



Faculté de médecine

Année 2025/2026

N°

# Thèse

Pour le

## DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

**Elodie RICHARD**

---

### TITRE

**Analyse de l'exome de patients présentant une sclérose latérale  
amyotrophique de forme familiale**

---

Présentée et soutenue publiquement le **27 octobre 2025** devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Hélène BLASCO, Biochimie et biologie moléculaire, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur Philippe LANOTTE, Microbiologie-Immunologie-Bioépidémiologie, Faculté de Pharmacie – Tours

Docteur Marie-Laure VUILLAUME-WINTER, Génétique, MCU-PH Faculté de Médecine – Tours

Docteur Stéphane BELTRAN, Neurologie, PH, CHU-Tours

**Directeur de thèse : Professeur Patrick VOURC'H, Biochimie et biologie moléculaire, Faculté de Médecine – Tour**

## RÉSUMÉ

La sclérose latérale amyotrophique ou maladie de Charcot est une maladie neurodégénérative caractérisée par une dégénérescence des motoneurones conduisant à une paralysie progressive. Une composante génétique de plus en plus importante est apparue dans cette maladie ces dernières années. Toutefois, chez un nombre significatif de patients, le diagnostic génétique demeure non contributif (absence d'identification d'un variant de classe 3, 4 ou 5 et d'expansion pathologique dans le gène *C9ORF72*), et ce malgré la présence de plusieurs cas familiaux. L'objectif principal de notre travail a été d'étudier par séquençage de l'exome (exons des 22000 gènes du génome) de manière rétrospective un groupe de dix patients atteints de SLA de forme familiale pour lesquels l'approche classique de diagnostic génétique a été négative. Chez les 10 patients étudiés, les séquençages de leurs exomes ont révélé une diversité notable de variants d'intérêt dans les gènes suivants : *SOD3*, *AQP4*, *GPR132*, *UQCRC1*, *LRRK2*, *SYNE1* et *POLG*. Il a été détecté des variants d'intérêt chez 7 patients sur dix. En parallèle de cette approche diagnostique, les variants rares et prédits délétères ont fait l'objet d'une analyse d'enrichissement fonctionnel. Cette analyse par patients, a permis de confirmer la pertinence de variants déjà identifiés et de mettre en évidence de nouveaux variants d'intérêt. L'étude d'enrichissement fonctionnel des variants rares et délétères, réalisée à l'échelle du groupe, a montré que 6 à 7 patients sur dix avaient des variants rares et délétères dans des gènes impliqués dans deux voies biologiques : la modification post traductionnelle des protéines et la réparation de l'ADN. Ainsi, le séquençage de l'exome apparaît comme un outil stratégique très intéressant pour élargir le spectre génétique connu de la SLA, pour affiner le diagnostic des patients, et générer de nouvelles hypothèses physiopathologiques. Le séquençage de l'exome, au-delà de son intérêt dans la SLA, ouvre des perspectives pour améliorer la classification des atteintes du motoneurone, et des pathologies neurodégénératives et ainsi améliorer leur prise en charge.

Mots clés : SLA, exome, motoneurone, variants génétiques

## ABSTRACT

### **Exome analysis of patients with familial forms of amyotrophic lateral sclerosis**

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), also known as Charcot's disease, is a neurodegenerative disorder characterized by the degeneration of motor neurons, leading to progressive paralysis. In recent years, a growing genetic component has been recognized in this disease. However, in a significant proportion of patients, genetic testing remains non-contributory (no identification of class 3, 4, or 5 variants and no pathological expansion in the *C9ORF72* gene), despite the presence of multiple familial cases. The objective of this study was to retrospectively analyze the exomes (all exons of the 22,000 genes of the genome) of a cohort of ten patients with familial ALS for whom conventional genetic diagnostic approaches had been negative. Exome sequencing in these ten patients revealed a notable diversity of variants of interest in the following genes: *SOD3*, *AQP4*, *GPR132*, *UQCRC1*, *LRRK2*, *SYNE1*, and *POLG*. Variants of interest were detected in seven out of ten patients. In parallel with this diagnostic approach, rare and predicted deleterious variants were subjected to functional enrichment analysis. Patient-specific analyses confirmed the relevance of previously identified variants and highlighted novel variants of interest. Group-level functional enrichment analysis of rare and deleterious variants showed that six to seven patients harbored variants in genes involved in two key biological pathways: post-translational protein modification and DNA repair.

Thus, exome sequencing emerges as a highly strategic tool to expand the known genetic spectrum of ALS, refine patient diagnosis, and generate new pathophysiological hypotheses. Beyond its specific application in ALS, exome sequencing offers broader perspectives for improving the classification of motor neuron disorders and neurodegenerative diseases, thereby enhancing patient management.

Keywords: ALS, exome, motor neuron, genetic variants

# LISTE DES PROFESSEURS DE L'UNIVERSITÉ DE TOURS

Faculté de Médecine de Tours

## DOYEN

Pr Denis ANGOULVANT

## VICE-DOYEN

Pr David BAKHOS

## ASSESEURS

Pr Philippe GATAULT, Pédagogie

Pr Alexandra AUDEMARD-VERGER, Relations internationales

Pr Clarisse DIBAO-DINA, Médecine générale

Pr Pierre-Henri DUCLUZEAU, Formation Médicale Continue

Pr Hélène BLASCO, Recherche

Pr Pauline SAINT-MARTIN, Vie étudiante

## RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Carole ACCOLAS

\*\*\*\*\*

## DOYENS HONORAIRES

Pr Emile ARON (†) – 1962-1966

Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962

Pr Georges DESBUQUOIS (†) - 1966-1972

Pr André GOUAZE (†) - 1972-1994

Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004

Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

Pr Patrice DIOT – 2014-2024

## PROFESSEURS EMERITES

Pr Gilles BODY

Pr Philippe COLOMBAT

Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL

Pr Patrice DIOT

Pr Luc FAVARD

Pr Bernard FOUQUET

Pr Yves GRUEL

Pr Gilles PAINAUD

Pr Frédéric PATAT

Pr Loïc VAILLANT

## PROFESSEURS HONORAIRES

D.ALISON – P. ANTHONIOZ – P. ARBEILLE – M. AUPART – A. AUTRET – D. BABUTY – C. BARTHELEMY – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – C. BONNARD – P. BONNET – P. BOUGNOUX – P. BURDIN – G. CALAIS – L. CASTELLANI – J. CHANDENIER – A. CHANTEPIE – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET – L. DE LA LANDE DE CALAN – P. DUMONT – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – D. GOGA – A. GOUDEAU – J.L. GUILMOT – O. HAILLOT – N. HUTEN – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – O. LE FLOCH – Y. LEBRANCHU – E. LECA – P. LECOMTE – AM. LEHR-DRYLEWICZ – E. LEMARIE – G. LEROY – G. LORETTE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAIN – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – D. PERROTIN – L. POURCELOT – R. QUENTIN – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – A. ROBIER – J.C. ROLLAND – P. ROSSET – D. ROYERE – A. SAINDELLE – E. SALIBA – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – J. WEILL

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

|                                      |                                                                 |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| AMELOT Aymeric .....                 | Neurochirurgie                                                  |
| ANDRES Christian .....               | Biochimie et biologie moléculaire                               |
| ANGOULVANT Denis .....               | Cardiologie                                                     |
| APETOH Lionel .....                  | Immunologie                                                     |
| AUDEMARD-VERGER Alexandra .....      | Médecine interne                                                |
| BACLE Guillaume.....                 | Chirurgie orthopédique et traumatologique                       |
| BAKHOS David .....                   | Oto-rhino-laryngologie                                          |
| BALLON Nicolas .....                 | Psychiatrie ; addictologie                                      |
| BARILLOT Isabelle .....              | Cancérologie ; radiothérapie                                    |
| BARON Christophe .....               | Immunologie                                                     |
| BEJAN-ANGOULVANT Théodora .....      | Pharmacologie clinique                                          |
| BERHOUE Julien .....                 | Chirurgie orthopédique et traumatologique                       |
| BERNARD Anne .....                   | Cardiologie                                                     |
| BISSON Arnaud .....                  | Cardiologie                                                     |
| BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle .... | Biologie cellulaire                                             |
| BLASCO Hélène.....                   | Biochimie et biologie moléculaire                               |
| BONNET-BRILHAULT Frédérique .....    | Physiologie                                                     |
| BOULOUIS Grégoire .....              | Radiologie et imagerie médicale                                 |
| BOURGUIGNON Thierry .....            | Chirurgie thoracique et cardiovasculaire                        |
| BRUNAUT Paul .....                   | Psychiatrie d'adultes, addictologie                             |
| BRUNEREAU Laurent .....              | Radiologie et imagerie médicale                                 |
| BRUYERE Franck .....                 | Urologie                                                        |
| BUCHLER Matthias .....               | Néphrologie                                                     |
| CAILLE Agnès .....                   | Biostat., informatique médical et technologies de communication |
| CAMUS Vincent .....                  | Psychiatrie d'adultes                                           |
| CARVAJAL-ALLEGRIA Guillermo .....    | Rhumatologie                                                    |
| CHAUMIER François .....              | Médecine palliative                                             |
| CORCIA Philippe.....                 | Neurologie                                                      |
| COTTIER Jean-Philippe .....          | Radiologie et imagerie médicale                                 |
| DE LUCA Arnaud .....                 | Nutrition                                                       |
| DEQUIN Pierre-François .....         | Thérapeutique                                                   |
| DESMIDT Thomas .....                 | Psychiatrie                                                     |
| DESOUBEUX Guillaume .....            | Parasitologie et mycologie                                      |
| DESTRIEUX Christophe .....           | Anatomie                                                        |
| DI GUISTO Caroline .....             | Gynécologie obstétrique                                         |
| DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague ..... | Anatomie & cytologie pathologiques                              |
| DUCLUZEAU Pierre-Henri .....         | Endocrinologie, diabétologie, et nutrition                      |
| EHRMANN Stephan .....                | Médecine intensive – réanimation                                |
| EL HAGE Wissam .....                 | Psychiatrie adultes                                             |
| ELKRIEF Laure .....                  | Hépatologie – gastroentérologie                                 |
| ESPITALIER Fabien .....              | Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence              |
| FAUCHIER Laurent .....               | Cardiologie                                                     |
| FOUGERE Bertrand .....               | Gériatrie et biologie du vieillissement                         |
| FRANCOIS Patrick.....                | Neurochirurgie                                                  |
| GATAULT Philippe .....               | Néphrologie                                                     |
| GAUDY-GRAFFIN Catherine .....        | Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière                   |
| GOUPILLE Philippe .....              | Rhumatologie                                                    |
| GUERIF Fabrice .....                 | Biologie et médecine du développement et de la reproduction     |
| GUILLON Antoine .....                | Médecine intensive – réanimation                                |
| GUILLON-GRAMMATICO Leslie .....      | Epidémiologie, économie de la santé et prévention               |
| GUYETANT Serge .....                 | Anatomie et cytologie pathologiques                             |
| GYAN Emmanuel .....                  | Hématologie, transfusion                                        |
| HALIMI Jean-Michel .....             | Thérapeutique                                                   |
| HERAULT Olivier .....                | Hématologie, transfusion                                        |
| HERBRETEAU Denis .....               | Radiologie et imagerie médicale                                 |
| HOURIOUX Christophe .....            | Biologie cellulaire                                             |
| IVANES Fabrice .....                 | Physiologie                                                     |

|                                 |                                                                 |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| JOUAN Youenn .....              | Médecine intensive-réanimation                                  |
| KERVARREC Thibault .....        | Anatomie et cytologie pathologiques                             |
| LABARTHE François .....         | Pédiatrie                                                       |
| LAFFON Marc .....               | Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence |
| LARDY Hubert .....              | Chirurgie infantile                                             |
| LARIBI Saïd.....                | Médecine d'urgence                                              |
| LARTIGUE Marie-Frédérique ..... | Bactériologie-virologie                                         |
| LAURE Boris .....               | Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie                       |
| LE NAIL Louis-Romée .....       | Cancérologie, radiothérapie                                     |
| LECOMTE Thierry .....           | Gastroentérologie, hépatologie                                  |
| LEDUCQ Sophie .....             | Dermatologie                                                    |
| LEFORT Bruno .....              | Pédiatrie                                                       |
| LEGRAS Antoine .....            | Chirurgie thoracique                                            |
| LEMAIGNEN Adrien .....          | Maladies infectieuses                                           |
| LESCANNE Emmanuel .....         | Oto-rhino-laryngologie                                          |
| LEVESQUE Éric .....             | Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence |
| LINASSIER Claude .....          | Cancérologie, radiothérapie                                     |
| MACHET Laurent .....            | Dermato-vénéréologie                                            |
| MAILLOT François .....          | Médecine interne                                                |
| MARCHAND-ADAM Sylvain .....     | Pneumologie                                                     |
| MARRET Henri .....              | Gynécologie-obstétrique                                         |
| MARUANI Annabel .....           | Dermatologie-vénéréologie                                       |
| MEREGHETTI Laurent .....        | Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière                  |
| MITANCHEZ Delphine .....        | Pédiatrie                                                       |
| MOREL Baptiste .....            | Radiologie pédiatrique                                          |
| MORINIERE Sylvain .....         | Oto-rhino-laryngologie                                          |
| MOUSSATA Driffa .....           | Gastro-entérologie                                              |
| MULLEMAN Denis .....            | Rhumatologie                                                    |
| ODENT Thierry .....             | Chirurgie infantile                                             |
| OUAISSI Mehdi .....             | Chirurgie digestive                                             |
| OULDAMER Lobna .....            | Gynécologie-obstétrique                                         |
| PARE Arnaud .....               | Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie                       |
| PASI Marco .....                | Neurologie                                                      |
| PERROTIN Franck .....           | Gynécologie-obstétrique                                         |
| PISELLA Pierre-Jean .....       | Ophtalmologie                                                   |
| PLANTIER Laurent .....          | Physiologie                                                     |
| REMERAND Francis .....          | Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence              |
| ROINGEARD Philippe.....         | Biologie cellulaire                                             |
| RUSCH Emmanuel .....            | Epidémiologie, économie de la santé et prévention               |
| SAINT-MARTIN Pauline .....      | Médecine légale et droit de la santé                            |
| SALAME Ephrem .....             | Chirurgie digestive                                             |
| SAMIMI Mahtab .....             | Dermatologie-vénéréologie                                       |
| SANTIAGO-RIBEIRO Maria .....    | Biophysique et médecine nucléaire                               |
| SAUTENET-BIGOT Bénédicte .....  | Thérapeutique                                                   |
| THOMAS-CASTELNAU Pierre .....   | Pédiatrie                                                       |
| VOURC'H Patrick .....           | Biochimie et biologie moléculaire                               |
| WATIER Hervé .....              | Immunologie                                                     |
| ZEMMOURA Ilyess .....           | Neurochirurgie                                                  |

## **PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE**

DIBAO-DINA Clarisse  
LEBEAU Jean-Pierre  
PAUTRAT Maxime

## **PROFESSEURS ASSOCIES**

BARBEAU Ludivine ..... Médecine Générale || LIMA MALDONADO Igor ..... | Anatomie |

