dans la littérature scientifique.

La variabilité inter-individuelle importante, ainsi que le chevauchement de certaines atteintes phénotypiques illustrent bien la difficulté de la classification en une entité

syndromique. Ces syndromes ayant été décrits avant l'apparition des études moléculaires, ils ne sont bien souvent que le reflet de la variabilité phénotypique des variations « perte de fonction » bi-alléliques de *GDF5*, rentant plutôt dans le cadre d'un spectre phénotypique que d'entités différentes.

3 Gain de fonction

Le symphalangisme proximal lié aux variations de *GDF5* est une affection évolutive au cours du temps. Les symptômes apparaissent dans l'enfance avec une augmentation progressive de la gêne fonctionnelle, jusqu'à la fusion totale des articulations interphalangiennes proximales. La patiente de notre cohorte a, par ailleurs, une dysplasie importante des 1^{ers} métacarpiens et métatarsiens qui n'avait pas été rapportée jusqu'à présent. Le syndrome des synostoses multiples évolue de la même manière que le symphalangisme. Il débute dans l'enfance mais ne se limite pas aux seules articulations interphalangiennes. Les patients de notre cohorte ont uniquement une atteinte des phalanges, des coudes et du rachis lombaire et ne souffrent ni d'une autre atteinte articulaire, ni de surdité liée à la fusion des osselets, comme cela est classique dans la maladie des synostoses multiples de type 1. En effet, après une revue exhaustive de la littérature, aucun patient atteint de SYNS2 en lien avec une altération de *GDF5* ne présente de surdité. En revanche, les deux patients de notre cohorte présentent un retard statural.

4 Interprétation moléculaire

Contrairement aux variations tronquantes du gène (non-sens, décalage du cadre de lecture ou de site d'épissage), l'interprétation des variations faux-sens ou des régions non codantes représente une difficulté majeure de la pratique des généticiens.

On constate que les variants délétères situés au niveau des régions codantes de la protéine GDF5/CDMP1 mature sont responsables de phénotypes très différents selon leur localisation au sein du gène. L'amélioration des connaissances sur le rôle des différentes régions de la protéine GDF5/CDMP1 nous a permis d'améliorer l'interprétation des variations et l'établissement d'une corrélation génotype-phénotype, qui reste malgré tout incomplète. Ce travail est caractéristique de l'effort que les généticiens vont devoir fournir à l'avenir afin de préciser les différents phénotypes en relation avec un même gène.

Ainsi, de nombreuses variations faux-sens hétérozygotes situées au niveau du prodomaine dans la région de l'avant-bras, du site de clivage et de la protéine mature GDF5 ont été rapportées dans littérature et dans notre cohorte.

4.1 Variations situées au niveau de l'avant-bras (LAP)

Les variations au sein de l'avant-bras (LAP) de la protéine sont responsables principalement d'un phénotype de BDC ou de syndrome de Grebe. Cela suggère un mécanisme de perte de fonction qui pourrait être expliqué par différentes hypothèses :

- La première est un défaut de liaison aux protéines LTBP et une absence de sécrétion de la protéine GDF5/CDMP1 selon le mécanisme démontré par *Farooq et al.* (23). En effet, les variations c.517A>C (p.Met173Leu) (78), c.527T>C (p.Leu176Pro) (23), c.608C>A (p.Thr203Asn) (77) et c.612C>A (p.Ser204Arg) (88), sont situées au niveau des acides aminés prédits comme stabilisateurs de l'avant-bras ce qui pourrait expliquer le mécanisme à l'origine d'une perte de fonction. Cette hypothèse a été validée pour la variation (p.Leu176Pro) qui est responsable d'une diminution de l'activité des

phosphatases alcalines, qui sont le reflet du processus de chondrogénèse et permettent de mesurer indirectement l'activité de GDF5/CDMP1 (23).

- La seconde hypothèse est celle d'une perte d'affinité pour les récepteurs BMPR1A et BMPR1B. En effet, même si les autres variations faux-sens situées dans cette région : c.601A>C (p.Thr201Pro) (94), c.704T>C (p.Leu235Pro) (132), c.788T>C (p.Leu263Pro) (94), ne sont pas prédites comme altérant un site stabilisateur de l'avant-bras, les analyses fonctionnelles effectuées sur certaines d'entre elles (p.Leu201Pro ; p.Leu263Pro), ont révélé une diminution de l'activité de la voie dépendante de SMAD par diminution de l'interaction avec BMPR1A et surtout BMPR1B (94).
- La dernière hypothèse expliquant une perte de fonction est l'augmentation de la dégradation des protéines mutées par des protéases responsables d'une demi-vie plus courte.

Ces études fonctionnelles couplées à l'analyse des interactions 3D de la protéine nous permettent d'améliorer l'interprétation des conséquences de ces variations, bien qu'elles demeurent encore imparfaites.

4.2 Variations situées au niveau ou à proximité du site de clivage

De nombreux variants faux-sens hétérozygotes délétères, responsables de phénotypes variables, sont situés à proximité ou au niveau du site de clivage. Les arguments en faveur de leur pathogénicité sont forts car ils modifient la séquence extrêmement conservée du site de clivage. Cependant, les mécanismes à l'origine des différents phénotypes restent difficiles à prédire, d'où l'importance des études fonctionnelles ou de conformation protéique (84,117).

Plusieurs logiciels de représentation de la conformation 3D de la protéine ont permis de prédire les acides aminés impliqués dans les interactions de GDF5/CDMP1 avec ses récepteurs BMPR1B, BMPR1A et son inhibiteur NOG.

Ces prédictions sont particulièrement utiles concernant la variation c.1240T>C (p.Trp414Arg) qui est responsable simultanément d'une BDA1 évocatrice d'une perte de fonction et de synostoses évocatrices d'un gain de fonction. Cette variation, située sur un acide aminé impliqué dans l'interaction avec NOG, BMPR1A et BMPR1B, est responsable à la fois d'une perte de sensibilité à l'inhibiteur NOG (donc d'un gain de fonction) et d'une perte d'affinité pour les récepteurs BMP (donc d'une perte de fonction) (24).

D'autres altérations des acides aminés impliqués dans les interactions avec les récepteurs BMP ont été rapportées comme responsables de BDA2 : c.1322T>C (p.Leu441Pro) ou de symphalangisme c.1313G>T (p.Arg438Leu) (82). C'est également le cas pour les variations responsables de synostoses multiples dont l'acide aminé modifié est uniquement en interaction avec NOG c.1334A>C/c.1335T>G (p.Asn445Thr/Lys) (116).

Nous n'avons pas identifié, dans notre cohorte, de variation pathogène située dans les régions non codantes de *GDF5*, car elles ne sont pas étudiées dans un cadre diagnostique. Or, l'implication récente de facteurs de susceptibilité d'arthrose au sein de la région 5'UTR du gène doit nous questionner sur la possibilité de variations non-codantes à l'origine de pathologies de transmission monogénique. De plus, la découverte des régions régulatrices de *GDF5*, chacune spécifique d'un type d'articulations, pourrait permettre de compléter les analyses moléculaires chez les patients ayant un phénotype très fortement évocateur de pathologie liée au gène *GDF5* et sans variation délétère identifiée.

CONCLUSION

Notre étude d'une importante cohorte de 79 patients présentant une variation du gène *GDF5* a permis de préciser la fréquence des différentes atteintes phénotypiques, en cas de brachydactylie. La synthèse et l'interprétation systématique des variations moléculaires rapportées jusqu'à présent constituent une aide à l'interprétation et à la corrélation génotype-phénotype des futures variations à identifier.

Ce travail reflète la difficulté de l'interprétation clinique et moléculaire des variations présentes au sein d'un même gène. Avec l'amélioration des capacités de séquençage et l'augmentation des données que cela va générer, la mise en commun et la centralisation des informations cliniques, en lien avec une altération moléculaire, va devenir essentielle afin d'aider les généticiens dans leur interprétation. Cela illustre l'importance de la relation entre les cliniciens et les biologistes, qui se traduit dans notre centre de référence par des réunions clinico-biologiques, afin d'avancer dans les interprétations difficiles. Ce travail va permettre de mieux connaître la fréquence et les différentes atteintes liées aux anomalies du gène *GDF5* et pourra guider les cliniciens dans la surveillance et le traitement de ces patients.

Au sein du laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Lille, nous possédons actuellement 12 échantillons de patients avec un phénotype compatible avec une brachydactylie de type C sans variant délétère identifié au niveau de ce gène et des autres gènes connus pour être responsables de brachydactylies ou impliqués dans la voie de signalisation de *GDF5/CDMP1*. Il serait intéressant d'étudier, chez ces patients, les éléments régulateurs et les séquences non-codantes du gène *GDF5* afin de compléter les analyses à l'aide des nouvelles connaissances scientifiques à notre disposition.

Annexe 1 : Fiche de renseignements clinique envoyée aux prescripteurs

PATIENT : NOM :

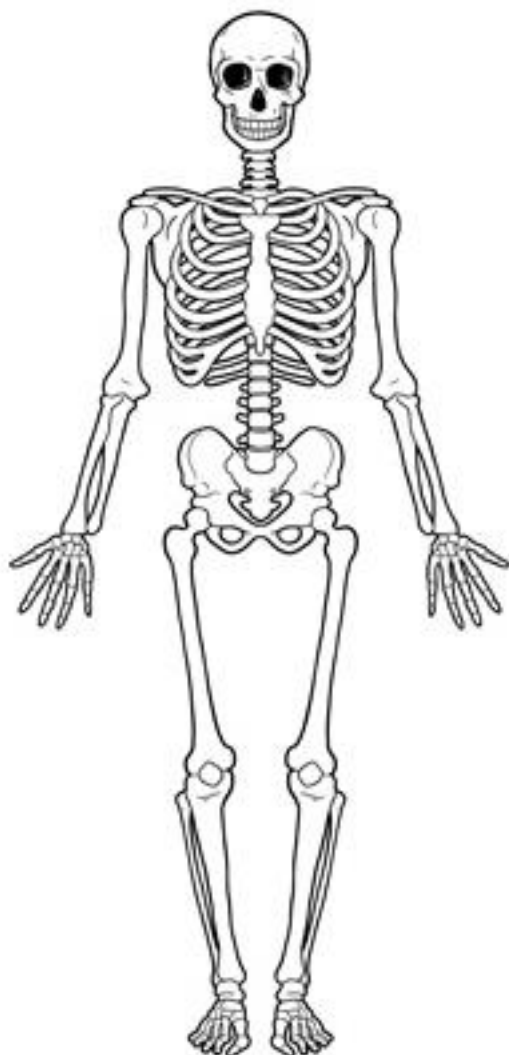
PRENOM :