MALLET Donatien ..... Soins palliatifs  
 SAMKO Boris ..... Médecine générale  
 RUIZ Christophe ..... Médecine générale

#### **PROFESSEUR CERTIFIE DU 2<sup>ND</sup> DEGRE**

MC CARTHY Catherine ..... Anglais

#### **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

CANCEL Mathilde ..... Cancérologie, radiothérapie  
 CHESNAY Adélaïde ..... Parasitologie et mycologie  
 DE FREMINVILLE Jean-Baptiste ..... Cardiologie  
 DOMELIER Anne-Sophie ..... Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière  
 DUFOUR Diane ..... Biophysique et médecine nucléaire  
 EYMIEUX Sébastien ..... Biologie cellulaire  
 FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie ..... Anatomie et cytologie pathologiques  
 GARGOT Thomas ..... Pédiopsychiatrie  
 GOUILLEUX Valérie ..... Immunologie  
 HOARAU Cyrille ..... Immunologie  
 KHANNA Raoul Kanav ..... Ophtalmologie  
 LE GUELLEC Chantal ..... Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique  
 LE TILLY Olivier ..... Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique  
 LEJEUNE Julien ..... Hématologie, transfusion  
 LEROY Victoire ..... Médecine interne  
 MORICE Anne ..... Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie  
 MOUMNEH Thomas ..... Médecine d'urgence  
 PASTUSZKA Adeline ..... Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière  
 PIVER Éric ..... Biochimie et biologie moléculaire  
 RAVALET Noémie ..... Hématologie, transfusion  
 ROUMY Jérôme ..... Biophysique et médecine nucléaire  
 STANDLEY-MIQUELESTORENA Elodie ..... Anatomie et cytologie pathologiques  
 STEFIC Karl ..... Bactériologie  
 TERNANT David ..... Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique  
 VALLET Nicolas ..... Hématologie, transfusion  
 VAYNE Caroline ..... Hématologie, transfusion  
 VUILLAUME-WINTER Marie-Laure..... Génétique

#### **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES**

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia ..... Neurosciences  
 AUBRY Jean-Denis ..... Sciences infirmières  
 BLANC Romuald ..... Orthophonie  
 EL AKIKI Carole ..... Orthophonie  
 NICOGLOU Antonine ..... Philosophie – histoire des sciences et des techniques  
 PATIENT Romuald ..... Biologie cellulaire  
 RENOUX-JACQUET Cécile ..... Médecine Générale

#### **MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES**

AUMARECHAL Alain ..... Médecine Générale  
 BALAND Thierry ..... Médecine Générale  
 CHALEIX Lysiane ..... Médecine Générale  
 CHAMANT Christelle ..... Médecine Générale  
 DUMAS Adrien ..... Médecine Générale  
 ETTORI Isabelle ..... Médecine Générale  
 MOLINA Valérie ..... Médecine Générale  
 PHILIPPE Laurence ..... Médecine Générale

#### **CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRAE**

BECKER Jérôme ..... Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253  
 BLOCH Solal ..... Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253

|                             |                                                       |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------|
| BOUAKAZ Ayache .....        | Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253       |
| BOUTIN Hervé .....          | Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253       |
| BRIARD Benoit .....         | Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100          |
| DE ROCQUIGNY Hugues .....   | Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259          |
| ESCOFFRE Jean-Michel .....  | Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253          |
| GILOT Philippe .....        | Chargé de Recherche Inrae – UMR Inrae 1282            |
| GOMOT Marie .....           | Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253         |
| GOUILLEUX Fabrice .....     | Directeur de Recherche CNRS – UMR Inserm 1100         |
| GUEGUINO Maxime .....       | Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1069          |
| HAASE Georg .....           | Chargé de Recherche Inserm - UMR Inserm 1253          |
| HENRI Sandrine .....        | Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100      |
| HEUZE-VOURCH Nathalie ..... | Directrice de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100      |
| KORKMAZ Brice .....         | Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100          |
| LABOUTE Thibaut .....       | Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253          |
| LATINUS Marianne .....      | Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253         |
| LAUMONNIER Frédéric .....   | Directeur de Recherche Inserm - UMR Inserm 1253       |
| LE MERRER Julie .....       | Directrice de Recherche CNRS – UMR Inserm 1253        |
| MAMMANO Fabrizio .....      | Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1259       |
| PAGET Christophe .....      | Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100       |
| RAOUL William .....         | Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1069          |
| SECHER Thomas .....         | Chargé de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100          |
| SI TAHAR Mustapha .....     | Directeur de Recherche Inserm – UMR Inserm 1100       |
| SUREAU Camille .....        | Directeur de Recherche émérite CNRS – UMR Inserm 1259 |
| TANTI Arnaud .....          | Chargé de Recherche Inserm - UMR Inserm 1253          |
| WARDAK Claire .....         | Chargée de Recherche Inserm – UMR Inserm 1253         |

## **CHARGES D'ENSEIGNEMENT**

### ***Pour l'éthique médicale***

|                        |                       |
|------------------------|-----------------------|
| BIRMELE Béatrice ..... | Praticien Hospitalier |
| LEONARD Thomas .....   | Praticien Hospitalier |

### ***Pour la médecine manuelle et l'ostéopathie médicale***

|                    |                       |
|--------------------|-----------------------|
| LAMANDE Marc ..... | Praticien Hospitalier |
|--------------------|-----------------------|

### ***Pour l'orthophonie***

|                                     |                       |
|-------------------------------------|-----------------------|
| BATAILLE Magalie .....              | Orthophoniste         |
| CABANNE-Hardy Marie-Charlotte ..... | Orthophoniste         |
| CLOUTOUR Nathalie .....             | Orthophoniste         |
| CORBINEAU Mathilde .....            | Orthophoniste         |
| GLAIE Axelle .....                  | Orthophoniste         |
| HARIVEL OUALLI Ingrid .....         | Orthophoniste         |
| IMBERT Mélanie .....                | Orthophoniste         |
| MORIN Eléonore.....                 | Orthophoniste         |
| NAL Emmanuel .....                  | Praticien Hospitalier |
| PILLER Anne-Gaëlle .....            | Orthophoniste         |
| PUJOLE Dorine .....                 | Orthophoniste         |
| ROUVRE Olivier .....                | Orthophoniste         |
| SIZARET Eva .....                   | Orthophoniste         |
| TAMIATTO Zinaida .....              | Orthophoniste         |

### ***Pour l'orthoptie***

|                         |             |
|-------------------------|-------------|
| BOULNOIS Sandrine ..... | Orthoptiste |
| SALAME Najwa .....      | Orthoptiste |

### ***Pour la santé au travail***

|                         |                        |
|-------------------------|------------------------|
| MONMOUSSEAU Fanny ..... | Praticien Hospitalier  |
| NGUYEN Duc Qui .....    | Dirigeant d'entreprise |

### ***Pour la Médecine Générale***

|                       |                     |
|-----------------------|---------------------|
| LOISON Clotilde ..... | Médecin Généraliste |
|-----------------------|---------------------|

## SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des enseignants et enseignantes  
de cette Faculté,  
de mes chers condisciples  
et selon la tradition d'Hippocrate,  
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur  
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits aux indigents,  
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis(e) dans l'intérieur des maisons, mes yeux  
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira  
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas  
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux(euse) et reconnaissant(e) envers mes Maîtres,  
je rendrai à leurs enfants  
l'instruction que j'ai reçue de leurs parents.

Que les hommes et les femmes m'accordent leur estime  
si je suis fidèle à mes promesses.  
Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères et consœurs  
si j'y manque.

## REMERCIEMENTS

La réalisation de cette thèse d'exercice n'aurait jamais pu aboutir sans le soutien et l'accompagnement de nombreuses personnes que je souhaite ici remercier chaleureusement.

### A tous les membres de mon jury

**À Madame la Professeure Hélène BLASCO**, merci d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse et de me faire l'honneur de présider ce jury. Ton immense capacité de travail, ton engagement dans la recherche et ton investissement constant dans la SLA forcent l'admiration. Je garderai un souvenir particulier de nos missions promotions vidéos, que j'ai, contre toute attente, pris plaisir à réaliser. Merci de m'avoir encouragée à sortir de ma zone de confort. Reçois ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Philippe LANOTTE**, merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury et d'évaluer ce travail. Votre expertise constitue un véritable privilège pour l'appréciation de cette thèse. Je tiens également à vous remercier pour votre aide précieuse, qui m'a permis de trouver des réponses à mes interrogations, parfois aux confins de la nuit, lors des gardes polyvalentes au sein du laboratoire de bactériologie de Trousseau. Recevez ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

**A Madame la Docteure Marie-Laure VUILLAUME-WINTER**, merci d'avoir accepté d'évaluer ce travail, malgré un quotidien déjà bien chargé. J'aurais tant de remerciements à t'adresser... Merci pour ta gentillesse, ta compréhension, et pour m'avoir permis de trouver le temps nécessaire afin de travailler sereinement sur cette thèse. Merci également de m'avoir formé à l'interprétation des exomes et de continuer à m'accompagner dans l'apprentissage de la lecture des génomes. Tu m'as appris, au-delà de la technique, la résilience et la persévérance face aux aléas parfois inattendus d'un laboratoire.

Reçois ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

**A Monsieur le Docteur Stéphane BELTRAN**, merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury et de juger ce travail. Votre expertise dans la prise en charge des patients atteints de SLA représente un atout majeur pour l'appréciation de cette thèse. Je suis particulièrement honorée

de pouvoir bénéficier de votre regard éclairé et de votre expérience clinique, qui apportent une dimension précieuse et concrète à l'évaluation de ce travail. J'espère, à l'avenir, que ce travail pourra être utile dans la prise en charge de vos patients.

Recevez ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Patrick VOURC'H**, je tiens à vous adresser un immense merci pour votre gentillesse, votre patience et vos encouragements constants tout au long de ce travail de thèse. Merci d'avoir toujours pris le temps de répondre à mes nombreux mails, souvent longs et parfois pressés, avec disponibilité et bienveillance. Vous avez été, et êtes encore, un véritable pilier dans mon parcours. Depuis le master 2 recherche jusqu'aux différents projets que nous avons partagés, votre soutien et vos conseils éclairés ont été essentiels à ma progression. J'ai une profonde reconnaissance envers vous, non seulement pour votre accompagnement scientifique, mais aussi pour la confiance que vous m'avez accordée et pour toutes les responsabilités et missions que vous m'avez confiées, qui m'ont permis d'apprendre bien au-delà de la thèse. Votre présence, votre écoute et votre engagement ont fait une réelle différence dans mon parcours, et je mesure la chance que j'ai de pouvoir vous avoir à mes côtés.

Recevez ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

## ABRÉVIATIONS

ACMG : American College of Medical Genetics

BAM : Binary Alignment/Map

BCL : Base Call files

CNV : Copy Number Variation

CRP : Protéine C-Réactive

ddNTPs : Didésoxynucléotides

DFT : Démence Fronto-Temporale

ERAD : Voie de dégradation des protéines associée au réticulum endoplasmique

FDA : Federal Drug Association

HGVS : Human Genome Variation Society

IBMPFD : Inclusion Body Myopathy with early-onset Paget disease and Frontotemporal Dementia

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

NGS : Next Generation Sequencing

NMD : Nonsense-Mediated Decay

PEM : Potentiels Évoqués Moteurs

RNAseq : RNA sequencing

SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique

SMT : Stimulation Magnétique Transcrânienne

SNV : Single Nucleotide Variant

STAHP : Spastic Tetraplegia and Axial Hypotonia, Progressive

STR : Short Tandem Repeat

SV : Structural Variant

UPS : Système Ubiquitine-Protéasome

WES : Whole Exome Sequencing

WGS : Whole Genome Sequencing

# TABLE DES MATIÈRES

|                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUCTION.....</b>                                                          | <b>18</b> |
| 1. La sclérose latérale amyotrophique.....                                        | 18        |
| 1.1. Définition et épidémiologie.....                                             | 18        |
| 1.2. Formes cliniques.....                                                        | 18        |
| 1.3. Examens para-cliniques.....                                                  | 19        |
| 1.3.1. Biologie.....                                                              | 19        |
| 1.3.2. Électroneuromyogramme.....                                                 | 19        |
| 1.3.3. IRM cérébrale et médullaire.....                                           | 20        |
| 1.3.4. Potentiels évoqués moteurs par stimulation magnétique.....                 | 20        |
| 1.4. Critères diagnostiques.....                                                  | 20        |
| 1.5. Thérapeutiques.....                                                          | 22        |
| 1.5.1. Traitements pharmacologiques.....                                          | 22        |
| 1.5.2. Soins symptomatiques et de soutien.....                                    | 23        |
| 1.5.3. Thérapies expérimentales.....                                              | 23        |
| 1.6. Etiologies.....                                                              | 24        |
| 1.6.1. Facteurs environnementaux.....                                             | 24        |
| 1.6.2. Facteurs génétiques.....                                                   | 24        |
| 1.6.2.1. Formes familiales et sporadiques.....                                    | 24        |
| 1.6.2.2. Gènes impliqués.....                                                     | 25        |
| 1.6.2.3. Corrélation génotype/phénotype.....                                      | 26        |
| 1.7. Mécanismes neurodégénératifs dans la SLA.....                                | 26        |
| 1.7.1. Stress oxydatif et dysfonction mitochondriale.....                         | 27        |
| 1.7.2. L'excitotoxicité glutamatergique.....                                      | 28        |
| 1.7.3. Dysfonction des protéines de liaison à l'ARN.....                          | 28        |
| 1.7.4. Neuro-inflammation.....                                                    | 28        |
| 1.7.5. Interactions entre mécanismes pathologiques.....                           | 29        |
| 1.8. Organisation du diagnostic moléculaire de la SLA en France.....              | 29        |
| 1.8.1 Les laboratoires de biologie médicale de référence sur la SLA.....          | 29        |
| 1.8.2 Le diagnostic moléculaire de la SLA.....                                    | 29        |
| 2. Séquençage de l'ADN.....                                                       | 30        |
| 2.1. Nouvelles technologies de séquençage : NGS (Next Generation Sequencing)..... | 30        |
| 2.1.1. Principe et étapes clés.....                                               | 30        |