DATE DE NAISSANCE :

Phénotype du patient :

- ☐ Symphalangisme
- ☐ Synostoses multiples
- ☐ Brachydactylie de type A1
- ☐ Brachydactylie de type A2
- ☐ Brachydactylie de type C
- ☐ Dysplasie en aile d'ange
- ☐ Dysplasie acro-mésomélique de Hunter-Thompson
- ☐ Syndrome de Du Pan
- ☐ Chondrodysplasie de type Grebe
- ☐ Arthrose précoce

Anomalies squelettiques :



Si possible, notez l'atteinte sur le schéma

- Barrez les éléments absents
- Noircissez les éléments hypoplasiques
- Hachurez les éléments fusionnés
- Noter A en cas d'arthrose
- Notez D en cas de dysplasie

1) Atteinte Rhizomélique :

- ☐ Fémur :
- ☐ Humérus :
- ☐ Hanche : ☐ Dysplasie de hanche
 - ☐ Ostéocondrite
 - ☐ Luxation congénitale
 - ☐ Autre :
- ☐ Epaule :

2) Atteinte Mésomélique :

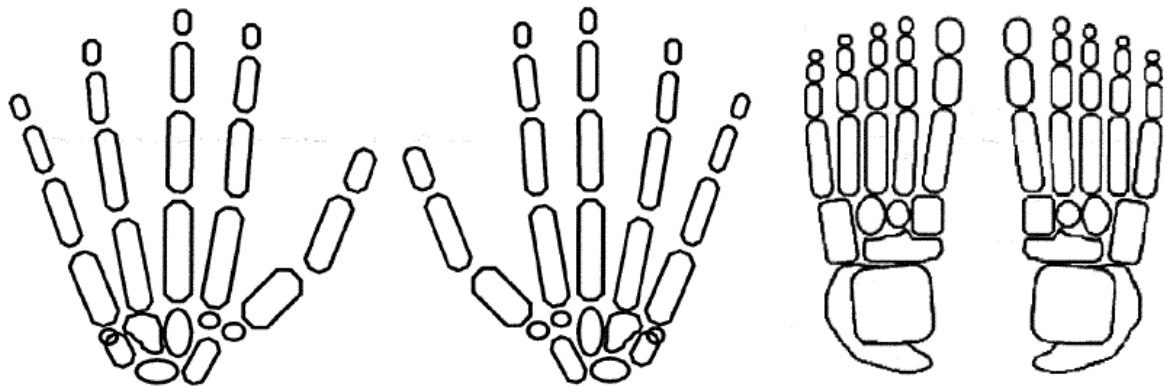
- ☐ Radius :
- ☐ Ulna :
- ☐ Tibia :
- ☐ Fibula :
- ☐ Patella:
- ☐ Genou :
- ☐ Coude : ☐ Luxation de la tête radiale ☐ Autre

3) Atteinte Acromélique

- ☐ Poignet : ☐ Malformation de Madelung ☐ Autre
- ☐ Cheville :
- ☐ Anomalie du carpe :
- ☐ Anomalie du tarse :
- ☐ Pieds plats/creux
- ☐ Déviation cubitale du II
- ☐ Déviation cubitale du III
- ☐ Clinodactylie du V

Si possible, notez l'atteinte sur le schéma

- Barrer les éléments absents
- Noircissez les éléments hypoplasiques
- Hachurez les éléments fusionnés
- Ajouter un élément en cas de polydactylie
- Notez PP en cas de polyphalangie
- Notez AA en cas de dysplasie en aile d'ange



4) Atteinte vertébrale :

- ☐ Scoliose
- ☐ Spondylolisthesis
- ☐ Fusion vertébrale

Précisez l'atteinte :

5) Arthrose : ☐ OUI ☐ NON

Segment(s) atteint(s) :

Age d'apparition :

ATCD familial :

6) Autre :

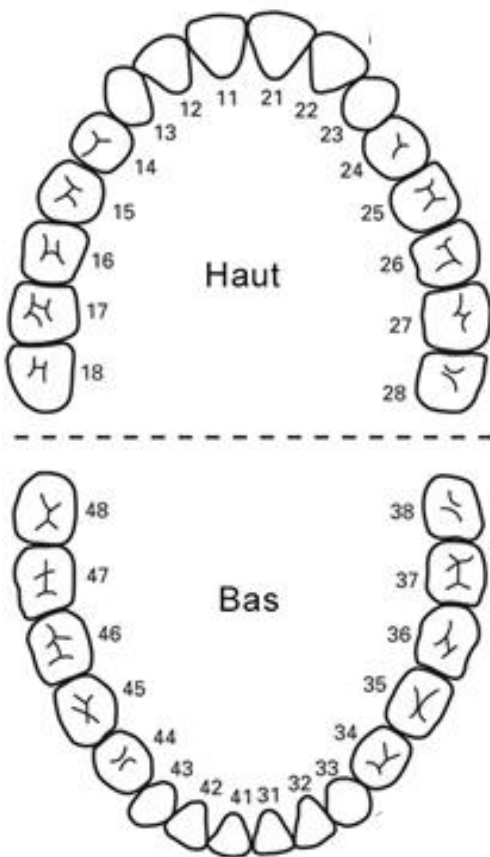
- ☐ Hyperlaxité :
- Segment(s) atteint(s) :
- ☐ Rétraction articulaire :
- Segment(s) atteint(s) :

☐ Entorses à répétition :

Segment(s) atteint(s) :

Anomalies dentaires :

Si possible, notez les dents atteintes sur le schéma



1) Anomalie du développement

☐ Agénésie dentaire

Indiquez le nombre :

☐ Micro/Macrodontie

☐ Anomalie de forme

Précisez :

2) Anomalie d'éruption

☐ Retard d'éruption

☐ Eruption précoce

☐ Malposition dentaire

☐ Perte précoce

☐ Ankylose

3) Anomalie de structure

☐ Email

☐ Dentine

☐ Cément

☐ Caries fréquentes

Précisez :

Autres Anomalies :

Mensurations en DS : Poids

Taille

Périmètre Crânien

Retard d'âge osseux ☐

Retard staturo-pondéral ☐

Surdité ☐

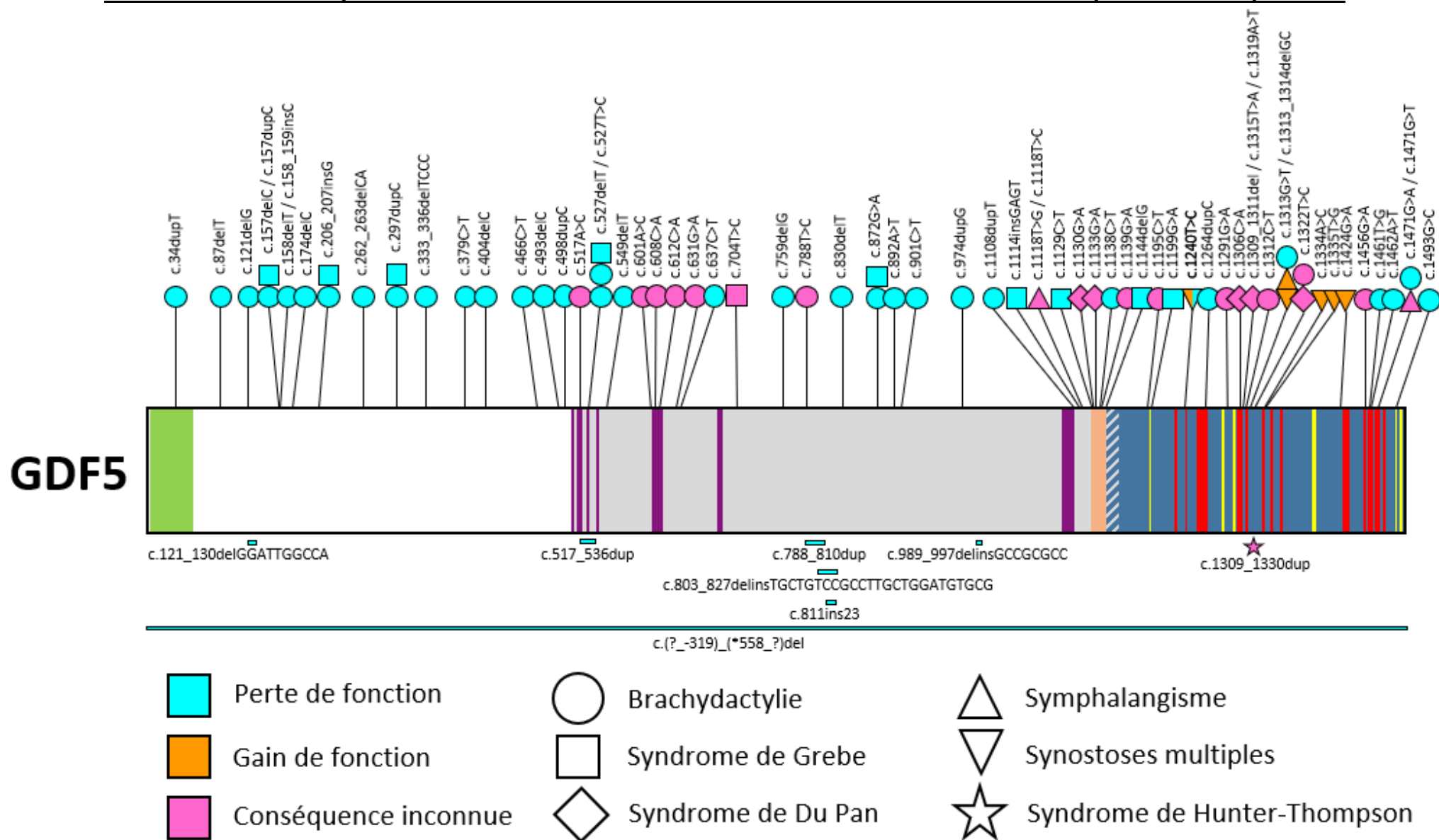
Dysmorphie ☐

Autres malformations :

Arbre Généalogique :

Pénétrance incomplète ☐

Annexe 2 : Schéma représentant les variations identifiées et leur localisation au sein de la protéine GDF5/CDMP1