|                                                                                                            |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.1.2. Technologies majeures (Illumina, Roche, Ion Torrent).....                                           | 31        |
| 2.1.3. Alignement sur le génome de référence .....                                                         | 32        |
| 2.1.4. Les différents types de variants .....                                                              | 33        |
| 2.1.5. Interprétation fonctionnelle des variants .....                                                     | 34        |
| 2.2. Différentes approches de séquençage de l'ADN .....                                                    | 36        |
| 2.2.1. Gène unique.....                                                                                    | 37        |
| 2.2.2. Panel de gènes .....                                                                                | 37        |
| 2.2.3. Exome.....                                                                                          | 37        |
| 2.2.4. Génome .....                                                                                        | 38        |
| 3. Intérêt du séquençage de l'exome dans la SLA.....                                                       | 39        |
| 3.1. Identification de variants pathogènes dans des gènes connus .....                                     | 39        |
| 3.2. Identification de nouveaux gènes .....                                                                | 39        |
| 3.3. Réanalyse des exomes .....                                                                            | 39        |
| 4. Objectif.....                                                                                           | 40        |
| <b>MATERIEL ET METHODE .....</b>                                                                           | <b>41</b> |
| 1. Recueil des données cliniques, paracliniques et génétiques des patients SLA et/ou DFT (2019–2025).....  | 41        |
| 2. Sélection des échantillons d'ADN pour le séquençage de l'exome .....                                    | 41        |
| 3. Séquençage de l'exome .....                                                                             | 42        |
| 3.1. Préparation des librairies et capture des exons .....                                                 | 42        |
| 3.1.1 Fragmentation enzymatique, réparation des extrémités et ajout de queues d'adénine (dA-tailing) ..... | 43        |
| 3.1.2 Ligation des adaptateurs universels Twist et purification .....                                      | 43        |
| 3.1.3 Amplification PCR avec les amorces Twist UDI, purification et contrôle qualité.....                  | 43        |
| 3.1.4. Préparation des librairies et hybridation.....                                                      | 44        |
| 3.1.5 Capture sur billes de streptavidine .....                                                            | 45        |
| 3.1.6. Amplification post capture, purification et contrôle qualité .....                                  | 45        |
| 3.1.7. Préparation des librairies avant séquençage .....                                                   | 45        |
| 3.2. Séquençage .....                                                                                      | 45        |
| 3.3. Analyse bio-informatique .....                                                                        | 46        |
| 4. Analyse et interprétation des variants.....                                                             | 47        |
| 5. Test d'enrichissement fonctionnel.....                                                                  | 48        |
| <b>RÉSULTATS .....</b>                                                                                     | <b>50</b> |
| 1. Caractérisation des patients SLA et/ou DFT (2019–2025) .....                                            | 50        |
| 2. Données qualité du séquençage de l'exome des échantillons S1 à S11 .....                                | 54        |
| 3. Interprétation clinico-biologique des variants .....                                                    | 56        |
| 3.1 Approche diagnostique individuelle.....                                                                | 56        |
| 3.1.1. Patients S2 et S3.....                                                                              | 58        |

|                                                                                           |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.1.2. Patients S4 et S5.....                                                             | 59         |
| 3.1.3. Patient S6.....                                                                    | 61         |
| 3.1.4. Patients S7 et S8.....                                                             | 62         |
| 3.1.5. Patient S9.....                                                                    | 63         |
| 3.1.6. Patient S10.....                                                                   | 66         |
| 3.1.7 Patient S11.....                                                                    | 67         |
| 3.2. Approche exploratoire.....                                                           | 69         |
| 3.2.1 Regroupement fonctionnel des variants par patients.....                             | 69         |
| 3.2.2 Regroupement fonctionnel des variants de la cohorte exome .....                     | 71         |
| 3.2.2.1 Analyse d'enrichissement fonctionnel avec la base Reactome Pathways 2024 .....    | 73         |
| 3.2.2.2 Analyse d'enrichissement fonctionnel avec la base Go biological process 2025..... | 74         |
| <b>DISCUSSION.....</b>                                                                    | <b>77</b>  |
| <b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>                                                   | <b>86</b>  |
| <b>ANNEXES.....</b>                                                                       | <b>88</b>  |
| <b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>                                                                | <b>112</b> |

## LISTE DES FIGURES

**Figure 1 :** *Les critères diagnostiques d’Airlie House (ou critères d’El Escorial révisés)*

**Figure 2 :** *Les critères diagnostiques d’Awaji-Shima (d’après Guennoc et al.)*

**Figure 3 :** *Mécanismes physiopathologiques dans la SLA (adapté de Hardiman et al.)*

**Figure 4 :** *Principe de la technologie de séquençage NGS Illumina*

**Figure 5 :** *Critères de l’ACMG d’aide à la classification des variants (adapté de Richards et al.)*

**Figure 6 :** *Vue globale du protocole de préparation des librairies (Enzymatic Fragmentation and Twist Universal Adapter System, Twist Bioscience)*

**Figure 7 :** *Vue globale du protocole de capture ciblée des régions exoniques (Twist Target Enrichment Standard Hybridization v1, Twist Bioscience)*

**Figure 8 :** *Représentation des formes familiales et non familiales chez une population de patients du LBMR SLA Tours testée en NGS panel ciblé de gènes SLA et/ou DFT entre le 1er janvier 2019 et le 1er janvier 2025*

**Figure 9 :** *Antécédents familiaux neurodégénératifs et/ou neuromusculaires, excepté SLA et/ou DFT*

**Figure 10 :** *Identification de variants pathogènes et probablement pathogènes dans les formes familiales élargies et formes familiales SLA et/ou DFT après les analyses NGS ciblant les gènes associés à la SLA et/ou DFT*

**Figure 11 :** *Gènes avec variants pathogènes ou probablement pathogènes identifiés par analyse NGS panel ciblé sur les gènes de la SLA/DFT*

**Figure 12 :** *Nombre de reads (en millions) par échantillons générés lors du séquençage*

**Figure 13 :** *Nombre de variants fichier VCF brut et fichier VCF filtré*

**Figure 14 :** *Présence du variant SOD1 p.Asn21Ser (visualisation IGV Integrative Genomics Viewer) dans l’échantillon SI*

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau I :** *Résumé des variants d'intérêt retenus par patient à l'issue de l'interprétation clinico-biologique des variants*

**Tableau II :** *Résumé des résultats de l'analyse d'enrichissement fonctionnel (Reactome Pathways 2024 et GO biological process 2025) des variants rares et prédits délétères identifiés chez les dix patients*

## LISTE DES ANNEXES

**Annexe 1 :** *Revue de la littérature et des bases de données OMIM et ClinVar concernant des gènes retrouvés avec variants d'intérêt (classe 3, 4 et 5) chez des patients dont le phénotype associé est SLA et/ou DFT*

**Annexe 2 :** *Liste des gènes du panel NGS ciblé gènes SLA/DFT - Sang - CHU Tours*

**Annexe 3 :** *Schéma du pipeline bioinformatique TOURGEN appliqué à l'analyse de données de Whole Exome Sequencing (WES) (développé et réalisé par Tarek Alouane)*

**Annexe 4 :** *Outils, versions et sources utilisés par l'application MobiDetails pour l'annotation et l'interprétation des variants*

**Annexe 5 :** *Liste des gènes avec variants rares et prédits délétères par patients*

**Annexe 6 :** *Liste des gènes avec variants rares et prédits délétères de l'ensemble des 10 patients*

# INTRODUCTION

## 1. La sclérose latérale amyotrophique

### 1.1. Définition et épidémiologie

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une pathologie neurodégénérative de l'adulte caractérisée par la dégénérescence progressive des motoneurons centraux et périphériques. Cette dégénérescence entraîne une paralysie progressive (1).

En France, la SLA touche environ 8 000 personnes, avec une incidence annuelle estimée à 2,5 nouveaux cas pour 100 000 habitants, soit environ 1 500 nouveaux cas par an. Le pic d'incidence se situe entre 65 et 75 ans (2). La médiane de survie est actuellement de 48 mois avec des extrêmes à 6 mois et 15 ans (3). Le décès est généralement lié à des complications respiratoires, consécutives à la paralysie des muscles respiratoires, et fréquemment aggravées par des troubles de la déglutition (1).

Au-delà de ces données épidémiologiques et pronostiques, la SLA se manifeste cliniquement selon plusieurs formes distinctes.

### 1.2. Formes cliniques

Dans 75% des cas, la SLA se présente sous une forme dite classique avec une faiblesse musculaire, une raideur des membres supérieurs et/ou inférieurs (initialement distale), une amyotrophie et des fasciculations. On parle de forme spinale. Ces anomalies motrices vont ensuite atteindre les muscles du cou, de la langue, du pharynx et du larynx (4 ; 5).

Dans 25% des cas, la maladie touche le territoire bulbaire du tronc cérébral en premier, donnant lieu à des difficultés à parler et à avaler par atteinte des noyaux moteurs des nerfs crâniens. On parle de forme bulbaire. Cette forme est retrouvée à une fréquence plus élevée chez les femmes (sex ratio 2 à 3 femmes pour 1 homme) (5).

Dans de rares cas, il peut exister une atteinte des muscles thoraciques, abdominaux, postérieurs du cou ou du diaphragme à un stade précoce, entraînant notamment une chute de la tête ou une insuffisance respiratoire précoce (5).

Parfois, la SLA est associée à une démence fronto-temporale (DFT) qui donne lieu à des troubles du comportement et du langage surajoutés aux symptômes de la SLA (5). La SLA et la DFT sont considérées, actuellement, comme deux maladies situées sur un même spectre neurodégénératif, partageant des mécanismes pathologiques et parfois des mutations génétiques communes (expansion HRE dans le gène *C9ORF72*).

Le diagnostic clinique de SLA sera évoqué devant la combinaison de signes cliniques d'une atteinte du neurone moteur central et du neurone moteur périphérique associée à une diffusion progressive des symptômes. L'atteinte du neurone moteur central se caractérise par des réflexes ostéotendineux vifs dans un territoire déficitaire et amyotrophique. L'atteinte du neurone moteur périphérique repose sur l'apparition d'un déficit moteur avec amyotrophie et fasciculations sans atteinte de l'oculomotricité, de la sensibilité objective et des sphincters (3). Le diagnostic de SLA s'appuie sur la convergence d'arguments cliniques et paracliniques, ce qui requiert la confirmation des hypothèses formulées lors de l'examen clinique par la réalisation d'examens complémentaires.

### 1.3. Examens paracliniques

#### 1.3.1. Biologie

Le bilan biologique recommandé comprend un hémogramme, une vitesse de sédimentation et un dosage de la protéine C-réactive (CRP), complétés par l'analyse du liquide céphalorachidien. Ces examens se révèlent le plus souvent dans les limites de la normale. Néanmoins, certaines anomalies peuvent être observées, telles qu'une élévation de la CRP, un pic immunoglobulinique ou un taux d'anticorps anti-MAG élevé, sans qu'elles présentent une spécificité diagnostique ni une fréquence suffisamment significative pour constituer un argument en faveur de la maladie (3).

#### 1.3.2. Électroneuromyogramme

Il s'agit de l'examen de référence à réaliser. Il objective en détection des signes de dénervation, actifs et chroniques, intéressant les muscles des territoires moteurs déficitaires (ou pouvant l'anticiper) en région bulbaire, cervicale, thoracique et/ou lombaire. Lors de l'activité spontanée, il existe des fibrillations, des potentiels lents positifs (tardifs dans la maladie), des fasciculations (précoces et très évocatrices) et une absence de myokimies. Lors de la contraction volontaire, on note un recrutement en unités motrices et un tracé appauvri (perte de neurones moteurs). Il n'objective pas d'anomalie en stimulodétection motrice (notamment pas de troubles de conduction nerveuse de type bloc de conduction motrice sur les racines ou les troncs

nerveux), ni de trouble de la jonction neuromusculaire, ni d'atteinte des potentiels sensitifs (3 ; 6).

#### 1.3.3. IRM cérébrale et médullaire

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) cérébrale et médullaire ne met généralement pas en évidence d'anomalies pouvant expliquer l'ensemble des manifestations neurologiques observées dans la SLA. Toutefois, certains patients présentent une hyper intensité des faisceaux corticospinaux, notamment au niveau de la substance blanche sous-corticale, du centrum semiovale et des pyramides bulbo-médullaires (3 ; 7).

#### 1.3.4. Potentiels évoqués moteurs par stimulation magnétique

Les potentiels évoqués moteurs (PEM) par stimulation magnétique transcrânienne (SMT) permettent d'étudier de manière non invasive la conduction des motoneurons corticospinaux et de détecter d'éventuelles anomalies précoces dans la transmission nerveuse. En stimulant le cortex moteur et en enregistrant les réponses électromyographiques dans les muscles cibles, il est possible de mesurer le temps de latence d'apparition et l'amplitude des réponses, indicateurs de l'intégrité fonctionnelle du système corticospinal (8).

Dans le cadre de la SLA, les PEM sont utilisés afin d'évaluer la dysfonction de l'axe corticospinal. Chez les patients atteints de SLA, le rapport d'amplitude PEM/M (potentiels évoqués moteurs/réponse motrice M) est généralement diminué, tandis que le temps de conduction motrice centrale (TCMC) apparaît allongé, en raison de la perte prédominante des fibres à conduction rapide (9 ; 10).

#### 1.4. Critères diagnostiques

Le diagnostic de SLA repose sur un faisceau d'arguments cliniques, paracliniques et évolutifs (3). Il repose sur la présence simultanée de signes d'atteinte du neurone moteur périphérique, de signes d'atteinte du neurone moteur central, ainsi que sur la progression des symptômes et des signes cliniques. Il nécessite parallèlement l'absence de manifestations suggérant d'autres pathologies, telles que des troubles sensitifs, des troubles sphinctériens, des troubles oculomoteurs. Le diagnostic peut être renforcé par la présence de fasciculations dans une ou plusieurs régions, des modifications neurogènes à l'électromyogramme, la normalité de la conduction motrice et sensitive, ainsi que l'absence de bloc de conduction (11 ; 12).

Pour standardiser le diagnostic et faciliter la comparaison entre études et essais cliniques, les critères diagnostiques révisés d'El Escorial ont été établis (**figure 1**). Ils reposent sur l'identification systématique de signes cliniques et électrophysiologiques et distinguent plusieurs catégories : la SLA cliniquement définie, la SLA cliniquement probable, la SLA cliniquement probable étayée par des examens paracliniques et la SLA cliniquement possible.

| Critères d'Airlie House<br>(ou critères d'El Escorial révisés) (1998)<br><a href="http://www.wfnals.org">www.wfnals.org</a> | Définition clinique                                                                                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SLA cliniquement définie                                                                                                    | NMC* + NMP** dans 3 régions spinales<br><i>ou</i><br>2 régions spinale et bulbaire                   |
| SLA cliniquement probable                                                                                                   | NMC + NMP dans 2 régions au moins<br>avec NMC rostral/NMP                                            |
| SLA cliniquement probable<br>étayée par des examens paracliniques                                                           | NMC + NMP dans 1 région<br><i>ou</i><br>NMC dans 1 région et NMP par ENMG<br>dans au moins 2 membres |
| SLA cliniquement possible                                                                                                   | NMC + NMP dans 1 région<br><i>ou</i><br>NMC dans 2 régions<br><i>ou</i><br>NMP rostral/NMC           |
| SLA suspectée                                                                                                               | exclue                                                                                               |

**Figure 1** : Les critères diagnostiques d'Airlie House (ou critères d'El Escorial révisés). \*NMC : atteinte du neurone moteur central. \*\*NMP : atteinte du neurone moteur périphérique (d'après HAS, 2006) (13).