Annexe 3 : Tableau des différentes variations pathogènes identifiées au sein du gène *GDF5*

Mutation	Protéine	Type	Statut	Pathogénicité	Localisation	Phénotype	Patient
c.34dupT	p.Trp12LeufsTer19	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	signal peptide	BDC/BDE	pt 25-1, pt 25-2, pt 25-3
c.87delT	p.Asp30ThrfsTer57	décalage du cadre de lecture	htz	classe 4	prodomaine	BDC	pt 13-1, pt 13-2
c.121delG	p.Gly41AspfsTer46	décalage du cadre de lecture	htz	classe 4	prodomaine	BDC	(87) et (90)
c.121_130delGGATTGGCCA	p.Gly41LysfsTer43	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	pt 30
c.157dupC	p.Leu53ProfsTer41	décalage du cadre de lecture	hmz	classe 5	prodomaine	BDC/Grebe	pt 11-1, pt 11-2, pt 17, pt 18-1, pt 18-2, pt 18-3, pt 22, pt 34, pt 41 et (124)
c.157delC	p.Leu53TrpfsTer34	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	pt 21-1, pt 21-2
c.158delT	p.Leu53ArgfsTer34	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(88) et (89)
c.158_159insC	p.Ala54GlyfsTer40	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(88)
c.174delC	p.Phe58LeufsTer29	décalage du cadre de lecture	htz	classe 4	prodomaine	BDC	pt 7
c.206_207insG	p.Thr70HisfsTer24	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(79), (88) et (90)
c.206_207insG	p.Thr70HisfsTer24	décalage du cadre de lecture	hmz	classe 5	prodomaine	Grebe	(130)
c.262_263delCA	p.Gln88AlafsTer5	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	pt 32
c.297dupC	p.Arg100GlnfsTer6	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	pt 2, pt 15
c.297dupC	p.Arg100GlnfsTer6	décalage du cadre de lecture	hmz	classe 5	prodomaine	Grebe	(123) et (131)
c.333_336delTCCC	p.Pro112LysfsTer10	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	pt 28
c.379C>T	p.Gln127Ter	non-sens	htz	classe 5	prodomaine	BDC	pt 16-1, pt 16-2
c.404delC	p.Pro135GlnfsTer12	décalage du cadre de lecture	htz	classe 4	prodomaine	BDC	pt 19 et (92)
c.466C>T	p.Arg156Ter	non-sens	htz	classe 5	prodomaine	BDC	pt 8-1, pt 8-2, pt 8-3
c.493delC	p.Ile167SerfsTer26	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	(87)
c.498dupC	p.Ile167HisfsTer18	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine	BDC	pt 1-1, pt 1-2, pt 1-3, pt 3-1, pt 3-2, pt 3-3, pt 3-4, pt 26-1, pt 26-2, pt 39
c.517A>C	p.Met173Leu	faux-sens	hmz	classe 4	stabilisateur avant-bras	BDC	(78)
c.517_536dup	p.Leu180CysfsTer20	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	pt 33-1, pt 33-2, pt 33-3
c.527delT	p.Leu176ArgfsTer17	décalage du cadre de lecture	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	(93)
c.527T>C	p.Leu176Pro	faux-sens	htz	classe 4	stabilisateur avant-bras	BDC	(23)
c.527T>C	p.Leu176Pro	faux-sens	hmz	classe 4	stabilisateur avant-bras	Grebe	(23)
c.549delT	p.Asp184ThrfsTer9	décalage du cadre de lecture	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	pt 37-1, pt 37-2
c.601A>C	p.Thr201Pro	faux-sens	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	(94)
c.608C>A	p.Thr203Asn	faux-sens	hmz	classe 4	stabilisateur avant-bras	BDC	(77)
c.612C>A	p.Ser204Arg	faux-sens	htz	classe 3	stabilisateur avant-bras	BDC	(88)
c.631G>A	p.Asp211Asn	faux-sens/épissage	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	pt 38-1, pt 38-2, pt 38-3
c.637C>T	p.Arg213Ter	non-sens	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	pt 14, pt 20, pt 48
c.704T>C	p.Leu235Pro	faux-sens	hmz	classe 3	prodomaine/avant-bras	Grebe	(132)
c.759delG	p.Ala254ProfsTer10	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	(90)
c.788T>C	p.Leu263Pro	faux-sens	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	(94)
c.788_810dup	p.Gly271Ter	non-sens	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	pt 10-1, pt 10-2, pt 10-3
c.803_827delins25	p.Cys268_5er276delins9	faux-sens	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	BDC	(95)
c.811ins23		décalage du cadre de lecture			prodomaine/avant-bras	BDC	(88)
c.830delT	p.Leu277CysfsTer176	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	(88)

Mutation	Protéine	Type	Statut	Pathogénicité	Localisation	Phénotype	Patient
c.872G>A	p.Trp291Ter	non-sens	hmz	classe 5	prodomaine/avant-bras	Grebe	(124)
c.892A>T	p.Lys298Ter	non-sens	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	pt 4-1, pt 4-2, pt 24
c.901C>T	p.Arg301Ter	non-sens	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	(90)
c.974dupG	p.Gly326TrpfsTer31	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	pt 31
c.989_997delinsGCCGCGCC	p.Asp330GlyfsTer123	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	pt 40
c.1108dupT	p.Tyr370LeufsTer2	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	prodomaine/avant-bras	BDC	pt 36
c.1114insGAGT	p.Tyr372Ter	non-sens	hmz	classe 5	prodomaine/avant-bras	Grebe	(125) et (133)
c.1118T>G	p.Leu373Arg	faux-sens	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	SYM1B	(97)
c.1118T>C	p.Leu373Pro	faux-sens	htz	classe 4	prodomaine/avant-bras	SYM1B	pt 43
c.1129C>T	p.Arg377Trp	faux-sens	hmz	classe 4	Site de clivage	Grebe	pt 47-1, pt 47-2 et (134)
c.1130G>A	p.Arg377Gln	faux-sens	hmz	classe 4	Site de clivage	Du Pan	pt 46
c.1133G>A	p.Arg378Gln	faux-sens	htz cp	classe 4	Site de clivage	Du Pan	(117)
c.1138C>T	p.Arg380Trp	faux-sens	htz	classe 4	Site de clivage	BDC	pt 27
c.1139G>A	p.Arg380Gln	faux-sens	htz	classe 4	Site de clivage	BDA2	(85)
c.1144delG	p.Ala382Thr	décalage du cadre de lecture	htz cp	classe 5	Site de clivage	Grebe	(123)
c.1195C>T	p.Arg399Cys	faux-sens	hmz	classe 4	protéine mûre	BDA1	(80)
c.1199G>A	p.Cys400Tyr	faux-sens	hmz/htz cp	classe 4	cystéine conservée	Grebe	(123)
c.1240T>C	p.Trp414Arg	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	BDA1/SYN52	pt 45-1, pt 45-2 et (24)
c.1264dupC	p.Leu422ProfsTer2	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	Site de fixation NOG	BDC	pt 12
c.1291G>A	p.Gly431Arg	faux-sens	htz	classe 4	protéine mûre	BDC	pt 42
c.1306C>A	p.Pro436Thr	faux-sens	htz cp	classe 4	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	Du Pan	(117)
c.1309_1311del/c.1315T>A/c.1319A>T	p.?	?	cis	classe 3	Site de fixation/BMPR1A/BMPR1B	Du Pan	(121)
c.1309_1330dup	p.Thr444IlefsTer44	décalage du cadre de lecture	hmz	classe 5	protéine mûre	Ht-Th	(129)
c.1312C>T	p.Arg438Cys	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	BDC	pt 9, pt 29-1, pt 29-2, (88), (90) et (96)
c.1313G>T	p.Arg438Leu	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	SYM1B/SYN52	(82), (102) et (114)
c.1313_1314delGC	p.Arg438LeufsTer42	décalage du cadre de lecture	htz	classe 5	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	BDC/SYM1B	pt 44-1, pt 44-2
c.1322T>C	p.Leu441Pro	faux-sens	htz	classe 4	protéine mûre	BDA2	(82) et (83)
c.1322T>C	p.Leu441Pro	faux-sens	hmz	classe 4	protéine mûre	Du Pan	(118)
c.1334A>C	p.Asn445Thr	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG	SYN52	(116)
c.1335T>G	p.Asn445Lys	faux-sens	htz	classe 5	Site de fixation NOG	SYN52	(116)
c.1424G>A	p.Ser475Asn	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation BMPR1A/BMPR1B	SYN52	(115)
c.1456G>A	p.Val486Met	faux-sens	hmz	classe 4	protéine mûre	BDC	(77)
c.1461T>G	p.Tyr487Ter	non-sens	htz	classe 5	Site de fixation NOG	BDC	(97)
c.1462A>T	p.Lys488Ter	non-sens	htz	classe 5	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	BDC	pt 5
c.1471G>A	p.Glu491Lys	faux-sens	htz	classe 4	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	SYM1B	(113)
c.1471G>T	p.Glu491Ter	non-sens	htz	classe 5	Site de fixation NOG/BMPR1A/BMPR1B	BDC	pt 35
c.1493G>C	p.Cys498Ser	faux-sens	htz	classe 4	cystéine conservée	BDC	(88)
c.(?-319)(*558_?)del	p.?	délétion	htz	classe 5	absence de gène	BDC	pt 6-1, pt 6-2, pt 23

Annexe 4 : Tableau des signes cliniques des patients de la cohorte atteints de brachydactylie

patient	sexe	âge	AA	BD M1	BD P2 D2	BD P2 D3	BD P2 D5	BD P1 D1	BD P1 D2	BD P1 D3	clino D2	clino D3	clino D5	poly phalangie	pseudo épiphyse	pied	T>-2DS	retard AO	dentaire	hanche	hyperlaxité	vertébrale	arthrose	asymptomatique	Autre
pt 1-2	F	14 ans	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	P1 D2, P2 D3	0	0	0	0	0	0	0	surnuméraire défaut fusion arc post	0	0	0
pt 1-3	M	10 ans	P2 D5	1	1	1	1	0	0	0	dysplasie articulation	0	1	P1 D3	0	polyphalangie D4 D5	0	1	caries	ostéo chondrite	0	0	0	0	0
pt 1-1	F	42 ans	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	BD P2 D2 D3 D4 agénésie P2 D5	0	nd	1	douleurs	0	0	cervicale	0	0
pt 2-2	F	10 ans	M1, P2 D2 D5	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	malposition	0	1	0	0	0	0
pt 2-3	M	16 ans	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	nd	0	0	0	0	1	0	0	0	0
pt 2-1	M	42 ans	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	nd	nd	malposition	pincement coxo-fémoral	1	0	coxarthrose	0	0
pt 3-2	F	48 ans	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	0
pt 3-3	F	26 ans	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	agénésie P2 D5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	0
pt 3-4	F	46 ans	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	hallux valgus	1	nd	fragilité	0	0	0	gonarthrose digitale	0	0
pt 3-1	M	2 ans	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	nd	0	nd
pt 4-2	F	34 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0
pt 4-1	F	4 ans	M1 P2 D2 D5	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	nd	1	1	retard éruption	0	0	0	nd	0	nd
pt 5	F	32 ans	0	1	1+D1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	nd	caries	0	0	0	0	0	0
pt 6-2	F	11 ans	M1 P2 D2 D3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	nd	0	0
pt 6-1	F	45 ans	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	nd	0	0	0	0	0	0	0
pt 7	F	49 ans	0	0	0	1+D4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	nd	0	0	0	0	0	0	0
pt 8-2	F	15 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	BD D2	nd	nd	nd	nd	distale	nd	nd	0	0
pt 8-3	M	43 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	0	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0

patient	sexe	âge	AA	BD M1	BD P2 D2	BD P2 D3	BD P2 D5	BD P1 D1	BD P1 D2	BD P1 D3	clino D2	clino D3	clino D5	poly phalangie	pseudo épiphyse	pied	T>-2DS	retard AO	dentaire	hanche	hyperlaxité	vertébrale	arthrose	asymptomatique	Autre
pt 8-1	M	8 ans	0	0	1	1	1	1	0	0	dysplasie articulation	1	1	D2 D3	1	0	0	1	0	0	distale	0	nd	0	0
pt 9	F	4 ans	P2 D2 D3 D5, P1 D1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	nd	0	0
pt 10-2	M	33 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	0	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	nd
pt 10-3	M	7 ans	P2 D2 D5	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	caries	0	0	0	nd	0	curetage carti D2 D5
pt 10-1	M	2 jours	P2 D4	1	1	1	1	0	1	1	dysplasie articulation	dysplasie articulation	1	P1 D2 D3	1	0	0	1	0	0	0	0	nd	0	0
pt 11-2	F	nd	0	1	1	1	0	0	0	1	dysplasie articulation	0	0	P1 D3	1	0	1	nd	0	LCH	luxation recurvatum genoux	0	coarthrose	0	0
pt 11-1	F	3 ans	0	1	0	0	0	0	0	0	dysplasie articulation	dysplasie articulation	1	P1 D3	1	0	1	1	0	coxa valga	rétraction médianes	0	nd	0	0
pt 12	F	33 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
pt 13-2	M	31 ans	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	BD P2 D2, clino D5	0	nd	0	0	0	0	0	0	
pt 13-1	F	21 mois	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	BD P1 P2 D1, BD P2 D4 D5	1	1	0	dysplasie	0	0	nd	0	0
pt 14	M	8 ans	M1	1 + M2	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	caries anomalie email	dysplasie ostéo chondrite	distale	0	0	0	DI
pt 15	M	16 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1	nd	nd	0	nd
pt 16-2	F	34 ans	0	1	1	1	1	0	0	0	dysplasie articulation	0	1	P1 D2	0	0	0	nd	malposition	0	modérée	0	0	0	0
pt 16-1	F	5 ans	P2 D1	1	1	1	1	0	0	0	dysplasie articulation	dysplasie articulation	1	P1 D3	1	0	0	nd	malposition	0	distale	scoliose	nd	0	0
pt 17	F	10 mois	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	P1 D2	0	nd	nd	1	nd	nd	nd	nd	nd	0	0
pt 18-2	M	24 ans	0	0	1	1	1	1	0	0	dysplasie articulation	0	0	0	0	nd	1	nd	0	0	0	0	0	0	X-fragile
pt 18-3	M	32 ans	0	1	1	agénésie	1	0	0	1	dysplasie articulation	0	1	P1 D3	0	BD P2 D2 D3 D5, agénésie P2 D5	1	nd	0	0	0	0	0	0	X-fragile
pt 18-1	M	37 ans	0	1	1	1	1	0	0	0	dysplasie articulation	0	0	0	0	BD P2 D2 D3 D5, agénésie P2 D5	1	nd	caries	0	0	0	0	0	X-fragile
pt 19	M	12 ans	P2 D5	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	P1 D2 D3	1	nd	0	nd	hypoplasie racinaire	0	0	0	0	0	0

patient	sexe	âge	AA	BD M1	BD P2 D2	BD P2 D3	BD P2 D5	BD P1 D1	BD P1 D2	BD P1 D3	clino D2	clino D3	clino D5	poly phalangie	pseudo épiphyse	pied	T>-2DS	retard AO	dentaire	hanche	hyperlaxité	vertébrale	arthrose	asymptomatique	Autre
pt 20	F	9 ans	M1	1	1	1	0	0	1	1	dysplasie articulation	0	0	P1 D2 D3	1	BD P2 D2 D3 D4 D5	0	1	0	0	0	0	nd	0	0
pt 21-2	M	41 ans	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	nd	0	0	0	0	0	1	0
pt 21-1	M	10 mois	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	P2 D3	0	0	0	1	retard éruption	0	0	0	nd	0	lithiases rénales
pt 22	M	37 ans	0	1	1	0	0	0	1	1	dysplasie articulation	dysplasie articulation	0	P1 D2	0	nd	0	nd	0	0	entorses à répétition	0	0	0	0
pt 23	M	3 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1	nd	0	nd	nd	nd	nd	0	0
pt 24	M	26 ans	0	0	1	1	1	0	0	0	dysplasie articulation	0	0	P1 D3	0	BD D2 D3 D4, agénésie D5	0	nd	malposition	ostéo chondrite	distale	scoliose	0	0	0
pt 25-2	F	9 ans	P2 D2 D5	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	nd	0	0	0	0	nd	0	0
pt 25-3	M	4 ans	P2 D2 D5	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	nd	0	0	0	0	nd	0	DI
pt 25-1	F	33 ans	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	BD M4 M5	1	nd	nd	0	0	spondylo listhésis	0	0	DI légère
pt 26-2	F	37 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	nd	0	0	0	0	0	1	0
pt 26-1	F	7 ans	M1 P2 D3	1	1	1	1	0	0	0	dysplasie articulation	0	1	0	0	nd	1	1	0	dysplasie épiphyse fémoral sup fragmenté	0	0	nd	0	0
pt 27	F	16 mois	P2 D5, M5	1	1	0	1	0	1	0	dysplasie articulation	0	1	0	1	nd	0	nd	0	0	0	0	nd	0	0
pt 28	M	12 ans	M1 P2 D3	1	1	1	1	0	0	0	dysplasie articulation	0	0	0	1	AA P1 D2 D3 D4 D5	0	nd	0	0	distale	0	nd	0	0
pt 29-2	F	36 ans	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	nd	0	0	0	0	0	0	0
pt 29-1	F	3 ans	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	nd	0	0
pt 30	M	6 mois	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
pt 31	F	23 ans	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	nd	0	nd	0	dysplasie proximale	0	0	0	0	0
pt 32	F	3 mois	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	BD P2 D5	0	nd	nd	0	0	0	nd	0	0
pt 33-2	M	76 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	fragilité	0	0	0	0	0	0

patient	sexe	âge	AA	BD M1	BD P2 D2	BD P2 D3	BD P2 D5	BD P1 D1	BD P1 D2	BD P1 D3	clino D2	clino D3	clino D5	poly phalangie	pseudo épiphyse	pied	T>-2DS	retard AO	dentaire	hanche	hyperlaxité	vertébrale	arthrose	asymptomatique	Autre
pt 33-3	F	11 jours	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	nd	0	1	fragilité	0	0	0	nd	0	0
pt 33-1	M	46 ans	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	nd	nd	nd	fragilité	0	0	scoliose	vertébrale	0	0
pt 34	M	31 ans	0	1	1	0	0	0	0	1	dysplasie articulation	0	0	P1 D3	0	orteils courts	0	nd	0	dysplasie	0	0	0	0	0
pt 35	F	3 ans	M1, P2 D2 D5	1	1	1	1	0	0	1	dysplasie articulation	dysplasie articulation	1	0	0	0	0	nd	nd	dysplasie	0	0	nd	0	0
pt 36	F	5 jours	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	malposition orteils	nd	nd	nd	dysplasie	0	0	nd	0	0
pt 37-2	F	35 ans	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	nd	0	0	0	0	0	1	Madelung
pt 37-1	M	4 jours	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	P1 D3	0	0	0	1	nd	0	0	0	nd	0	strabisme
pt 38-2	M	42 ans	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	nd	nd	nd	nd	1	nd	nd	0	0	0
pt 38-3	M	12 mois	P2 D1	1	1	1	1	0	1	1	dysplasie articulation	dysplasie articulation	0	P1 D2 D3	0	nd	0	1	nd	0	0	0	nd	0	0
pt 38-1	F	39 ans	0	0	1	1	0	0	0	0	dysplasie articulation	0	1	0	0	nd	0	nd	0	0	0	0	0	0	0
pt 39	M	35 ans	0	1	1	1	1	0	1	1	dysplasie articulation	dysplasie articulation	0	P1 D3	0	BD P2 D2 D3 D4 D5	0	nd	0	0	0	0	coxarthrose gonarthrose	0	myopie sévère
pt 40	F	43 ans	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	0	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	nd
pt 41	F	7 ans	M1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	nd	1	1	0	0	1	0	nd	0	DI
pt 42	F	6 mois	M1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	nd	0	0
pt 43	F	1 mois	M1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	BD M1	nd	1	0	0	0	0	nd	0	Rétraction phalanges distales
pt 44-2	F	27 ans	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	BD P2 D2 D3 D4 D5	1	nd	0	0	0	0	0	0	Rétraction phalanges distales
pt 44-1	M	18 mois	P2 D3 D5	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	BD P2 D4 D5	0	1	0	dysplasie	0	0	nd	0	Rétraction phalanges distales polydactylie post-axiale
pt 48	F	53 ans	0	1	1	0	1	0	0	0	dysplasie articulation	0	0	0	0	0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0	0

Abréviations : AA : dysplasie en « ailes d'ange », AO : âge osseux, BD : brachydactylie, carti : cartilage, clino : clinodactylie, DI : déficience intellectuelle, D1 : 1^{er} rayon, D2 : 2^{ème} rayon, D3 : 3^{ème} rayon, D4 : 4^{ème} rayon, D5 : 5^{ème} rayon, LCH : luxation congénitale de hanche, M1 : 1^{er} métacarpien, nd : non disponible, pt : patient, P1 : 1^{ère} phalange, P2 : 2^{ème} phalange.