Néanmoins, la sensibilité de ces critères reste limitée dans les stades précoces, ce qui a conduit à l'émergence de critères complémentaires tels que les critères d'Awaji-Shima, intégrant de façon plus systématique les anomalies présentes à l'électroneuromyogramme (**figure 2**) (14).

| Tableau 3 – Les critères d'Awaji-Shima (De Carvalho et al., 2008).                                        |                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SLA certaine                                                                                              | Signes cliniques ou ENMG d'atteinte du NMP et de signes cliniques d'atteinte du NMc dans 3 territoires                                                                                                                                       |
| SLA probable                                                                                              | Signes cliniques ou ENMG d'atteinte du NMP et de signes cliniques d'atteinte du NMc dans 2 territoires avec présence de signes d'atteinte du NMc au-dessus de l'atteinte du NMP                                                              |
| SLA possible                                                                                              | Signes cliniques ou ENMG d'atteinte du NMP et de signes cliniques d'atteinte du NMc dans 2 territoires Ou Signes cliniques d'atteinte du NMc dans 2 territoires Ou Signes cliniques ou ENMG d'atteinte du NMP au-dessus de l'atteinte du NMc |
| SLA : sclérose latérale amyotrophique ; NMc : neurone moteur central ; NMP : neurone moteur périphérique. |                                                                                                                                                                                                                                              |

**Figure 2 :** Les critères diagnostiques d'Awaji-Shima (d'après Guennoc et al.) (14)

### 1.5. Thérapeutiques

Le traitement de la SLA demeure un défi majeur en raison de la complexité et de la progression rapide de cette maladie neurodégénérative. Bien qu'il n'existe actuellement aucun traitement curatif, plusieurs approches thérapeutiques ont été développées pour ralentir la progression de la maladie, atténuer les symptômes et améliorer la qualité de vie des patients.

#### 1.5.1. Traitements pharmacologiques

Le riluzole (Rilutek ®) est le traitement de référence pour la SLA, approuvé depuis 1995 par la Federal Drug Association (FDA) et depuis 1996 en France. Il agit en inhibant la libération du glutamate, un neurotransmetteur excitateur dont l'accumulation excessive provoque une excitotoxicité, pouvant être responsable en partie de la dégénérescence des motoneurons dans la SLA. Bien que son efficacité soit modeste, le riluzole prolonge la survie des patients de quelques mois en moyenne et retarde l'apparition des complications respiratoires (15 ; 16).

L'édaravone (Radicava ®), un antioxydant puissant, a été approuvé en 2017 par la FDA. Il neutralise les radicaux libres, atténuant ainsi le stress oxydatif, un des mécanismes clés dans la dégénérescence neuronale. Les essais cliniques ont montré des données contradictoires, notamment sur l'amélioration de la survie (17 ; 18). Il n'a pas d'autorisation en France.

Le tofersen (Qalsody®) est un oligonucleotide antisens administrable aux patients présentant un variant pathogène ou probablement pathogène dans le gène *SOD1*. Récemment, un essai clinique de phase 3 (19) a démontré que le tofersen réduisait les concentrations de

protéines SOD1 dans le liquide céphalorachidien. Toutefois, cette réduction biochimique ne s'est pas traduite par une amélioration des critères cliniques. Un essai clinique de phase 3 ATLAS est en cours pour évaluer l'efficacité du tofersen chez des adultes porteurs asymptomatiques de mutations du gène *SOD1*.

#### 1.5.2. Soins symptomatiques et de soutien

La spasticité et les crampes musculaires sont des symptômes fréquents chez les patients atteints de SLA. Leur prise en charge repose sur l'utilisation de relaxants musculaires, tels que le baclofène, ainsi que de molécules antiépileptiques comme la gabapentine, afin d'en soulager les manifestations. La dysphagie et la malnutrition exposent les patients à des risques de dénutrition et de fausses routes, rendant indispensable une prise en charge nutritionnelle adaptée, incluant l'évaluation régulière de l'état nutritionnel et l'adaptation des textures alimentaires si nécessaire. L'insuffisance respiratoire, conséquence de la faiblesse des muscles respiratoires, peut être atténuée par l'utilisation de dispositifs de ventilation non invasive, tels que des appareils de ventilation à pression positive, qui améliorent la qualité de vie et peuvent prolonger la survie. À un stade plus avancé, une trachéotomie avec ventilation mécanique invasive peut être envisagée selon l'évolution clinique et les souhaits du patient (3).

#### 1.5.3. Thérapies expérimentales

Avec l'identification d'anomalies génétiques impliquées dans la SLA (comme dans les gènes *SOD1*, *C9ORF72*, *TARDBP*), la thérapie génique se développe. A titre d'exemple, des vecteurs AAV ont été employés pour administrer des anticorps spécifiques dirigés contre les peptides toxiques issus des variants pathogènes du gène *C9ORF72*, réduisant leur accumulation et la neurodégénérescence associée (20). D'autres stratégies visent à réduire l'expression des protéines mutées SOD1, TDP-43 et FUS par des oligonucléotides antisens (exemple du tofersen ci-dessus ciblant les ARNm de SOD1) ou de petites molécules d'ARN interférents (siRNA) (21). Toutefois, l'efficacité et la sécurité de ces approches doivent pour certaines être validées par des essais cliniques.

L'utilisation de cellules souches pour remplacer les motoneurones endommagés ou soutenir la survie des cellules restantes est une autre stratégie en cours d'évaluation (22). L'inflammation chronique est un facteur clé dans la progression de la SLA, ainsi plusieurs traitements cherchent à moduler la réponse inflammatoire du système nerveux. Des essais évaluent par exemple des inhibiteurs de l'inflammasome et des cytokines, dans le but de réduire l'inflammation et le stress oxydatif dans le cerveau et la moelle épinière (23). Le masitinib est

un inhibiteur de tyrosine kinase ciblant les mastocytes et les microglies, des cellules impliquées dans l'inflammation du système nerveux central. Des études ont montré que le masitinib, en combinaison avec le riluzole, pourrait ralentir la progression de la SLA (24). Une autre thérapie en cours de recherche est le tirasemtiv. Il s'agit d'un activateur de la troponine musculaire, visant à améliorer la fonction musculaire chez les patients atteints de SLA. Cependant, les résultats des essais cliniques restent à confirmer (25).

## 1.6. Etiologies

L'étiologie de la SLA fait intervenir des facteurs environnement et génétiques.

### 1.6.1. Facteurs environnementaux

Plusieurs études épidémiologiques (26 ; 27) ont mis en évidence une série de facteurs environnementaux potentiellement impliqués, bien qu'aucun ne soit reconnu comme une cause directe. Parmi les principaux facteurs, l'exposition à des toxines environnementales telles que les métaux lourds (plomb, chrome, mercure, aluminium), les pesticides, et certains solvants organiques est associée à un risque accru de développer une SLA. Pour exemple, les personnes exposées au plomb sur une longue durée ont un risque plus élevé de développer une SLA (random-effects OR 1.81, 95% CI 1.39-2.35) (26 ; 28).

Les traumatismes physiques et crâniens récurrents, souvent observés chez certains athlètes et les militaires, sont également considérés comme un facteur de risque potentiel (29,30). Le stress oxydatif et l'inflammation, induits par des blessures répétées, pourraient accélérer la dégénérescence des motoneurons. D'ailleurs, une prévalence accrue de SLA a été rapportée chez les vétérans militaires, ce qui a conduit à des recherches sur les effets de l'exposition aux toxines de guerre, aux traumatismes physiques, et à l'entraînement intense (30 ; 31).

L'alimentation et le mode de vie joueraient aussi un rôle important. Des régimes riches en antioxydants, tels que la consommation de fruits et de légumes, pourraient avoir un effet protecteur (32 ; 33 ; 34).

### 1.6.2. Facteurs génétiques

#### 1.6.2.1. Formes familiales et sporadiques

On distingue des formes sporadiques de SLA (environ 90% des cas), c'est-à-dire sans antécédents familiaux de la maladie et des formes familiales de SLA (environ 10% des cas) (35). Trente gènes causaux permettent d'expliquer près de 50% des cas de SLAf et plus de 10% des cas de SLAs (36).

#### 1.6.2.2. Gènes impliqués

On dénombre, à l'heure actuelle, de nombreux gènes impliqués dans la SLA, que ce soient des facteurs causaux ou bien des facteurs de risque de survenue de la pathologie. Les facteurs causaux les plus couramment impliqués incluent les gènes *C9ORF72*, *SOD1*, *TARDBP* (codant pour la protéine TDP-43) et *FUS*.

Les expansions par répétition de l'hexaplet GGGGCC (HRE) dans *C9ORF72* sont responsables d'environ 30 à 60 % des formes familiales de SLA et de 5 à 10 % des formes sporadiques (37).

La variants pathogènes ou probablement pathogènes de *SOD1* (majoritairement des variants faux-sens dominants) explique environ 10 à 20 % des formes familiales et 1 à 2 % des cas sporadiques (37 ; 38). L'étude récente GENIALS, pilotée par Tours, en lien avec la filière maladies rares FILSLAN (SLA et autres maladies du motoneurones) et les laboratoires de diagnostics (LBMR) sur la SLA, a montré une mutation de *C9ORF72* et de *SOD1* chez 45% et 8.5% respectivement des patients avec SLA familiale (cohorte de 1000 patients) (211).

Les mutations de *TARDBP* (TDP-43) et *FUS* contribuent respectivement à 3–5 % et 2–4 % des formes familiales, et moins de 1 % des formes sporadiques, avec une pathogénèse liée à la dérégulation des ARNs et la formation d'agrégats cytoplasmiques (37 ; 39).

Ces quatre gènes sont largement reconnus dans la littérature et restent des cibles prioritaires pour la recherche et le développement de thérapies géniques.

Une revue de la littérature, complétée par l'exploitation de bases de données publiques telles que ClinVar et OMIM, ont permis d'identifier et de répertorier en **annexe 1** les gènes porteurs de variants d'intérêt décrits chez des patients atteints de SLA et/ou de DFT (variants classés de signification incertaine, probablement pathogène et pathogène) (40-147). Cette liste comprend au total 85 gènes. Actuellement, seulement 39 gènes sont explorés dans le cadre des panels ciblés gènes SLA/DFT utilisés en routine.

### 1.6.2.3. Corrélation génotype/phénotype

Parmi les gènes les plus étudiés, on trouve le gène *SOD1* (148 ; 149). Les variants pathogènes dans *SOD1* peuvent parfois être associés à une forme plus agressive de la maladie, avec un début précoce et une survie plus courte. Certains variants spécifiques dans ce gène, comme p.Ala4Val, conduisent à une progression extrêmement rapide (150 ; 151), tandis que d'autres, comme Asp91Ala, sont associés à une évolution plus lente (150 ; 152). Ce gène illustre très bien comment différents variants peuvent engendrer des variations phénotypiques importantes, influençant ici par exemple la survie.

Un autre gène, *C9ORF72*, dont la mutation HRE représente la cause la plus fréquente de SLA familiale, illustre également cette complexité génotype/phénotype. Les expansions répétées d'hexanucléotides (HRE) dans *C9ORF72* sont non seulement liées à la SLA, mais aussi à la DFT, soulignant la coexistence possible de symptômes moteurs et cognitifs chez les patients porteurs de cette mutation (153). Les porteurs de cette mutation présentent souvent une présentation clinique hétérogène, incluant des atteintes comportementales ou cognitives significatives, ainsi qu'une variation dans l'âge d'apparition, parfois tardif ou au contraire plus précoce (154).

Les mutations dans *FUS* sont liées à une forme plus rare mais souvent très agressive de la maladie, touchant des patients plus jeunes (155). Ceci illustre l'importance de l'étude génotypique dans le pronostic de la maladie.

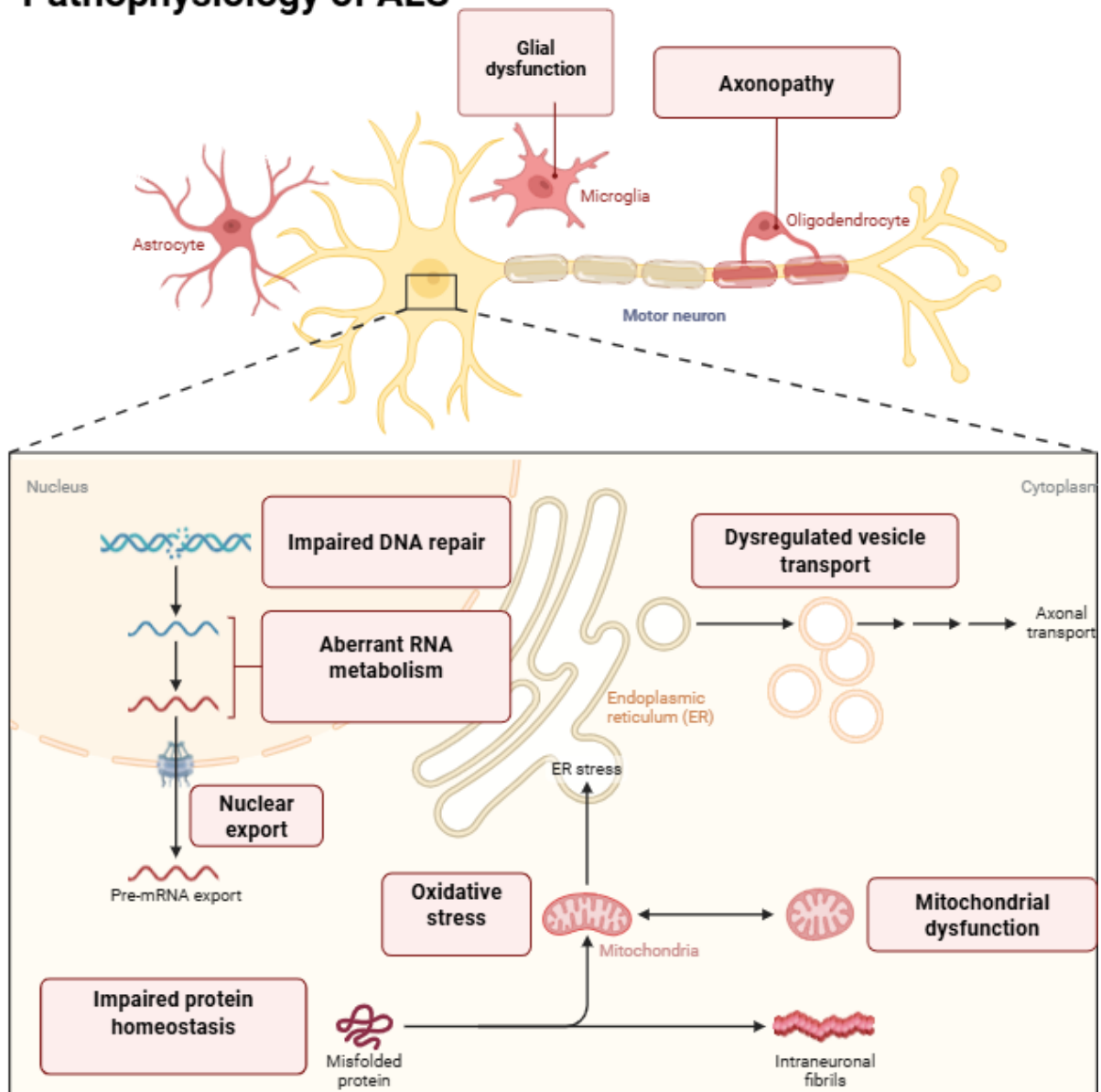
La corrélation génotype/phénotype ne se limite pas seulement aux gènes impliqués, mais inclut aussi des facteurs environnementaux et des facteurs génétiques modulateurs, comme des polymorphismes génétiques secondaires, qui peuvent influencer l'histoire naturelle de la maladie (156). Par exemple, il est possible que des polymorphismes dans des gènes non directement impliqués dans la pathologie puissent affecter la réponse au stress oxydatif, la réponse inflammatoire ou la capacité des cellules à gérer les agrégats protéiques. L'association de l'allèle APOE ε4 avec un âge de début plus précoce de la SLA, en l'absence de mutation du gène *SOD1*, a été rapportée en 2008 par Zetterberg et ses collaborateurs (212).