Bibliographie

1. Anomalies des membres [Internet]. [cité 25 janv 2021]. Disponible sur: /maladies-et-traumatismes/maladies-de-la-mere-et-de-l-enfant/anomalies-et-malformations-congenitales/anomalies-des-membres
2. File:Mesoderm cartoon 01.jpg - Embryology [Internet]. [cité 25 janv 2021]. Disponible sur: https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/File:Mesoderm_cartoon_01.jpg
3. Gilbert SF. Osteogenesis: The Development of Bones. Dev Biol 6th Ed [Internet]. 2000 [cité 25 janv 2021]; Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10056/>
4. Salazar VS, Gamer LW, Rosen V. BMP signalling in skeletal development, disease and repair. Nat Rev Endocrinol. 2016;12:203-21.
5. Khan IM, Redman SN, Williams R, Dowthwaite GP, Oldfield SF, Archer CW. The development of synovial joints. Curr Top Dev Biol. 2007;79:1-36.
6. Rux D, Decker RS, Koyama E, Pacifici M. Joints in the appendicular skeleton: Developmental mechanisms and evolutionary influences. Curr Top Dev Biol. 2019;133:119-51.
7. Osborne AC, Lamb KJ, Lewthwaite JC, Dowthwaite GP, Pitsillides AA. Short-term rigid and flaccid paralyses diminish growth of embryonic chick limbs and abrogate joint cavity formation but differentially preserve pre-cavitated joints. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2002;2:448-56.
8. Dowthwaite GP, Edwards JC, Pitsillides AA. An essential role for the interaction between hyaluronan and hyaluronan binding proteins during joint development. J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc. 1998;46:641-51.
9. Pitsillides AA, Archer CW, Prehm P, Bayliss MT, Edwards JC. Alterations in hyaluronan synthesis during developing joint cavitation. J Histochem Cytochem Off J Histochem Soc. 1995;43:263-73.
10. Archer CW, Dowthwaite GP, Francis-West P. Development of synovial joints. Birth Defects Res Part C Embryo Today Rev. 2003;69:144-55.
11. Rallis C, Bruneau BG, Del Buono J, Seidman CE, Seidman JG, Nissim S, et al. Tbx5 is required for forelimb bud formation and continued outgrowth. Dev Camb Engl. 2003;130:2741-51.
12. Duboc V, Logan MPO. Pitx1 is necessary for normal initiation of hindlimb outgrowth through regulation of Tbx4 expression and shapes hindlimb morphologies via targeted growth control. Dev Camb Engl. 2011;138:5301-9.
13. Yu K, Ornitz DM. FGF signaling regulates mesenchymal differentiation and skeletal patterning along the limb bud proximodistal axis. Dev Camb Engl. 2008;135:483-91.
14. Sheeba CJ, Andrade RP, Palmeirim I. Joint interpretation of AER/FGF and ZPA/SHH over time and space underlies hairy2 expression in the chick limb. Biol Open. 2012;1:1102-10.

15. Chen H, Johnson RL. Interactions between dorsal-ventral patterning genes *Imx1b*, *engrailed-1* and *wnt-7a* in the vertebrate limb. *Int J Dev Biol*. 2002;46:937-41.
16. Fernandez-Teran M, Ros MA. The Apical Ectodermal Ridge: morphological aspects and signaling pathways. *Int J Dev Biol*. 2008;52:857-71.
17. Taniguchi Y. Hox transcription factors: modulators of cell-cell and cell-extracellular matrix adhesion. *BioMed Res Int*. 2014;2014:591374.
18. Nanci A. *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function*. 8th Edition. Elsevier Health Sciences; 2014. p81-102.
19. Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental Enamel Formation and Implications for Oral Health and Disease. *Physiol Rev*. 2017;97:939-93.
20. Luyten FP. Cartilage-derived morphogenetic protein-1. *Int J Biochem Cell Biol*. 1997;29:1241-4.
21. Hötten G, Neidhardt H, Jacobowsky B, Pohl J. Cloning and expression of recombinant human growth/differentiation factor 5. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;204:646-52.
22. Sieber C, Plöger F, Schwappacher R, Bechtold R, Hanke M, Kawai S, et al. Monomeric and dimeric GDF-5 show equal type I receptor binding and oligomerization capability and have the same biological activity. *Biol Chem*. 2006;387:451-60.
23. Farooq M, Nakai H, Fujimoto A, Fujikawa H, Kjaer KW, Baig SM, et al. Characterization of a novel missense mutation in the prodomain of GDF5, which underlies brachydactyly type C and mild Grebe type chondrodysplasia in a large Pakistani family. *Hum Genet*. 2013;132:1253-64.
24. Degenkolbe E, König J, Zimmer J, Walther M, Reißner C, Nickel J, et al. A GDF5 point mutation strikes twice--causing BDA1 and SYNS2. *PLoS Genet*. 2013;9:e1003846.
25. Shi M, Zhu J, Wang R, Chen X, Mi L, Walz T, et al. Latent TGF- β structure and activation. *Nature*. 2011;474:343-9.
26. Rifkin DB. Latent transforming growth factor-beta (TGF-beta) binding proteins: orchestrators of TGF-beta availability. *J Biol Chem*. 2005;280:7409-12.
27. Sengle G, Charbonneau NL, Ono RN, Sasaki T, Alvarez J, Keene DR, et al. Targeting of bone morphogenetic protein growth factor complexes to fibrillin. *J Biol Chem*. 2008;283:13874-88.
28. Ramirez F, Sakai LY. Biogenesis and function of fibrillin assemblies. *Cell Tissue Res*. 2010;339:71-82.
29. Harrison CA, Al-Musawi SL, Walton KL. Prodomains regulate the synthesis, extracellular localisation and activity of TGF- β superfamily ligands. *Growth Factors Chur Switz*. 2011;29:174-86.
30. Lorda-Diez CI, Montero JA, Garcia-Porrero JA, Hurlé JM. *Tgfbeta2* and 3 are coexpressed with their extracellular regulator *Ltbp1* in the early limb bud and modulate mesodermal outgrowth and BMP signaling in chicken embryos. *BMC Dev Biol*. 2010;10:69.

31. Kingsley DM. The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev.* 1994;8:133-46.
32. Nickel J, Kotzsch A, Sebald W, Mueller TD. A single residue of GDF-5 defines binding specificity to BMP receptor IB. *J Mol Biol.* 2005;349:933-47.
33. Miyazono K, Kamiya Y, Morikawa M. Bone morphogenetic protein receptors and signal transduction. *J Biochem (Tokyo).* 2010;147:35-51.
34. Nishitoh H, Ichijo H, Kimura M, Matsumoto T, Makishima F, Yamaguchi A, et al. Identification of type I and type II serine/threonine kinase receptors for growth/differentiation factor-5. *J Biol Chem.* 1996;271:21345-52.
35. Massagué J. TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem.* 1998;67:753-91.
36. Heldin CH, Miyazono K, ten Dijke P. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature.* 1997;390:465-71.
37. Thielen NGM, van der Kraan PM, van Caam APM. TGF β /BMP Signaling Pathway in Cartilage Homeostasis. *Cells.* 2019;8:969.
38. Balemans W, Van Hul W. Extracellular regulation of BMP signaling in vertebrates: a cocktail of modulators. *Dev Biol.* 2002;250:231-50.
39. Bragdon B, Moseychuk O, Saldanha S, King D, Julian J, Nohe A. Bone morphogenetic proteins: a critical review. *Cell Signal.* 2011;23:609-20.
40. Yao Y, Wang Y. ATDC5: an excellent in vitro model cell line for skeletal development. *J Cell Biochem.* 2013;114:1223-9.
41. Klammert U, Mueller TD, Hellmann TV, Wuerzler KK, Kotzsch A, Schliermann A, et al. GDF-5 can act as a context-dependent BMP-2 antagonist. *BMC Biol.* 2015;13:77.
42. Craig FM, Bentley G, Archer CW. The spatial and temporal pattern of collagens I and II and keratan sulphate in the developing chick metatarsophalangeal joint. *Dev Camb Engl.* 1987;99:383-91.
43. Mitrovic DR. Development of the metatarsophalangeal joint of the chick embryo: morphological, ultrastructural and histochemical studies. *Am J Anat.* 1977;150:333-47.
44. Kavanagh E, Church VL, Osborne AC, Lamb KJ, Archer CW, Francis-West PH, et al. Differential regulation of GDF-5 and FGF-2/4 by immobilisation in ovo exposes distinct roles in joint formation. *Dev Dyn Off Publ Am Assoc Anat.* 2006;235:826-34.
45. Kan A, Ikeda T, Fukai A, Nakagawa T, Nakamura K, Chung U, et al. SOX11 contributes to the regulation of GDF5 in joint maintenance. *BMC Dev Biol.* 2013;13:4.
46. Kania K, Colella F, Riemen AHK, Wang H, Howard KA, Aigner T, et al. Regulation of Gdf5 expression in joint remodelling, repair and osteoarthritis. *Sci Rep.* 2020;10:157.
47. Andreasson L, Evenbratt H, Simonsson S. GDF5 induces TBX3 in a concentration dependent manner - on a gold nanoparticle gradient. *Heliyon.* 2020;6:e04133.

48. Morotome Y, Goseki-Sone M, Ishikawa I, Oida S. Gene expression of growth and differentiation factors-5, -6, and -7 in developing bovine tooth at the root forming stage. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;244:85-90.
49. Sena K, Morotome Y, Baba O, Terashima T, Takano Y, Ishikawa I. Gene expression of growth differentiation factors in the developing periodontium of rat molars. *J Dent Res.* 2003;82:166-71.
50. Kwon H-R, Wikesjö UME, Park J-C, Kim Y-T, Bastone P, Pippig SD, et al. Growth/differentiation factor-5 significantly enhances periodontal wound healing/regeneration compared with platelet-derived growth factor-BB in dogs. *J Clin Periodontol.* 2010;37:739-46.
51. Kwon DH, Bisch FC, Herold RW, Pompe C, Bastone P, Rodriguez NA, et al. Periodontal wound healing/regeneration following the application of rhGDF-5 in a beta-TCP/PLGA carrier in critical-size supra-alveolar periodontal defects in dogs. *J Clin Periodontol.* 2010;37:667-74.
52. Kim T-G, Wikesjö UME, Cho K-S, Chai J-K, Pippig SD, Siedler M, et al. Periodontal wound healing/regeneration following implantation of recombinant human growth/differentiation factor-5 (rhGDF-5) in an absorbable collagen sponge carrier into one-wall intrabony defects in dogs: a dose-range study. *J Clin Periodontol.* 2009;36:589-97.
53. Emerton KB, Drapeau SJ, Prasad H, Rohrer M, Roffe P, Hopper K, et al. Regeneration of periodontal tissues in non-human primates with rhGDF-5 and beta-tricalcium phosphate. *J Dent Res.* 2011;90:1416-21.
54. Nakamura T, Yamamoto M, Tamura M, Izumi Y. Effects of growth/differentiation factor-5 on human periodontal ligament cells. *J Periodontal Res.* 2003;38:597-605.
55. Stavropoulos A, Windisch P, Gera I, Capsius B, Sculean A, Wikesjö UME. A phase IIa randomized controlled clinical and histological pilot study evaluating rhGDF-5/ β -TCP for periodontal regeneration. *J Clin Periodontol.* 2011;38:1044-54.
56. Liu J, Saito K, Maruya Y, Nakamura T, Yamada A, Fukumoto E, et al. Mutant GDF5 enhances ameloblast differentiation via accelerated BMP2-induced Smad1/5/8 phosphorylation. *Sci Rep.* 2016;6:23670.
57. O'Keeffe GW, Gutierrez H, Howard L, Laurie CW, Osorio C, Gavaldà N, et al. Region-specific role of growth differentiation factor-5 in the establishment of sympathetic innervation. *Neural Develop.* 2016;11:4.
58. Sullivan AM, O'Keeffe GW. The role of growth/differentiation factor 5 (GDF5) in the induction and survival of midbrain dopaminergic neurones: relevance to Parkinson's disease treatment. *J Anat.* 2005;207:219-26.
59. Storm EE, Kingsley DM. Joint patterning defects caused by single and double mutations in members of the bone morphogenetic protein (BMP) family. *Dev Camb Engl.* 1996;122:3969-79.
60. Merino R, Macias D, Gañan Y, Economides AN, Wang X, Wu Q, et al. Expression and function of Gdf-5 during digit skeletogenesis in the embryonic chick leg bud. *Dev Biol.* 1999;206:33-45.

61. Southam L, Rodriguez-Lopez J, Wilkins JM, Pombo-Suarez M, Snelling S, Gomez-Reino JJ, et al. An SNP in the 5'-UTR of GDF5 is associated with osteoarthritis susceptibility in Europeans and with in vivo differences in allelic expression in articular cartilage. *Hum Mol Genet.* 2007;16:2226-32.
62. Sugiura T, Hötten G, Kawai S. Minimal promoter components of the human growth/differentiation factor-5 gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;263:707-13.
63. Chen H, Capellini TD, Schoor M, Mortlock DP, Reddi AH, Kingsley DM. Heads, Shoulders, Elbows, Knees, and Toes: Modular Gdf5 Enhancers Control Different Joints in the Vertebrate Skeleton. *PLoS Genet.* 2016;12:e1006454.
64. Capellini TD, Chen H, Cao J, Doxey AC, Kiapour AM, Schoor M, et al. Ancient selection for derived alleles at a GDF5 enhancer influencing human growth and osteoarthritis risk. *Nat Genet.* 2017;49:1202-10.
65. Crotwell PL, Clark TG, Mabee PM. Gdf5 is expressed in the developing skeleton of median fins of late-stage zebrafish, *Danio rerio*. *Dev Genes Evol.* 2001;211:555-8.
66. Francis-West PH, Abdelfattah A, Chen P, Allen C, Parish J, Ladher R, et al. Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development. *Dev Camb Engl.* 1999;126:1305-15.
67. Storm EE, Huynh TV, Copeland NG, Jenkins NA, Kingsley DM, Lee SJ. Limb alterations in brachypodism mice due to mutations in a new member of the TGF beta-superfamily. *Nature.* 1994;368:639-43.
68. Settle S, Marker P, Gurley K, Sinha A, Thacker A, Wang Y, et al. The BMP family member Gdf7 is required for seminal vesicle growth, branching morphogenesis, and cytodifferentiation. *Dev Biol.* 2001;234:138-50.
69. Settle SH, Rountree RB, Sinha A, Thacker A, Higgins K, Kingsley DM. Multiple joint and skeletal patterning defects caused by single and double mutations in the mouse Gdf6 and Gdf5 genes. *Dev Biol.* 2003;254:116-30.
70. Zhang X, Xing X, Liu X, Hu Y, Qu S, Wang H, et al. Knock-in human GDF5 proregion L373R mutation as a mouse model for proximal symphalangism. *Oncotarget.* 2017;8:113966-76.
71. Masuya H, Nishida K, Furuichi T, Toki H, Nishimura G, Kawabata H, et al. A novel dominant-negative mutation in Gdf5 generated by ENU mutagenesis impairs joint formation and causes osteoarthritis in mice. *Hum Mol Genet.* 2007;16:2366-75.
72. Temtamy SA, McKusick VA. The genetics of hand malformations. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1978;14:1-619.
73. David A, Vincent M, Quéré M-P, Lefrançois T, Frampas E, David A. Isolated and syndromic brachydactylies: Diagnostic value of hand X-rays. *Diagn Interv Imaging.* 2015;96:443-8.
74. Manouvrier S, Mezel A. Classification des malformations congénitales des membres [Internet]. EM-Consulte. [cité 25 janv 2021]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/261528/classification-des-malformations-congenitales-des->

75. Al-Qattan MM. Embryology of familial (non-syndromic) brachydactyly of the hand. *J Hand Surg Eur Vol.* 2014;39:926-33.
76. Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V, Hall C, Krakow D, Mundlos S, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision. *Am J Med Genet A.* 2019;179:2393-419.
77. Al-Qattan MM, Al-Motairi MI, Al Balwi MA. Two novel homozygous missense mutations in the GDF5 gene cause brachydactyly type C. *Am J Med Genet A.* 2015;167:1621-6.
78. Schwabe GC, Türkmen S, Leschik G, Palanduz S, Stöver B, Goecke TO, et al. Brachydactyly type C caused by a homozygous missense mutation in the prodomain of CDMP1. *Am J Med Genet A.* 2004;124:356-63.
79. Savarirayan R, White SM, Goodman FR, Graham JM, Delatycki MB, Lachman RS, et al. Broad phenotypic spectrum caused by an identical heterozygous CDMP-1 mutation in three unrelated families. *Am J Med Genet A.* 2003;117:136-42.
80. Byrnes AM, Racacho L, Nikkel SM, Xiao F, MacDonald H, Underhill TM, et al. Mutations in GDF5 presenting as semidominant brachydactyly A1. *Hum Mutat.* 2010;31:1155-62.
81. Yang Q, Wang J, Tian X, Shen F, Lan J, Zhang Q, et al. A novel variant of IHH in a Chinese family with brachydactyly type 1. *BMC Med Genet.* 2020;21:60.
82. Seemann P, Schwappacher R, Kjaer KW, Krakow D, Lehmann K, Dawson K, et al. Activating and deactivating mutations in the receptor interaction site of GDF5 cause symphalangism or brachydactyly type A2. *J Clin Invest.* 2005;115:2373-81.
83. Kjaer KW, Eiberg H, Hansen L, van der Hagen CB, Rosendahl K, Tommerup N, et al. A mutation in the receptor binding site of GDF5 causes Mohr-Wriedt brachydactyly type A2. *J Med Genet.* 2006;43:225-31.
84. Plöger F, Seemann P, Schmidt-von Kegler M, Lehmann K, Seidel J, Kjaer KW, et al. Brachydactyly type A2 associated with a defect in proGDF5 processing. *Hum Mol Genet.* 2008;17:1222-33.
85. Khan S, Mudassir M, Khan N, Marwat A. Brachydactyly Instigated as a Result of Mutation in GDF5 and NOG Genes in Pakistani Population. *Pak J Med Sci.* 2018;34:82-7.
86. Liu X, Gao L, Zhao A, Zhang R, Ji B, Wang L, et al. Identification of duplication downstream of BMP2 in a Chinese family with brachydactyly type A2 (BDA2). *PloS One.* 2014;9:e94201.
87. Galjaard RJ, van der Ham LI, Posch NA, Dijkstra PF, Oostra BA, Hovius SE, et al. Differences in complexity of isolated brachydactyly type C cannot be attributed to locus heterogeneity alone. *Am J Med Genet.* 2001;98:256-62.
88. Everman DB, Bartels CF, Yang Y, Yanamandra N, Goodman FR, Mendoza-Londono JR, et al. The mutational spectrum of brachydactyly type C. *Am J Med Genet.* 2002;112:291-6.
89. Arguello T, Mendoza R, Biesecker L, Fernández L, Prieto JC. Identificación de una nueva mutación en el gen *cdmp-1* causante de la braquidactilia tipo c en una familia colombiana. 2001 [cité 25 janv 2021]; Disponible sur: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/38118>