## 1.7. Mécanismes neurodégénératifs dans la SLA

Bien que l'étiologie exacte de la SLA reste non élucidée, plusieurs mécanismes neurodégénératifs convergent pour provoquer la perte neuronale. Ces mécanismes incluent le

stress oxydatif, l'excitotoxicité glutamatergique, les dysfonctionnements des protéines liées à l'ARN, l'inflammation gliale et les altérations mitochondriales (**figure 3**).

## Pathophysiology of ALS



**Figure 3 :** Mécanismes physiopathologiques dans la SLA (adapté de Hardiman et al. (157))

### 1.7.1. Stress oxydatif et dysfonction mitochondriale

Le stress oxydatif est un facteur central de la neurodégénérescence dans la SLA. Il résulte d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres, tels que les espèces réactives de l'oxygène (ROS), et les systèmes antioxydants intracellulaires. Les motoneurones sont particulièrement vulnérables à ce stress en raison de leur métabolisme énergétique élevé et de leur longue arborisation axonale. L'accumulation de ROS entraîne une oxydation des lipides

membranaires, des protéines et de l'ADN mitochondrial, provoquant une perte de l'intégrité cellulaire et une activation des voies apoptotiques (158).

Les mitochondries jouent un rôle crucial dans la production d'énergie et la régulation de la mort cellulaire. Dans la SLA, elles présentent des altérations morphologiques telles que des fragments anormaux et une dispersion axonale. Cette dysfonction mitochondriale réduit la production d'ATP et augmente la libération de ROS, accentuant le stress oxydatif et favorisant la mort neuronale (159).

#### 1.7.2. L'excitotoxicité glutamatergique

L'excitotoxicité est un mécanisme clé dans la dégénérescence des motoneurones. Elle est principalement médiée par le glutamate, le neurotransmetteur excitateur le plus abondant dans le système nerveux central. Dans la SLA, l'élimination du glutamate par les transporteurs astrocytaires est altérée, entraînant une accumulation synaptique. Cette sur stimulation des récepteurs ionotropes NMDA et AMPA provoque une entrée massive de calcium dans les motoneurones, activant des enzymes protéolytiques, des endonucléases et des caspases, conduisant à la dégradation des protéines et à la mort cellulaire (160).

L'excitotoxicité interagit également avec le stress oxydatif. L'excès de calcium intracellulaire perturbe la fonction mitochondriale, augmentant la production de ROS et déclenchant des boucles de rétroaction délétères qui accélèrent la neurodégénérescence.

#### 1.7.3. Dysfonction des protéines de liaison à l'ARN

Les protéines de liaison à l'ARN, telles que TDP-43 et FUS, régulent le transport, la maturation et la dégradation des ARNm. Dans la très grande majorité des cas de SLA, la protéine TDP-43 se retrouve délocalisée du noyau vers le cytoplasme, où elle forme des agrégats insolubles. Cette délocalisation entraîne un dysfonctionnement transcriptionnel et post-transcriptionnel, perturbant l'expression de nombreux gènes essentiels au fonctionnement et à la survie neuronale. De plus, ces agrégats cytoplasmiques peuvent interférer avec la dynamique des mitochondries et des axones, amplifiant le stress cellulaire (161).

#### 1.7.4. Neuro-inflammation

Les cellules gliales, comprenant astrocytes, microglies et oligodendrocytes, jouent un rôle ambivalent dans la SLA. Initialement, elles peuvent exercer des fonctions

neuroprotectrices, mais une activation chronique entraîne une réponse pro-inflammatoire délétère. Les microglies activées sécrètent des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$ , ainsi que des radicaux libres, contribuant à la dégénérescence neuronale. Les astrocytes dysfonctionnels, en plus de leur rôle dans l'excitotoxicité, perdent leur capacité à réguler l'homéostasie ionique et le métabolisme énergétique, aggravant le stress neuronal (162).

#### 1.7.5. Interactions entre mécanismes pathologiques

Les différentes voies neurodégénératives dans la SLA ne sont pas isolées. Le stress oxydatif exacerbe l'excitotoxicité, les agrégats protéiques aggravent le dysfonctionnement mitochondrial, et l'inflammation gliale amplifie la toxicité environnementale pour les motoneurones. Cette convergence de mécanismes crée un cercle vicieux de dégénérescence progressive.

### 1.8. Organisation du diagnostic moléculaire de la SLA en France

#### 1.8.1 Les laboratoires de biologie médicale de référence sur la SLA

En France, le diagnostic moléculaire de la SLA est assuré par trois laboratoires de biologie médicale de référence (LBMR) Diagnostic génétique de la SLA. Parmi ces laboratoires figurent : le service de biochimie et biologie moléculaire du CHU de Tours, le service de biochimie et biologie moléculaire du CHRU de Nîmes, et le service de neurogénétique moléculaire et cellulaire du CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière (163). Ces laboratoires réalisent la recherche d'expansions pathogènes (HRE) dans le gène *C9ORF72* et la recherche de variants pathogènes dans une trentaine de gènes (**annexe 2**).

#### 1.8.2 Le diagnostic moléculaire de la SLA

Le diagnostic moléculaire de la SLA repose sur l'analyse génétique à partir d'ADN extrait d'un prélèvement sanguin. La première étape consiste en la recherche de l'expansion hexanucléotidique pathogène dans le gène *C9ORF72*. Si cette analyse est négative, un panel NGS ciblé sur une trentaine de gènes impliqués dans la SLA et la DFT est ensuite étudié. Le panel étudié inclut donc des gènes associés à la SLA, à la DFT, ainsi qu'à leur forme chevauchante SLA-DFT. Dans la suite de ce travail de thèse, il sera désigné comme le panel de gènes SLA et/ou DFT. Actuellement, l'analyse d'exome n'est pas réalisée par ces LBMR pour le diagnostic moléculaire de la SLA (163).

Les résultats des analyses doivent être rendus dans un délai maximum de trois mois. Cependant, les résultats positifs pour une expansion pathologique dans le gène *C9ORF72* sont généralement communiqués dans un délai d'un mois. Concernant la tarification des actes, le panel NGS ciblé (BHN 5570) est coté à 1 448,20 €, tandis que l'exome (BHN 8170, N352) est coté à 2 205,90 €.

## **2. Séquençage de l'ADN**

### **2.1. Nouvelles technologies de séquençage : NGS (Next Generation Sequencing)**

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) est une technologie avancée permettant de séquencer rapidement et à moindre coût de grandes quantités d'ADN. Contrairement à la méthode Sanger, qui séquence des fragments courts individuellement, le NGS permet le séquençage parallèle de millions de fragments, offrant une couverture beaucoup plus large et rapide. Il est utilisé pour le séquençage de génomes entiers, d'exomes, ou d'ARN, et permet la détection de variations génétiques et profils génomiques complexes.

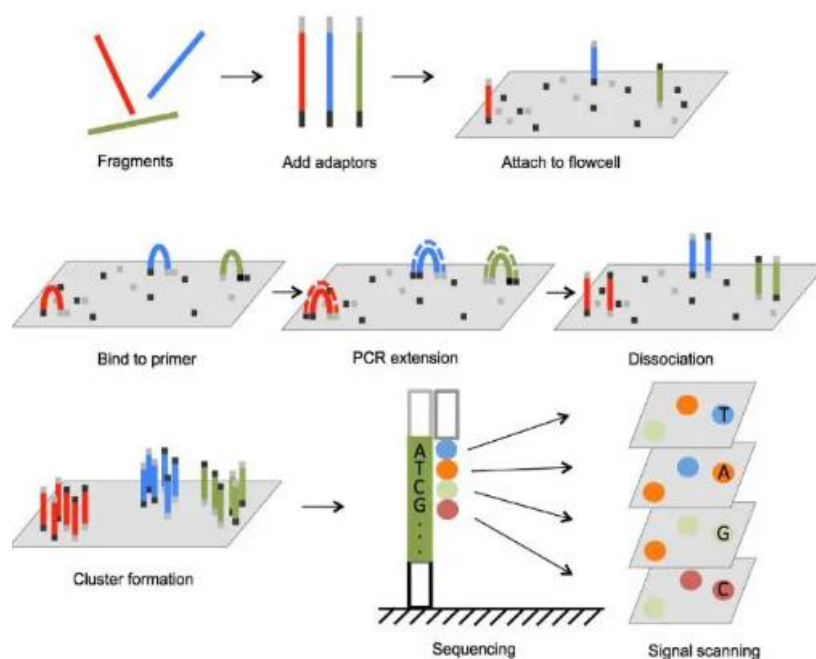
#### **2.1.1. Principe et étapes clés**

Le principe et les étapes clés du NGS incluent tout d'abord la préparation de la bibliothèque. L'ADN est fragmenté puis des adaptateurs sont ligaturés à chaque extrémité. Ces adaptateurs permettent aux fragments de s'attacher à une surface solide, telle qu'une puce ou des billes magnétiques, selon la plateforme utilisée (comme Illumina ou Ion Torrent). Ensuite, il est réalisé une amplification par PCR en cluster. Chaque fragment d'ADN lié est amplifié par PCR pour générer des millions de copies identiques, formant des clusters de molécules d'ADN. Cette étape augmente la force du signal, facilitant la détection lors du séquençage. Ensuite, le séquençage se fait par synthèse. Dans la méthode la plus courante (Illumina), des nucléotides marqués par des fluorophores sont incorporés à chaque cycle de synthèse, un à la fois. Chaque nucléotide ajouté est détecté grâce à un signal fluorescent spécifique. Les séquences d'ADN sont ainsi "lues" par détection optique au fur et à mesure que les nucléotides sont ajoutés de manière complémentaire au brin matrice. Enfin, une dernière étape consiste en l'assemblage et l'analyse des données. Après le séquençage, de courts fragments d'ADN appelés reads sont générés. Ces reads sont ensuite alignés par des logiciels bioinformatiques sur un génome de référence, ou assemblées de novo pour reconstruire la séquence complète. Cette étape permet de détecter des variations génétiques telles que des variants nucléotidiques ponctuels (SNV), des insertions, des délétions, ou des réarrangements chromosomiques (164).

### 2.1.2. Technologies majeures (Illumina, Roche, Ion Torrent)

Il existe plusieurs technologies de séquençage de nouvelle génération (NGS), chacune ayant des principes distincts et des avantages spécifiques. Les principales plateformes incluent Illumina, Ion Torrent, PacBio (Pacific Biosciences) et Oxford Nanopore Technologies, qui diffèrent principalement par leur méthode de lecture de l'ADN, la longueur des reads générés et leurs applications.

Concernant la technologie proposée par Illumina, c'est celle la plus largement utilisée actuellement et celle utilisée dans cette thèse. Elle repose sur le séquençage par synthèse (SBS), où des nucléotides marqués par des fluorophores sont incorporés un à un au cours de la réplication d'ADN. Le signal fluorescent est lu à chaque cycle, permettant de déterminer l'identité du nucléotide. Illumina offre une grande précision avec des taux d'erreur très faibles et des reads relativement courts (75-300 pb), ce qui en fait une option idéale pour des applications comme le séquençage de génomes, d'exomes et de transcriptomes. Cependant, en raison de la longueur limitée des reads, elle peut avoir du mal avec des régions complexes telles que les répétitions ou les réarrangements (165).



**Figure 4 :** Principe de la technologie de séquençage NGS Illumina

((<https://www.bmkgene.com/fr/dnarna-sequencing-illumina-sequencer-product/>))

Concernant la technologie Ion Torrent, cette dernière se base sur la détection des ions hydrogène libérés lors de l'incorporation d'un nucléotide dans la chaîne d'ADN, plutôt que sur un signal fluorescent. Lorsqu'un nucléotide est ajouté au brin d'ADN, un proton est libéré, provoquant un changement de pH détectable par des capteurs électroniques. Concernant la technologie PacBio (Pacific Biosciences), elle utilise la méthode de séquençage à molécule unique en temps réel (SMRT), qui permet de séquencer des brins d'ADN longs (jusqu'à 30 000 pb ou plus) en temps réel. Les nucléotides sont incorporés un à un, et les signaux lumineux générés par un fluorophore fixé à chaque nucléotide sont détectés. Cette technologie est intéressante pour le séquençage de génomes complexes, les régions répétitives et les variants structuraux, car elle produit des reads plus longs. Cependant, le taux d'erreur initial est plus élevé que celui des technologies basées sur des fragments courts d'ADN (166 ; 167).

Enfin, la technologie Oxford Nanopore propose une approche de séquençage par nanopore, où une molécule d'ADN passe à travers un pore biologique ou synthétique. Pendant que l'ADN traverse ce pore, les variations de courant électrique sont mesurées, et ces fluctuations permettent de déduire l'identité des bases. Oxford Nanopore permet d'obtenir des reads longs (jusqu'à des centaines de kilobases), ce qui la rend intéressante pour l'analyse de grands réarrangements génomiques, pour les régions complexes ainsi que pour les maladies à expansions de répétitions. C'est également la seule technologie NGS miniaturisée (MinION). Cependant, le taux d'erreur est plus élevé par rapport aux autres technologies (168).

### 2.1.3. Alignement sur le génome de référence

Après le séquençage de l'ADN, les reads produits par les séquenceurs doivent être alignés sur un génome de référence. Ceci constitue la première étape de traitement des données issues du NGS. Les reads sont de courts fragments d'ADN séquencés (généralement entre 100 et 300 paires de bases pour des technologies comme Illumina), et leur alignement consiste à les positionner correctement sur le génome de référence humain afin de reconstituer la séquence originale. Le génome de référence humain est une séquence d'ADN de référence standard utilisée pour aligner et analyser les reads. Il existe plusieurs versions, dont GRCh37 (hg19) et GRCh38 (hg38). Le choix de la version influence directement l'alignement des reads et l'identification des variants génétiques.

Le processus d'alignement commence par l'utilisation d'outils d'alignement bio-informatique spécialisés, comme BWA (Burrows-Wheeler Aligner), Bowtie ou STAR (pour l'ARN-seq), qui recherchent dans le génome de référence les régions correspondant aux

séquences de chaque read. L'algorithme d'alignement "scanne" cette séquence pour trouver les régions qui présentent la meilleure correspondance avec les reads.