90. Polinkovsky A, Robin NH, Thomas JT, Irons M, Lynn A, Goodman FR, et al. Mutations in CDMP1 cause autosomal dominant brachydactyly type C. *Nat Genet.* 1997;17:18-9.
91. Holder-Espinasse M, Escande F, Mayrargue E, Dieux-Coeslier A, Fron D, Doual-Bisser A, et al. Angel shaped phalangeal dysplasia, hip dysplasia, and positional teeth abnormalities are part of the brachydactyly C spectrum associated with CDMP-1 mutations. *J Med Genet.* 2004;41:e78.
92. Gutiérrez-Amavizca BE, Brambila-Tapia AJL, Juárez-Vázquez CI, Holder-Espinasse M, Manouvrier-Hanu S, Escande F, et al. A novel mutation in CDMP1 causes brachydactyly type C with « angel-shaped phalanx ». A genotype-phenotype correlation in the mutational spectrum. *Eur J Med Genet.* 2012;55:611-4.
93. Ullah A, Umair M, Hussain S, Jan A, Ahmad W. Sequence variants in GDF5 and TRPS1 underlie brachydactyly and tricho-rhino-phalangeal syndrome type III. *Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc.* 2018;60:304-6.
94. Stange K, Thieme T, Hertel K, Kuhfahl S, Janecke AR, Piza-Katzer H, et al. Molecular analysis of two novel missense mutations in the GDF5 proregion that reduce protein activity and are associated with brachydactyly type C. *J Mol Biol.* 2014;426:3221-31.
95. Uyguner ZO, Kocaoğlu M, Toksoy G, Basaran S, Kayserili H. Novel indel Mutation in the GDF5 Gene Is Associated with Brachydactyly Type C in a Four-Generation Turkish Family. *Mol Syndromol.* 2014;5:81-6.
96. Seo SH, Park MJ, Kim S-H, Kim O-H, Park S, Cho SI, et al. Identification of a GDF5 mutation in a Korean patient with brachydactyly type C without foot involvement. *Ann Lab Med.* 2013;33:150-2.
97. Yang W, Cao L, Liu W, Jiang L, Sun M, Zhang D, et al. Novel point mutations in GDF5 associated with two distinct limb malformations in Chinese: brachydactyly type C and proximal symphalangism. *J Hum Genet.* 2008;53:368-74.
98. Bachman RK. Hereditary peripheral dysostosis (three cases). *Proc R Soc Med.* 1967;60:21-2.
99. Giedion A, Prader A, Fliegel C, Krasikov N, Langer L, Poznanski A. Angel-shaped phalango-epiphyseal dysplasia (ASPED): identification of a new genetic bone marker. *Am J Med Genet.* 1993;47:765-71.
100. Castriota-Scanderbeg A, Garaci FG, Beluffi G. Angel-shaped phalanges in brachydactyly C: a case report, and speculation on pathogenesis. *Pediatr Radiol.* 2005;35:535-8.
101. Plett SK, Berdon WE, Cowles RA, Oklu R, Campbell JB. Cushing proximal symphalangism and the NOG and GDF5 genes. *Pediatr Radiol.* 2008;38:209-15.
102. Leonidou A, Irving M, Holden S, Katchburian M. Recurrent missense mutation of GDF5 (p.R438L) causes proximal symphalangism in a British family. *World J Orthop.* 2016;7:839-42.
103. Cushing H. Hereditary ankylosis of the proximal phalangeal joints (sympalangism). 1915. *Clin Orthop.* 1915;1:90-106.

104. Drinkwater H. Phalangeal Anarthrosis (Synostosis, Ankylosis) transmitted through Fourteen Generations. *Proc R Soc Med.* 1917;10:60-8.
105. Elkington SG, Huntsman RG. The Talbot fingers: a study in symphalangism. *Br Med J.* 1967;1:407-11.
106. Geelhoed GW, Neel JV, Davidson RT. Symphalangism and tarsal coalitions: a hereditary syndrome. A report on two families. *J Bone Joint Surg Br.* 1969;51:278-89.
107. Maroteaux P, Bouvet JP, Briard ML. [Multiple synostosis disease]. *Nouv Presse Med.* déc 1972;1:3041-7.
108. Gong Y, Krakow D, Marcelino J, Wilkin D, Chitayat D, Babul-Hirji R, et al. Heterozygous mutations in the gene encoding noggin affect human joint morphogenesis. *Nat Genet.* 1999;21:302-4.
109. Fuhrmann W, Steffens C. [Dominant hereditary bilateral dysplasia and synostosis of the elbow joint, with symmetrical brachymesophalangy and brachymetacarpus as well as synostoses in the finger, carpal and tarsal region]. *Humangenetik.* 1966;3:64-75.
110. Akarsu, A. N., Rezaie, T., Demirtas, M., Farhud, D. D., Sarfarazi, M. Multiple synostosis type 2 (SYNS2) maps to 20q11.2 and caused by a missense mutation in the growth/differentiation factor 5 (GDF5). (Abstract) *Am. J. Hum. Genet. Suppl.* 65:A281, 1999.
111. Wu X-L, Gu M-M, Huang L, Liu X-S, Zhang H-X, Ding X-Y, et al. Multiple synostoses syndrome is due to a missense mutation in exon 2 of FGF9 gene. *Am J Hum Genet.* 2009;85:53-63.
112. Wang J, Yu T, Wang Z, Ohte S, Yao R-E, Zheng Z, et al. A New Subtype of Multiple Synostoses Syndrome Is Caused by a Mutation in GDF6 That Decreases Its Sensitivity to Noggin and Enhances Its Potency as a BMP Signal. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2016;31:882-9.
113. Wang X, Xiao F, Yang Q, Liang B, Tang Z, Jiang L, et al. A novel mutation in GDF5 causes autosomal dominant symphalangism in two Chinese families. *Am J Med Genet A.* 2006;140:1846-53.
114. Dawson K, Seeman P, Sebald E, King L, Edwards M, Williams J, et al. GDF5 is a second locus for multiple-synostosis syndrome. *Am J Hum Genet.* 2006;78:708-12.
115. Schwaerzer GK, Hiepen C, Schrewe H, Nickel J, Ploeger F, Sebald W, et al. New insights into the molecular mechanism of multiple synostoses syndrome (SYNS): mutation within the GDF5 knuckle epitope causes noggin-resistance. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2012;27:429-42.
116. Seemann P, Brehm A, König J, Reissner C, Stricker S, Kuss P, et al. Mutations in GDF5 reveal a key residue mediating BMP inhibition by NOGGIN. *PLoS Genet.* 2009;5:e1000747.
117. Douzgou S, Lehmann K, Mingarelli R, Mundlos S, Dallapiccola B. Compound heterozygosity for GDF5 in Du Pan type chondrodysplasia. *Am J Med Genet A.* 2008;146A:2116-21.
118. Faiyaz-UI-Haque M, Ahmad W, Zaidi SHE, Haque S, Teebi AS, Ahmad M, et al. Mutation in the cartilage-derived morphogenetic protein-1 (CDMP1) gene in a kindred affected with

- fibular hypoplasia and complex brachydactyly (DuPan syndrome). Clin Genet. 2002;61:454-8.
119. Kohn G, Veder M, Schoenfeld A, el Shawwa R. New type of autosomal recessive short-limb dwarfism with absent fibulae, exceptionally short digits, and normal intelligence. Am J Med Genet. 1989;34:535-40.
 120. Du Pan CM. Absence congenitale du perone sans deformation du tibia: curieuses deformations congenitales des mains. Rev Orthop. 1924;11:227-34.
 121. Szczaluba K, Hilbert K, Obersztyn E, Zabel B, Mazurczak T, Kozlowski K. Du Pan syndrome phenotype caused by heterozygous pathogenic mutations in CDMP1 gene. Am J Med Genet A. 2005;138:379-83.
 122. Grebe H. Die Achondrogenesis: ein einfach rezessives Erbmerkmal. Folia Hered Path. 1952;2:23-8.
 123. Thomas JT, Kilpatrick MW, Lin K, Erlacher L, Lembessis P, Costa T, et al. Disruption of human limb morphogenesis by a dominant negative mutation in CDMP1. Nat Genet. 1997;17:58-64.
 124. Umair M, Rafique A, Ullah A, Ahmad F, Ali RH, Nasir A, et al. Novel homozygous sequence variants in the GDF5 gene underlie acromesomelic dysplasia type-grebe in consanguineous families. Congenit Anom. 2017;57:45-51.
 125. Basit S, Naqvi SK-H, Wasif N, Ali G, Ansar M, Ahmad W. A novel insertion mutation in the cartilage-derived morphogenetic protein-1 (CDMP1) gene underlies Grebe-type chondrodysplasia in a consanguineous Pakistani family. BMC Med Genet. 2008;9:102.
 126. Campailla E, Martinelli B. [Statural deficiency with micromesomelia. Report of 2 familial cases]. Minerva Ortop. 1971;22:180-4.
 127. Hunter AG, Thompson MW. Acromesomelic dwarfism: description of a patient and comparison with previously reported cases. Hum Genet. 1976;34:107-13.
 128. Langer LO, Cervenka J, Camargo M. A severe autosomal recessive acromesomelic dysplasia, the Hunter-Thompson type, and comparison with the Grebe type. Hum Genet. 1989;81:323-8.
 129. Thomas JT, Lin K, Nandedkar M, Camargo M, Cervenka J, Luyten FP. A human chondrodysplasia due to a mutation in a TGF-beta superfamily member. Nat Genet. 1996;12:315-7.
 130. Stelzer C, Winterpacht A, Spranger J, Zabel B. Grebe dysplasia and the spectrum of CDMP1 mutations. Pediatr Pathol Mol Med. 2003;22:77-85.
 131. Faiyaz-Ul-Haque M, Fageih EA, Al-Zaidan H, Al-Shammary A, Zaidi SHE. Grebe-type chondrodysplasia: a novel missense mutation in a conserved cysteine of the growth differentiation factor 5. J Bone Miner Metab. 2008;26:648-52.
 132. Goncalves LF, Berger JA, Macknis JK, Bauer ST, Bloom DA. Grebe dysplasia - prenatal diagnosis based on rendered 3-D ultrasound images of fetal limbs. Pediatr Radiol. 2017;47:108-12.

133. Mumtaz S, Riaz HF, Touseef M, Basit S, Faiyaz UI Haque M, Malik S. Recurrent mutation in CDMP1 in a family with Grebe chondrodysplasia: broadening the phenotypic manifestation of syndrome in Pakistani population. *Pak J Med Sci.* 2015;31:1542-4.
134. Martinez-Garcia M, Garcia-Canto E, Fenollar-Cortes M, Aytes AP, Trujillo-Tiebas MJ. Characterization of an acromesomelic dysplasia, Grebe type case: novel mutation affecting the recognition motif at the processing site of GDF5. *J Bone Miner Metab.* 2016;34:599-603.
135. Kiapour AM, Cao J, Young M, Capellini TD. The role of Gdf5 regulatory regions in development of hip morphology. *PloS One.* 2018;13:e0202785.
136. Harsanyi S, Zamborsky R, Krajciova L, Kokavec M, Danisovic L. Developmental Dysplasia of the Hip: A Review of Etiopathogenesis, Risk Factors, and Genetic Aspects. *Med Kaunas Lith.* 2020;56:153.
137. Dai J, Shi D, Zhu P, Qin J, Ni H, Xu Y, et al. Association of a single nucleotide polymorphism in growth differentiate factor 5 with congenital dysplasia of the hip: a case-control study. *Arthritis Res Ther.* 2008;10:R126.
138. Rouault K, Scotet V, Autret S, Gaucher F, Dubrana F, Tanguy D, et al. Evidence of association between GDF5 polymorphisms and congenital dislocation of the hip in a Caucasian population. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010;18:1144-9.
139. Hatzikotoulas K, Roposch A, DDH Case Control Consortium, Shah KM, Clark MJ, Bratherton S, et al. Genome-wide association study of developmental dysplasia of the hip identifies an association with GDF5. *Commun Biol.* 2018;1:56.
140. Miyamoto Y, Mabuchi A, Shi D, Kubo T, Takatori Y, Saito S, et al. A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis. *Nat Genet.* 2007;39:529-33.
141. Egli RJ, Southam L, Wilkins JM, Lorenzen I, Pombo-Suarez M, Gonzalez A, et al. Functional analysis of the osteoarthritis susceptibility-associated GDF5 regulatory polymorphism. *Arthritis Rheum.* 2009;60:2055-64.
142. Baghdadi T, Nejadhosseini M, Shirkoobi R, Mostafavi Tabatabaee R, Tamehri SS, Saffari M, et al. DNA hypermethylation of GDF5 in developmental dysplasia of the hip (DDH). *Mol Genet Genomic Med.* 2019;7:e887.
143. Vaes RBA, Rivadeneira F, Kerkhof JM, Hofman A, Pols H a. P, Uitterlinden AG, et al. Genetic variation in the GDF5 region is associated with osteoarthritis, height, hip axis length and fracture risk: the Rotterdam study. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:1754-60.
144. Valdes AM, Spector TD, Doherty S, Wheeler M, Hart DJ, Doherty M. Association of the DVWA and GDF5 polymorphisms with osteoarthritis in UK populations. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:1916-20.
145. Wang Z, Li Y, Wang Y, Wang X, Zhang J, Tian J. Association between GDF5 single nucleotide polymorphism rs143383 and lumbar disc degeneration. *Exp Ther Med.* 2018;16:1900-4.
146. Honda J, Andou H, Mannen T, Sugimoto S. Direct refolding of recombinant human growth differentiation factor 5 for large-scale production process. *J Biosci Bioeng.* 2000;89:582-9.

147. Spiro RC, Liu L, Heidaran MA, Thompson AY, Ng CK, Pohl J, et al. Inductive activity of recombinant human growth and differentiation factor-5. *Biochem Soc Trans.* 2000;28:362-8.
148. Kakudo N, Wang YB, Miyake S, Kushida S, Kusumoto K. Analysis of osteochondro-induction using growth and differentiation factor-5 in rat muscle. *Life Sci.* 2007;81:137-43.
149. Sun Y, You Y, Jiang W, Zhai Z, Dai K. 3D-bioprinting a genetically inspired cartilage scaffold with GDF5-conjugated BMSC-laden hydrogel and polymer for cartilage repair. *Theranostics.* 2019;9:6949-61.
150. Degenkolbe E, Schwarz C, Ott C-E, König J, Schmidt-Bleek K, Ellinghaus A, et al. Improved bone defect healing by a superagonistic GDF5 variant derived from a patient with multiple synostoses syndrome. *Bone.* 2015;73:111-9.
151. Yoshimoto T, Yamamoto M, Kadomatsu H, Sakoda K, Yonamine Y, Izumi Y. Recombinant human growth/differentiation factor-5 (rhGDF-5) induced bone formation in murine calvariae. *J Periodontal Res.* 2006;41:140-7.
152. Poehling S, Pippig SD, Hellerbrand K, Siedler M, Schütz A, Dony C. Superior effect of MD05, beta-tricalcium phosphate coated with recombinant human growth/differentiation factor-5, compared to conventional bone substitutes in the rat calvarial defect model. *J Periodontol.* 2006;77:1582-90.
153. Kuniyasu H, Hirose Y, Ochi M, Yajima A, Sakaguchi K, Murata M, et al. Bone augmentation using rhGDF-5-collagen composite. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14:490-9.
154. Simank H-G, Stuber M, Frahm R, Helbig L, van Lenthe H, Müller R. The influence of surface coatings of dicalcium phosphate (DCPD) and growth and differentiation factor-5 (GDF-5) on the stability of titanium implants in vivo. *Biomaterials.* 2006;27:3988-94.
155. Weng D, Poehling S, Pippig S, Bell M, Richter E-J, Zuhr O, et al. The effects of recombinant human growth/differentiation factor-5 (rhGDF-5) on bone regeneration around titanium dental implants in barrier membrane-protected defects: a pilot study in the mandible of beagle dogs. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2009;24:31-7.
156. Gruber RM, Ludwig A, Merten H-A, Pippig S, Kramer F-J, Schliephake H. Sinus floor augmentation with recombinant human growth and differentiation factor-5 (rhGDF-5): a pilot study in the Goettingen miniature pig comparing autogenous bone and rhGDF-5. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20:175-82.
157. Spiro RC, Thompson AY, Poser JW. Spinal fusion with recombinant human growth and differentiation factor-5 combined with a mineralized collagen matrix. *Anat Rec.* 2001;263:388-95.
158. Chujo T, An HS, Akeda K, Miyamoto K, Muehleman C, Attawia M, et al. Effects of growth differentiation factor-5 on the intervertebral disc--in vitro bovine study and in vivo rabbit disc degeneration model study. *Spine.* 2006;31:2909-17.
159. Jahng T-A, Fu T-S, Cunningham BW, Dmitriev AE, Kim DH. Endoscopic instrumented posterolateral lumbar fusion with Healos and recombinant human growth/differentiation factor-5. *Neurosurgery.* 2004;54:171-80.

160. Magit DP, Maak T, Trioano N, Raphael B, Hamouria Q, Polzhofer G, et al. Healos/recombinant human growth and differentiation factor-5 induces posterolateral lumbar fusion in a New Zealand white rabbit model. *Spine*. 2006;31:2180-8.
161. Koch FP, Becker J, Terheyden H, Capsius B, Wagner W. A prospective, randomized pilot study on the safety and efficacy of recombinant human growth and differentiation factor-5 coated onto β -tricalcium phosphate for sinus lift augmentation. *Clin Oral Implants Res*. 2010;21:1301-8.
162. Stavropoulos A, Becker J, Capsius B, Açil Y, Wagner W, Terheyden H. Histological evaluation of maxillary sinus floor augmentation with recombinant human growth and differentiation factor-5-coated β -tricalcium phosphate: results of a multicenter randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2011;38:966-74.
163. Windisch P, Stavropoulos A, Molnár B, Szendrői-Kiss D, Szilágyi E, Rosta P, et al. A phase IIa randomized controlled pilot study evaluating the safety and clinical outcomes following the use of rhGDF-5/ β -TCP in regenerative periodontal therapy. *Clin Oral Investig*. 2012;16:1181-9.
164. DePuy Spine. A Phase I/IIa, Multicenter, Open-label, Clinical Trial to Evaluate the Safety, Tolerability and Preliminary Effectiveness of Single Administration Intradiscal rhGDF-5 for the Treatment of Early Stage Lumbar Disc Degeneration [Internet]. *ClinicalTrials.gov* ; 2016 [cité 24 janv 2021]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01158924>
165. A Multicenter, Randomized, Double-blind, Placebo Controlled, Clinical Trial to Evaluate the Safety, Tolerability and Preliminary Effectiveness of 2 Doses of Intradiscal rhGDF-5 (Single Administration) for the Treatment of Early Stage Lumbar Disc Degeneration [Internet]. *ClinicalTrials.gov* ; 2016 [cité 26 janv 2021]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01124006>
166. 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*. 2015;17:405-24.
167. Talevich E, Shain AH, Botton T, Bastian BC. CNVkit: Genome-Wide Copy Number Detection and Visualization from Targeted DNA Sequencing. *PLoS Comput Biol*. 2016;12:e1004873.
168. Backenroth D, Homsy J, Murillo LR, Glessner J, Lin E, Brueckner M, et al. CANOES: detecting rare copy number variants from whole exome sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2014;42:e97.

AUTEUR : Nom : DUFOUR

Prénom : William

Date de soutenance : 17 décembre 2020

Titre de la thèse : Etude clinique et moléculaire d'une cohorte de 79 patients présentant une variation pathogène du gène GDF5

Thèse - Médecine - Lille 2020

Cadre de classement : Génétique

DES + spécialité : Génétique Médicale

Mots-clés : Malformations des membres, GDF5, Brachydactylie.

Le gène *GDF5* est principalement exprimé au niveau des articulations durant la période embryonnaire. Il est connu pour être responsable de différentes pathologies osseuses selon son mécanisme d'altération : brachydactylie en cas de perte de fonction mono-allélique ; symphalangisme et synostoses multiples en cas de gain de fonction hétérozygote ; syndrome de Grebe, syndrome de Du Pan et syndrome de Hunter-Thompson en cas de perte de fonction bi-allélique ; susceptibilité à l'arthrose et dysplasie de hanche en présence de polymorphismes au sein de son promoteur. Par les nombreux phénotypes auxquels il est associé, *GDF5* illustre bien les difficultés d'interprétation des variations identifiées par les nouvelles techniques de séquençage. L'objectif principal de ce travail est la mise en évidence de corrélations génotype phénotype en lien avec des altérations de *GDF5*. Les objectifs secondaires sont la mise en évidence de phénotypes peu connus ainsi que la description précise des différentes atteintes. Nous avons étudié au sein du centre de référence des anomalies des membres de Lille une cohorte de 79 patients porteurs d'une variation pathogène du gène *GDF5*. Il s'agit d'une étude multicentrique internationale rétrospective basée sur les données cliniques et moléculaires de patients étudiés depuis 2000. Cette étude a mis en évidence que la clinodactylie du 2^{ème} rayon est significativement plus fréquente chez les patients de notre cohorte comparativement à ceux décrits dans la littérature jusqu'à présent. Le manque de puissance de notre échantillon de patients n'a pas permis de mettre en évidence d'autres différences statistiquement significatives. Cependant, nous remarquons certaines atteintes qui semblent avoir une fréquence plus importante dans notre cohorte par rapport à la littérature, notamment l'atteinte dentaire, l'atteinte des hanches et l'hyperlaxité.

Composition du Jury :

Présidente et Directrice de thèse :

Madame le Professeur Sylvie MANOUVRIER

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Bernard CORTET

Madame le Professeur Florence PETIT

Madame le Docteur Aurélie MEZEL

Madame le Docteur Fabienne ESCANDE