Les reads peuvent être soit alignés de manière unique, soit multi-alignés si des séquences similaires existent à plusieurs endroits du génome (comme dans les régions répétitives). Le logiciel assigne alors un score de qualité à chaque alignement, basé sur la correspondance de la séquence et la qualité de chaque base séquencée. Les alignements de haute qualité sont retenus pour les analyses suivantes (169).

Une fois alignés, les reads peuvent être visualisés à l'aide de logiciels comme IGV (Integrative Genomics Viewer), et ces alignements servent de base pour diverses analyses telles que l'identification de variants génétiques (SNPs, indels), ou l'analyse de réarrangements chromosomiques. Dans les cas où des zones du génome sont difficiles à aligner, comme les régions riches en GC ou les séquences répétitives, des approches comme l'alignement par blocs ou des ré-analyses plus poussées peuvent être nécessaires pour améliorer l'exactitude.

#### 2.1.4. Les différents types de variants

L'analyse par NGS permet d'identifier différents types de variants génétiques avec une grande précision et à une échelle massive. Un variant génétique est une différence dans la séquence d'ADN par rapport au génome de référence. Les principaux types de variants détectés sont les suivants (170).

Tout d'abord, il y a les variants nucléotidiques ponctuels (SNV). Ce sont les variants les plus fréquents et se produisent lorsqu'un seul nucléotide est modifié dans la séquence d'ADN. Les SNV peuvent être synonymes (sans changement d'acide aminé), faux-sens (changement d'acide aminé), ou non-sens (introduction d'un codon stop prématuré).

Il existe également les insertions et délétions (indels). Il s'agit de petites insertions ou délétions de quelques nucléotides. Les indels peuvent être très impactants, surtout s'ils ne sont pas en multiples de trois nucléotides, car ils peuvent entraîner un décalage du cadre de lecture (frameshift), modifiant ainsi complètement la protéine traduite. Les indels peuvent aussi affecter les régions régulatrices, les exons, ou les sites d'épissage, conduisant à des altérations fonctionnelles des gènes.

Il existe également des variants structuraux (SV). Ces variants impliquent des réarrangements à plus grande échelle de l'ADN, comme les délétions, duplications, insertions, inversions, ou translocations. Les SV peuvent affecter des segments entiers de chromosomes, modifiant la structure de plusieurs gènes à la fois.

L'analyse par NGS révèle une variété de variants qui peuvent ou non avoir des effets pathogènes selon leur nature, leur localisation, et leur impact.

#### 2.1.5. Interprétation fonctionnelle des variants

L'interprétation fonctionnelle des variants a pour objectif d'établir un lien entre une variation génétique et son impact biologique, moléculaire et clinique. Cette interprétation est essentielle pour comprendre le rôle des variants dans la physiopathologie des maladies et pour leur utilisation dans un cadre diagnostique ou thérapeutique. Elle repose sur différents critères (171).

Un des premiers critères utilisés est le type de variant et son impact sur la protéine. Les variants peuvent affecter la séquence codante des protéines, comme les variants faux-sens qui modifient un acide aminé. L'effet des variants faux-sens dépend du type de substitution d'acide aminé : une substitution conservative (remplacement par un acide aminé de propriétés chimiques similaires) est souvent moins délétère qu'une substitution non conservative. Les variants non-sens, qui introduisent un codon stop prématuré, peuvent aboutir à une protéine tronquée, souvent non fonctionnelle ou bien l'ARNm peut être rapidement dégradée par des mécanismes de surveillance comme le Nonsense-Mediated Decay (NMD). Les insertions et délétions (indels), s'ils ne sont pas en multiple de trois, causent un décalage du cadre de lecture (frameshift), produisant généralement une protéine aberrante. Dans certains cas, même des indels non-frameshift peuvent avoir des conséquences fonctionnelles en modifiant des domaines critiques de la protéine. Les variants peuvent affecter les sites d'épissage et ainsi altérer la manière dont les exons et les introns sont assemblés dans l'ARNm mature. Des mutations dans les sites donneurs ou accepteurs d'épissage (comme les dinucléotides consensus GT/AG) peuvent conduire à la rétention d'introns ou à la perte d'exons, produisant des transcrits anormaux qui modifient la protéine traduite. Les variants dans les régions non codantes peuvent avoir des effets subtils mais significatifs sur l'expression génique. Par exemple, un variant dans une région promotrice pourrait altérer la liaison des facteurs de transcription, réduisant ainsi l'expression du gène. De même, des mutations dans des sites de microARN ou des régions 3' UTR (non traduites) peuvent perturber la régulation post-transcriptionnelle de l'ARNm, influençant sa stabilité ou sa dégradation.

L'interprétation des variants passe également par l'intégration de données populationnelles et *in silico*. Les bases de données comme ClinVar, dbSNP, gnomAD ou ExAC fournissent des informations sur la fréquence des variants dans la population générale et leur

association avec des pathologies. Les outils de prédiction bioinformatique comme SIFT, PolyPhen-2, MutationTaster, et CADD aident à évaluer le potentiel pathogène des variants, en analysant la conservation des acides aminés à travers les espèces, les propriétés biochimiques, et l'impact structural sur les protéines. Ces outils génèrent des scores qui permettent de prédire si un variant est potentiellement délétère ou neutre.

Bien que les prédictions bioinformatiques soient utiles, des études fonctionnelles sont parfois nécessaires pour valider ces hypothèses. Les tests *in vitro* (comme l'expression des protéines mutantes dans des cellules ou des systèmes modèles) permettent d'évaluer si un variant affecte l'activité enzymatique, la stabilité de la protéine, sa localisation cellulaire, ou ses interactions avec d'autres molécules. Les modèles animaux (comme les souris transgéniques) offrent un cadre *in vivo* pour comprendre l'impact physiopathologique des variants sur le développement, la fonction organique, et la survie.

Enfin, l'interprétation des variants nécessite également de prendre en compte les données suivantes. Le phénotype clinique du patient constitue un élément central, car il permet de déterminer la pertinence biologique et pathologique d'un variant identifié. Parallèlement, l'existence de variants précédemment associés à la maladie dans la littérature ou les bases de données spécialisées apporte un cadre de référence pour évaluer leur pathogénicité potentielle. Enfin, les données de ségrégation familiale, c'est-à-dire l'observation de la co-occurrence du variant avec la maladie au sein de la famille, représentent également un critère important pour confirmer ou infirmer la contribution d'un variant au phénotype observé.

À partir des données collectées, les variants sont classés selon des critères standardisés de l'ACMG (American College of Medical Genetics) (**figure 5**) en plusieurs catégories : bénins, probablement bénins, de signification incertaine (VOUS), probablement pathogènes, et pathogènes.

|                                   | Benign<br>Strong Supporting                                                                              |                                                                                                                                                                                                         | Pathogenic<br>Supporting Moderate Strong Very Strong                                                |                                                                                                                                                             |                                                                   |                                                                                 |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Population Data                   | MAF is too high for disorder BA1/BS1 OR observation in controls inconsistent with disease penetrance BS2 |                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                     | Absent in population databases PM2                                                                                                                          | Prevalence in affecteds statistically increased over controls PS4 |                                                                                 |
| Computational And Predictive Data |                                                                                                          | Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene /gene product BP4<br>Missense in gene where only truncating cause disease BP1<br>Silent variant with non predicted splice impact BP7 | Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene /gene product PP3 | Novel missense change at an amino acid residue where a different pathogenic missense change has been seen before PM5<br>Protein length changing variant PM4 | Same amino acid change as an established pathogenic variant PS1   | Predicted null variant in a gene where LOF is a known mechanism of disease PVS1 |
| Functional Data                   | Well-established functional studies show no deleterious effect BS3                                       |                                                                                                                                                                                                         | Missense in gene with low rate of benign missense variants and path. missenses common PP2           | Mutational hot spot or well-studied functional domain without benign variation PM1                                                                          | Well-established functional studies show a deleterious effect PS3 |                                                                                 |
| Segregation Data                  | Non-segregation with disease BS4                                                                         |                                                                                                                                                                                                         | Co-segregation with disease in multiple affected family members PP1                                 | Increased segregation data →                                                                                                                                |                                                                   |                                                                                 |
| De novo Data                      |                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                     | De novo (without paternity & maternity confirmed) PM6                                                                                                       | De novo (paternity & maternity confirmed) PS2                     |                                                                                 |
| Allelic Data                      |                                                                                                          | Observed in trans with a dominant variant BP2<br>Observed in cis with a pathogenic variant BP2                                                                                                          |                                                                                                     | For recessive disorders, detected in trans with a pathogenic variant PM3                                                                                    |                                                                   |                                                                                 |
| Other Database                    |                                                                                                          | Reputable source w/out shared data = benign BP6                                                                                                                                                         | Reputable source = pathogenic PP5                                                                   |                                                                                                                                                             |                                                                   |                                                                                 |
| Other Data                        |                                                                                                          | Found in case with an alternate cause BP5                                                                                                                                                               | Patient's phenotype or FH highly specific for gene PP4                                              |                                                                                                                                                             |                                                                   |                                                                                 |

**Figure 5 :** Critères de l'ACMG d'aide à la classification des variants (adapté de Richards et al.)(171)

En résumé, l'interprétation fonctionnelle des variants est une démarche multidimensionnelle qui combine des outils informatiques, des bases de données, des données cliniques et parfois des données expérimentales pour déterminer l'impact d'une variation génétique sur la santé. Cela permet d'établir des liens entre les variants génétiques et leur contribution à des maladies complexes ou à des traits phénotypiques.

## 2.2. Différentes approches de séquençage de l'ADN

Les différentes approches de séquençage génétique permettent d'adapter l'investigation du génome à des contextes spécifiques, que ce soit pour des diagnostics ciblés ou des analyses plus globales. Chacune de ces méthodes présente des avantages en termes de coût, de résolution et de couverture génomique, selon les objectifs recherchés (172).

### 2.2.1. Gène unique

Le séquençage ciblé d'un gène unique est utilisé lorsqu'il existe une forte suspicion clinique concernant un gène bien identifié associé à une pathologie donnée. C'est une approche extrêmement précise qui consiste à séquencer uniquement un ou quelques exons d'un gène spécifique. Ce type de séquençage est souvent utilisé dans des cas où la cause génétique est bien caractérisée. Le séquençage d'un gène unique est généralement rapide, peu coûteux, et produit peu de données à analyser, ce qui le rend très efficace pour des tests diagnostiques précis. Cependant, cette approche n'est utile que si le gène responsable de la maladie est clairement identifié ou fortement suspecté.

### 2.2.2. Panel de gènes

Le séquençage de panel de gènes permet de séquencer simultanément un groupe de gènes spécifiques, généralement associés à une pathologie particulière ou à un ensemble de symptômes cliniques. Cette approche est utilisée lorsqu'une maladie peut être causée par des mutations dans plusieurs gènes. Les panels de gènes sont souvent choisis pour les maladies où plusieurs gènes ont déjà été bien étudiés, mais où l'exploration complète du génome n'est pas nécessaire. Ces panels peuvent être très ciblés (ex. : un panel de 10 gènes) ou plus larges (ex. : plusieurs centaines de gènes).

### 2.2.3. Exome

Le séquençage de l'exome entier (WES) consiste à analyser spécifiquement les régions codantes (les exons) de tous les gènes du génome, soit environ 1 à 2 % de l'ensemble du génome humain. Ces régions codantes contiennent la majorité des mutations connues responsables de maladies génétiques, ce qui en fait une approche privilégiée pour découvrir des mutations rares dans des maladies complexes ou encore non diagnostiquées. Le séquençage de l'exome est particulièrement utile lorsque la maladie est génétiquement hétérogène, c'est-à-dire causée par des mutations dans différents gènes, comme c'est le cas dans la SLA.

Cette méthode permet aussi de découvrir de nouveaux variants potentiellement pathogènes dans des gènes rarement étudiés ou non inclus dans les panels de gènes standards. L'un des principaux avantages du WES est qu'il offre une couverture quasi complète des régions codantes du génome à un coût plus faible que le séquençage complet du génome.

#### 2.2.4. Génome

Le séquençage du génome entier (WGS) est la méthode la plus exhaustive, car elle permet de séquencer l'intégralité du génome, y compris les régions codantes (exons), les régions non codantes (introns, régulateurs), les régions répétées, et les éléments régulateurs (promoteurs, enhancers). Cela inclut également des zones qui ne sont pas capturées par le séquençage de l'exome, telles que les régions intergéniques et les séquences d'ADN non conventionnelles qui peuvent avoir un rôle dans la régulation de l'expression des gènes.

Le WGS est particulièrement utile pour la détection de variants structurels (SV), tels que les inversions, translocations, duplications ou délétions à grande échelle, ainsi que pour les variations du nombre de copies (CNV) et les réarrangements chromosomiques complexes. Il permet également de découvrir des variants rares dans les régions non codantes qui peuvent influencer l'expression génique ou perturber les éléments régulateurs, comme les sites d'épissage ou les promoteurs.

Bien que le WGS soit la méthode la plus complète, elle génère une quantité massive de données à analyser et est encore relativement coûteuse. La complexité de l'interprétation des données, notamment dans les régions non codantes, reste un défi, car une grande partie des variants identifiés peuvent être difficiles à relier à des phénotypes cliniques connus. Cette approche est utilisée dans des études de recherche avancée ou pour des cas cliniques complexes non résolus par le séquençage de panel de gènes ou de l'exome.

Pour résumer, chacune de ces approches est choisie en fonction des besoins cliniques, de la complexité de la maladie à étudier et des contraintes économiques. Le séquençage de gène unique est une solution simple et ciblée, très rapide et économique, mais limitée aux pathologies monogéniques. Le séquençage d'un panel de gènes est idéal pour des maladies polygéniques avec plusieurs gènes candidats connus. Par contre, il ne permet pas de découvrir de nouveaux variants ou gènes impliqués. Le séquençage du génome est l'approche la plus complète pour détecter tous types de variants dans toutes les régions du génome. Utile dans les maladies complexes ou les études globales, mais générant une énorme quantité de données et nécessitant des ressources importantes pour l'analyse. Enfin, le séquençage de l'exome est une excellente approche pour des pathologies d'origine génétique avec de nombreux facteurs génétiques impliqués.

### 3. Intérêt du séquençage de l'exome dans la SLA

Dans la SLA, le séquençage de l'exome a été largement mobilisé au cours de la dernière décennie dans un cadre de recherche. A ce jour, cette analyse n'est pas réalisée en France par les LBMR le cadre de diagnostics moléculaires de la SLA.

#### 3.1. Identification de variants pathogènes dans des gènes connus

Le séquençage de l'exome a permis de mettre en évidence de nouveaux variants pathogènes ou probablement pathogènes dans des gènes déjà bien établis dans la physiopathologie de la SLA, tels que *SOD1* et *TARDBP* (52 ; 106). Ces découvertes renforcent l'idée que, même pour des gènes étudiés depuis longtemps, l'exome reste un outil précieux pour affiner le spectre mutationnel et identifier des variants rares. Au-delà de l'identification de variants isolés, les analyses d'exomes ont révélé l'existence de patients porteurs de plusieurs variants dans différents gènes associés à la SLA, suggérant un modèle de susceptibilité génétique complexe (modèle oligogénique par exemple). Ceci pourrait participer à expliquer la variabilité phénotypique observée entre individus, notamment en termes d'âge de début, de progression de la maladie ou de présentation clinique (81).

Ainsi, le recours au séquençage de l'exome contribue non seulement à élargir les variants pathogènes dans les gènes majeurs de la SLA, mais également à documenter une hétérogénéité génétique interindividuelle importante.

#### 3.2. Identification de nouveaux gènes

Parallèlement, les études d'exomes ont conduit à l'identification de gènes jusqu'alors non associés à la SLA, élargissant ainsi les connaissances génétiques de la maladie. Parmi eux, *TBK1*, *OPTN* et *SQSTM1* ont été rapportés comme gènes causaux (55). Plus récemment, d'autres gènes tels que *ANXA11*, *CHCHD10* et *NEK1* ont été mis en évidence comme contributeurs à la maladie (135).

#### 3.3 Réanalyse des exomes

Les exomes de patients SLA sont riches en information (1-2% de l'information du génome). Lors de leur analyse, de nombreux filtres bio-informatiques sont utilisés. Ces filtres permettent pour exemple de cibler dans l'analyse uniquement les gènes du génome impliqués dans les maladies du motoneurone dont la SLA, laissant de côté tous les autres gènes du

génomique. D'autres filtres permettent de relever dans l'analyse uniquement les variants connus pour être pathogènes ou probablement pathogènes. L'évolution des connaissances sur la maladie (nouveaux gènes causaux ou facteurs de risque) et sur la pathogénicité de variants (variant considéré de signification inconnue au moment de l'analyse primaire, et considéré ensuite pathogène par des analyses fonctionnelles par exemple), font que la réanalyse des exomes peut s'avérer très intéressante.

#### **4. Objectif**

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'apport du séquençage de l'exome dans le cadre du diagnostic génétique de la SLA chez des patients présentant des formes familiales pour lesquelles les approches diagnostiques conventionnelles sont revenues négatives. L'étude vise ainsi à explorer l'exome de patients SLA pour détecter des variants rares ou inédits dans de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la physiopathologie de la SLA. Cette approche a pour finalité d'améliorer le diagnostic génétique individuel, de contribuer à l'élargissement du spectre mutationnel et de fournir de nouvelles informations susceptibles d'éclairer les mécanismes biologiques sous-jacents à la dégénérescence des motoneurones et d'améliorer les stratégies thérapeutiques.

Le premier objectif secondaire de ce travail est la caractérisation des antécédents familiaux ainsi que le rendement diagnostique obtenu par l'analyse génétique classique par NGS panel ciblé dans la population testée au LBMR SLA CHU Tours pour les SLA de formes familiales.

Le second objectif secondaire est la réalisation d'une exploration des variants rares et délétères via des études d'enrichissement fonctionnel, afin d'identifier de nouveaux variants candidats à titre individuel ainsi que des voies biologiques enrichies à titre collectif.

## MATERIEL ET METHODE

### 1. Recueil des données cliniques, paracliniques et génétiques des patients SLA et/ou DFT (2019–2025)

Afin de sélectionner un sous-groupe de 10 patients pour des analyses d'exomes, l'ensemble des patients ayant bénéficié d'une recherche de variants génétiques par NGS panel ciblé de gènes SLA/DFT entre le 1<sup>er</sup> janvier 2019 et le 1<sup>er</sup> janvier 2025, au sein du LBMR-SLA du CHRU de Tours, a été pris en compte. L'ensemble des données cliniques et paracliniques a été recueilli à partir des documents médicaux transmis lors de la demande de test génétique via le logiciel interne au laboratoire DxLab. Ces documents contenaient des informations démographiques telles que l'âge du patient, l'âge d'apparition de la maladie, le sexe, la structure prescriptrice, ainsi que des données médicales incluant les antécédents familiaux (accompagnés d'un arbre généalogique), le type de SLA (forme spinale ou bulbaire), les signes cliniques observés, et, lorsque disponibles, les résultats d'examens complémentaires (électroneuromyogramme, IRM). Les résultats génétiques des analyses préalables à l'étude par la technique NGS panel ciblé des gènes SLA/DFT et l'évaluation de l'expansion de répétitions G4C2 dans le gène *C9ORF72* ont été recueillis à l'aide du logiciel DxLab du service de Biochimie et Biologie Moléculaire du CHU de Tours.

Ce recueil de données a constitué la première étape de ce travail de thèse. Il a permis de caractériser la population de patients pour lesquels les analyses génétiques par panel ciblé de gènes de la SLA et/ou DFT ont été réalisées entre 2019 et 2025, et de sélectionner un sous-groupe de 10 patients pour la réalisation du séquençage de l'exome.

### 2. Sélection des échantillons d'ADN pour le séquençage de l'exome

Pour séquencer l'exome de patients atteints de SLA, il est nécessaire d'avoir de l'ADN génomique. Pour sélectionner ces ADN, les critères ont été les suivants. Tout d'abord, les ADN devaient avoir été collectés entre le 1<sup>er</sup> janvier 2019 et le 1<sup>er</sup> janvier 2025, dans un cadre conforme aux réglementations éthiques et légales en vigueur, avec un consentement éclairé des patients autorisant un diagnostic moléculaire de SLA et une utilisation à des fins de recherche sur cette maladie. La date de 2019 a été choisie car c'est à cette période que les premières analyses par NGS panel ciblé de gènes SLA/DFT ont débuté. Le deuxième critère d'inclusion

était l'absence de variant génétique pathogène, probablement pathogène et de signification incertaine identifié lors du diagnostic moléculaire par approche NGS panel ciblé et l'absence d'expansion pathologique (HRE) dans le gène *C9ORF72*. Le but était en effet de déterminer l'intérêt du séquençage de l'exome chez les patients pour lesquels actuellement la recherche génétique était négative. Enfin, il a été décidé de s'intéresser aux patients atteints de SLA qui présentaient des formes familiales avec la présence d'au moins un apparenté atteint de SLA et/ou DFT, ou présentant des troubles neurodégénératifs ou neuromusculaires.

Les ADN des patients ont été extraits au moment du prélèvement (entre le 1<sup>er</sup> janvier 2019 et le 1<sup>er</sup> janvier 2025) à partir de sang total grâce à l'extracteur QIAasympyphony (Qiagen, Allemagne). Les échantillons d'ADN ont été stockés à -80°C dans une banque à visée sanitaire et de recherche au sein du LBMR SLA. Les informations sur ces ADN sont localisées dans une base de données enregistrée dans le registre des traitements informatiques du CHU (n° 2024\_174).

Un échantillon (nommé S1) a été utilisé pour cette étude en tant que témoin positif. Il s'agit d'un ADN d'un patient pour lequel un variant avait déjà été trouvé par la technique classique de NGS panel ciblé (variant *SOD1* p.Asn21Ser, classe ACMG 3).

### 3. Séquençage de l'exome

Le séquençage des exomes de 10 patients (S2-S11), du témoin positif (S1) et d'un blanc (S12) ont été réalisés au sein du LBMR SLA CHU Tours (service Biochimie et Biologie moléculaire). Le séquençage de l'exome nécessite 3 grandes étapes successives. Tout d'abord une **préparation de librairies** avec capture des exons grâce au kit Twist Human Comprehensive Exome (#102032, Twist Bioscience, Etats-Unis). Il s'agit d'une des méthodes de capture parmi les plus performantes (173). Ensuite, les régions d'ADN capturées, appelée librairie d'exome, ont été **séquencées** à l'aide d'un séquenceur NGS NextSeq (Illumina, Etats Unis) disponible au sein de la plateforme UTTIL (Unité Transversale des Technologies Innovantes des Laboratoires) du CHU de Tours. Enfin, l'analyse bio-informatique primaire des séquences d'ADN obtenues a été réalisée grâce à un **pipeline bio-informatique** TOURGEN spécifique de l'exome développé récemment en interne au sein du CHU de Tours (**annexe 3**). Cette analyse permet d'aligner les séquences obtenues au génome de référence hg38 et de réaliser un appel des variants.

#### 3.1. Préparation des librairies et capture des exons

La première étape de préparation des librairies a été conduite selon les recommandations du fabricant (DOC-001065 REV 5.0) excepté l'étape de vérification de la taille des fragments d'ADN qui n'a pas été réalisée (**figure 6**).

| ENZYMATIC FRAGMENTATION WITH UNIVERSAL ADAPTERS AND UDI PRIMERS<br>(GENOMIC DNA, 50 NG STARTING DNA MATERIAL) |                                                                                                   | TIME   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| STEP 1                                                                                                        | <b>Perform DNA Fragmentation, End Repair, and dA-tailing</b><br>dA-tailed DNA fragments           | 1 hour |
| STEP 2                                                                                                        | <b>Ligate Twist Universal Adapters and Purify</b><br>gDNA libraries ready for indexing            | 1 hour |
| STEP 3                                                                                                        | <b>PCR Amplify Using Twist UDI Primers, Purify, and Perform QC</b><br>Amplified indexed libraries | 1 hour |

**Figure 6** : Vue globale du protocole de préparation des librairies (Enzymatic Fragmentation and Twist Universal Adapter System, Twist Bioscience)

### 3.1.1 Fragmentation enzymatique, réparation des extrémités et ajout de queues d'adénine (dA-tailing)

La préparation des librairies a nécessité tout d'abord une fragmentation enzymatique de l'ADN génomique. Chaque réaction a débuté avec 50 ng d'ADN génomique purifié, dilué dans de l'eau PPI. L'ADN a ensuite été soumis à une réaction enzymatique combinant fragmentation de l'ADN, réparation des extrémités (end repair) et ajout de queues d'adénine en 3' (dA-tailing).

### 3.1.2 Ligation des adaptateurs universels Twist et purification

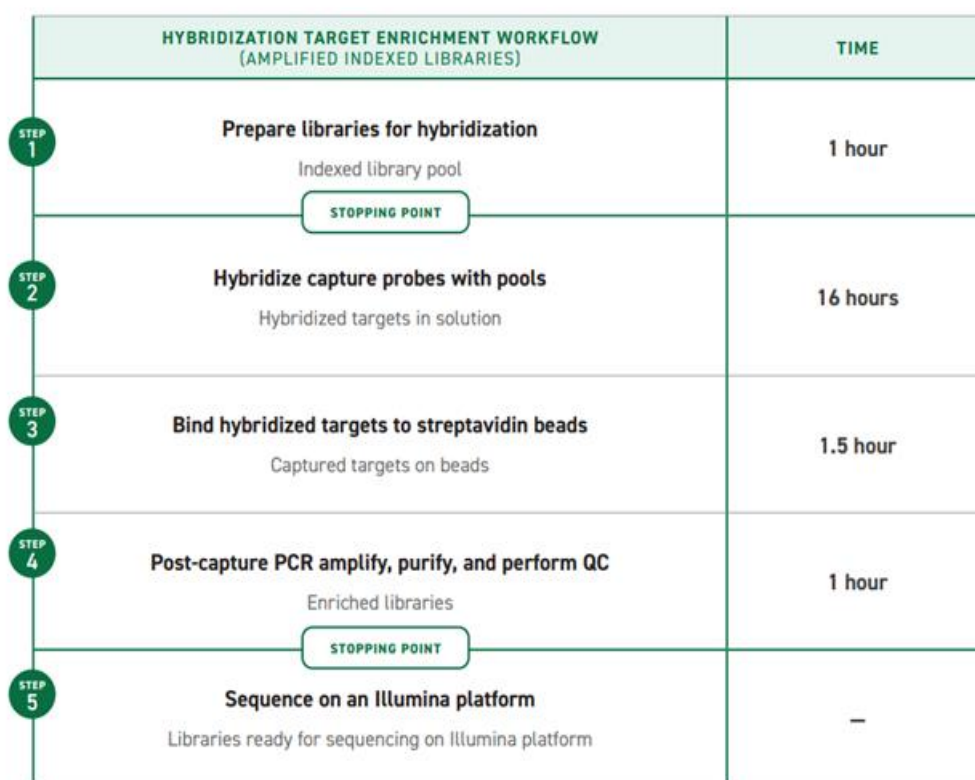
Les fragments d'ADN obtenus ont été ligués à des adaptateurs universels Twist spécifiques. À l'issue de la ligation, une purification sur billes magnétiques a été effectuée.

### 3.1.3 Amplification PCR avec les amorces Twist UDI, purification et contrôle qualité

Les librairies d'ADN fragmentées et liguées ont ensuite été amplifiées par PCR avec les amorces Twist UDI puis purifiées à l'aide de billes magnétiques. Cette étape d'indexage permet d'ajouter des séquences uniques à chaque librairie. Enfin, un contrôle qualité a été effectué pour

vérifier la concentration des librairies. La quantification a été réalisée avec le système Qubit dsDNA HS Assay Kit (# Q32854, Thermo Fisher Scientific, Etats-Unis).

La deuxième étape de préparation des librairies est la capture des exons. La capture ciblée des exons a été réalisée selon le protocole Twist Target Enrichment Standard Hybridization v1 (DOC-001085 REV 4.0) Cette partie comprend une hybridation de 16 heures suivie d'une amplification post-capture, d'une purification et d'une étape de vérification de la qualité (**figure 7**).



**Figure 7** : Vue globale du protocole de capture ciblée des régions exoniques (Twist Target Enrichment Standard Hybridization v1, Twist Bioscience)

### 3.1.4. Préparation des librairies et hybridation

Les librairies préalablement amplifiées et indexées (étape 3.1.3) ont été regroupées en deux pools de 6 échantillons. Il a été réalisé une purification sur billes magnétiques selon l'alternative décrite dans le protocole. Après dénaturation des librairies et des sondes de capture à 95 °C (#102032, Twist Comprehensive Exome, Twist Bioscience), puis refroidissement sur glace, les deux solutions ont été mélangées et incubées à 70 °C pendant 16 heures dans un thermocycleur 96 puits avec couvercle chauffant (Biometra Trio, Analytik Jena, Allemagne).

### 3.1.5 Capture sur billes de streptavidine

Les complexes ADN-sonde ont été immédiatement transférés à 70 °C dans des tubes contenant des billes de streptavidine (#100983, Twist Binding and Purification Beads, Twist Bioscience) préalablement lavées. La capture des fragments cibles a été effectuée pendant 30 minutes à température ambiante sous agitation douce. Après liaison, les billes ont été lavées afin d'éliminer l'ADN non spécifique.

### 3.1.6. Amplification post capture, purification et contrôle qualité

Les fragments capturés ont été ensuite amplifiés par PCR. Les produits amplifiés ont été purifiés à l'aide de billes magnétiques de purification Twist (#100983 DNA Purification Beads, Twist Bioscience). L'étape de vérification de la distribution de la taille des fragments n'a pas été réalisée. Une taille de 350 pb a été utilisée pour les calculs de molarité.

### 3.1.7. Préparation des librairies avant séquençage

Les 2 pools de librairies ont été dilués à 4 nM puis poolés. Les librairies ont été ensuite dénaturées avec une solution de NaOH 0,2 N (#72068, Sigma-Aldrich), puis incubées 5 minutes à température ambiante avant neutralisation par un volume équivalent de Tris-HCl 200 mM pH 7 (#T1819, Sigma-Aldrich). Les librairies dénaturées ont été diluées à 20 pM puis à 1.8 pM par ajout du tampon HT1 du kit NSQ 500/550 Hi Output KT v2.5 (#20024907, Illumina). A noter, un contrôle interne de séquençage, le PhiX a été ajouté au pool de librairies (PhiX dénaturé 1%).

## 3.2. Séquençage

Le pool de librairies a ensuite été chargé sur la cartouche de réactifs NSQ 500/550 Hi Output KT v2.5 (#20024907, Illumina). Puis, la cartouche a été chargée sur le séquenceur NextSeq 550 Illumina (Unité Transversale des Technologies Innovantes des Laboratoires, CHU Tours).

La génération des clusters et le séquençage ont été réalisés directement à bord du séquenceur. Lors de la génération des clusters, des molécules d'ADN simple brin se lient à la surface de la flow cell (NSQ Hight Output Flow Cell, v2.5, n° lot 20933802, Illumina) par hybridation aux amorces fixées, puis sont amplifiées in situ par amplification en pont afin de former des clusters d'ADN identiques, chacun représentant une molécule de départ.

Les clusters ont été analysés par imagerie à l'aide d'une chimie de séquençage à deux canaux, utilisant des filtres spécifiques aux terminateurs de chaîne fluorescents. Ce processus a été répété à chaque cycle de séquençage. Après acquisition des images, le logiciel intégré a effectué l'appel de bases (base calling), a appliqué des filtres de qualité, et a attribué des scores de qualité (Q-scores) à chaque base séquencée. Le run (processus complet de séquençage d'un d'un groupe d'échantillons) a duré environ 18 heures.

Le séquenceur Illumina NextSeq 550 a généré ensuite des fichiers informatiques BCL (Base Call files). Ces fichiers bruts contiennent, pour chaque cycle, les bases lues (A, T, C, G) et leur score de qualité, codés pour chaque cluster détecté sur la flow cell. Ici, il s'agit d'un séquençage paired-end 2×75 pb, ainsi chaque fragment d'ADN est lu deux fois : une première lecture de 75 bases dans un sens (Read 1), puis une deuxième lecture de 75 bases dans l'autre sens (Read 2), offrant ainsi une meilleure couverture et plus de précision. Les fichiers informatiques BCL ont ensuite été convertis en fichiers FASTQ à l'aide d'outils bio-informatiques.

### 3.3. Analyse bio-informatique (annexe 3)

Les fichiers bruts BCL ont été transformés initialement en fichiers FASTQ. Ces fichiers regroupent les reads complets (Read 1 et Read 2) ainsi que leurs scores de qualité. Cette transformation a été également l'occasion de démultiplexer les données, c'est-à-dire d'attribuer chaque read à l'échantillon correspondant (S1 par exemple).

Le format FASTQ a constitué le point de départ des analyses bio-informatiques. Il a regroupé, pour chaque fragment d'ADN séquencé, la séquence nucléotidique ainsi qu'une chaîne de scores de qualité associée à chaque base. Ces fichiers contiennent donc à la fois l'information génétique brute et une évaluation statistique de la fiabilité de chaque lecture.

La première étape du traitement bio-informatique a consisté à effectuer un contrôle qualité des fichiers FASTQ. Ces résultats permettent de détecter d'éventuelles anomalies techniques liées au séquençage.

Les fichiers ont ensuite été alignées sur un génome de référence (ici GRCh38) grâce à l'outil BWA-MEM2. L'alignement permet de replacer chaque read à sa position d'origine sur le génome. Les résultats de cette opération ont été enregistrés dans des fichiers au format BAM (Binary Alignment/Map), qui contiennent à la fois les coordonnées génomiques, la qualité de l'alignement et les éventuelles discordances avec la séquence de référence.

Les reads alignés ont été utilisés pour détecter les variations génétiques suivantes : des SNV et des insertions ou des délétions de petites tailles, à l'aide de l'outil Deep Variant. Les variants identifiés ont ensuite été annotés via l'outil VEP permettant de générer les informations suivantes par variants : localisation chromosomique, allèle sauvage et alternatif, qualité, profondeur de couverture, nombre de reads porteurs du variant, fréquence allélique, statut allélique, nomenclature Human Genome Variation Society (HGVS), nom du gène, impact sur la protéine, type de variant, position intronique ou exonique, fréquence allélique dans la base de données GnomAD, présence du variant dans les bases de données ClinVar, OMIM et/ou PubMed, ainsi que les prédictions *in silico* (SIFT, PolyPhen, Alpha Missense, CADD, MutationTaster, SpliceAI). Cette étape aboutit à un fichier VCF.

Toutes ces étapes bio-informatiques ont été automatisées et s'enchaînent les unes après les autres sans intervention humaine grâce au pipeline informatique développé au CHU de Tours pour l'exome TOURGEN (**annexe 3**).

#### 4. Analyse et interprétation des variants

Pour chaque patient à étudier (S2 à S11), l'analyse à titre diagnostique de l'exome a consisté à détecter d'éventuels variants d'intérêt, c'est-à-dire, des variants pouvant être classés en classe 3 (de signification incertaine), 4 (probablement pathogène) ou 5 (pathogène) selon la classification ACMG.

Voici les paramètres retenus pour filtrer les variants à partir des données issues de l'analyse bio-informatique et détecter d'éventuels variants d'intérêt :

- variant associé à un phénotype CLINVAR ou OMIM "amyotrophic lateral sclerosis"
- **ou** variant présent dans un des 39 gènes du panel NGS ciblé gènes SLA/DFT Tours (**annexe 2**) : *ALS2, ANG, ANXA11, APOE, APP, CCNF, CHCHD10, CHMP2B, CSF1R, DCTN1, ERBB4, FIG4, FUS, GRN, HNRNPA1, KIF5A, MAPT, MATR3, NEK1, OPTN, PSEN1, PSEN2, RNF31, SH3RF1, SIGNMAR1, SOD1, SPAST, SPG11, SPG7, SPTLC1, SQSTM1, TARDBP, TBK1, TRIM9, TUBA4A, UBQLN2, UNC13A, VAPB, VCP*
- **ou** variant présent dans un des gènes listés en **annexe 1**
- **ou** variant annoté en « High Impact » **et** classé 3 ou 4 ou 5 dans MobiDetails **et** expression cérébrale et/ou spinale décrite (The Human Protein Atlas).

- **ou** variant annoté en « Moderate Impact » **et** prédiction alpha missense ambiguous ou likely pathogen et classé 3 ou 4 ou 5 dans MobiDetails **et** expression cérébrale et/ou spinale décrite (The Human Protein Atlas)
- **ou** variant annoté en « Modifier » et prédiction splice AI avec impact sur épissage

A noter, l'outil MobiDetails est une plateforme web dédiée à l'annotation et à l'interprétation des variants génétiques, développée par le CHU de Montpellier. Elle permet d'analyser des substitutions nucléotidiques, ainsi que de petites insertions et délétions, en agrégeant des données provenant de diverses sources publiques (**annexe 4**). Cette plateforme est accessible gratuitement pour un usage académique via l'interface suivante : <https://mobidetails.chu-montpellier.fr>.

Une fois ces variants sélectionnés, la base PubMed a été interrogée pour recenser les publications rapportant des cas similaires et les données fonctionnelles associées ; la base de données ClinVar a été consultée afin d'identifier les annotations cliniques déjà disponibles ; la base de données OMIM a permis d'explorer les associations connues entre le gène porteur et des phénotypes cliniques ; la base de données gnomAD a été utilisée pour évaluer la fréquence des variants dans la population générale ; et le site internet ProteinPaint a servi à visualiser la localisation des variants le long de la protéine.

Les variants ont ensuite été catégorisés selon les critères définis par l'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) : bénin (classe 1), probablement bénin (classe 2), de signification incertaine (classe 3), probablement pathogène (classe 4) et pathogène (classe 5).

## 5. Test d'enrichissement fonctionnel

Afin d'explorer les implications biologiques potentielles des gènes porteurs de variants rares, prédits délétères par les logiciels de prédiction *in silico* (**annexe 4**) et s'exprimant en partie ou exclusivement dans le système nerveux chez nos patients (The Human Protein Atlas), une analyse d'enrichissement fonctionnel a été réalisée à l'aide de l'outil Enrichr (<https://maayanlab.cloud/Enrichr/>) (208-210). Les listes de ces gènes (**annexes 5 et 6**) issues de chaque patient ainsi que de l'ensemble de la cohorte ont été soumises indépendamment à des tests d'enrichissement sur deux bases de données différentes : Reactome Pathway 2024, qui

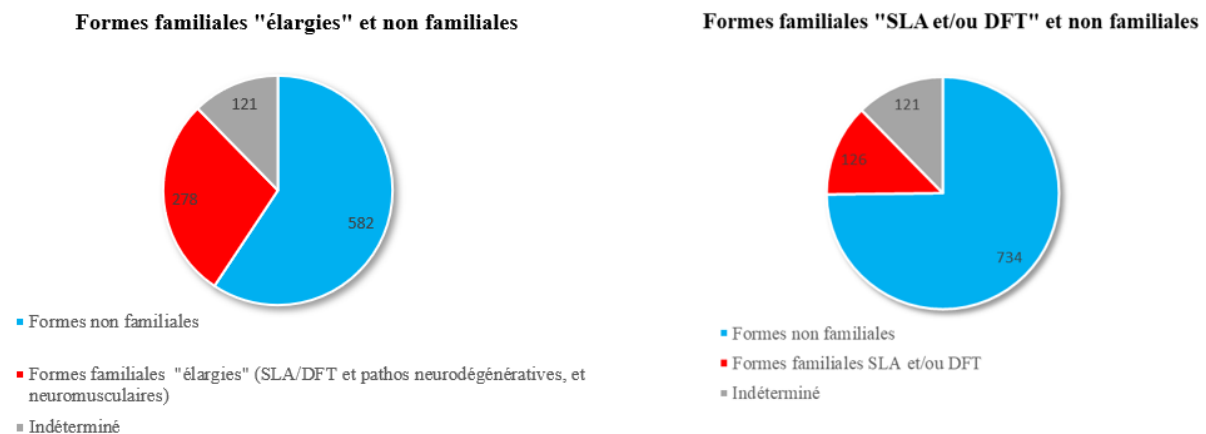
regroupe des voies de signalisation et de régulation métabolique annotées, et Gene Ontology Biological Process (GO BP) 2025, qui décrit les processus biologiques selon une classification hiérarchique fondée sur des annotations fonctionnelles. L'enrichissement a été évalué à l'aide du test exact de Fisher, et les p-values ont été ajustées pour les comparaisons multiples selon la méthode de Benjamini-Hochberg. Seules les voies présentant une p-value ajustée inférieure à 0,05 ont été considérées comme significativement enrichies. Pour les voies non significatives mais présentant une forte tendance ( $p \text{ brut} < 0,05$  et odds ratio élevé), une analyse descriptive a été menée afin d'identifier des regroupements fonctionnels cohérents à visée exploratoire.

## RÉSULTATS

### 1. Caractérisation des patients SLA et/ou DFT (2019–2025)

Afin de sélectionner 10 patients pour réaliser un séquençage de leur exome, la première étape du travail a été de réaliser un recueil des données disponibles au LBMR Diagnostic génétique de la SLA du CHU Tours. Tous les patients ayant eu une analyse par panel NGS ciblé SLA/DFT entre le 1<sup>er</sup> janvier 2019 et le 1<sup>er</sup> janvier 2025 ont été étudiés avec vérification des résultats obtenus par NGS analyse ciblée et par technique genescan, avec relecture des renseignements cliniques associés à la demande et une relecture des arbres généalogiques si présent. Le but était d'identifier des patients SLA, sans variant identifié dans la trentaine de gènes explorés par le panel ni d'expansion pathologique HRE dans le gène *C9ORF72*, et pour lesquels l'ADN d'au moins 2 apparentés symptomatiques étaient présents au laboratoire. A noter, que la réalisation d'un panel NGS ciblé n'est réalisé qu'après la confirmation d'une absence d'expansion pathologique HRE dans le gène *C9ORF72*. Ainsi, les patients présentant une expansion pathologique HRE ne sont pas répertoriés ci-dessous. Concernant les antécédents familiaux, il a été classé dans la catégorie indéterminée, les patients pour lesquels il n'existait aucune mention des antécédents familiaux, et les patients pour lesquels il y avait une discordance entre ce qui était coché en renseignements cliniques et l'arbre généalogique.

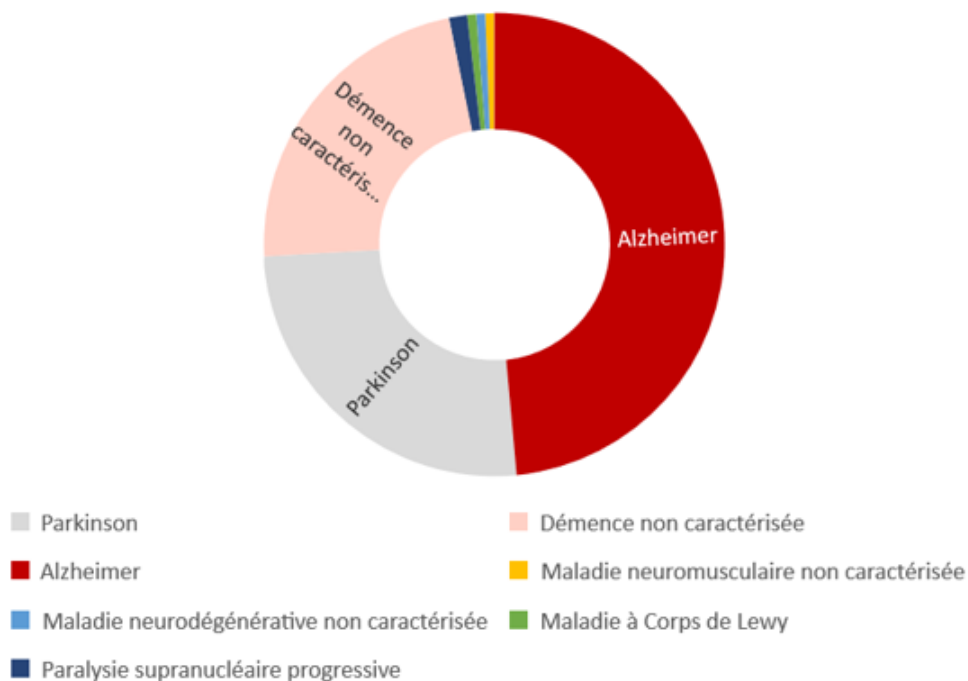
Au total, 981 patients ont vu leur dossier étudié. Sur les 981 patients, 734 patients ont présenté des formes non familiales (75%) et 126 patients ont présenté des antécédents familiaux de SLA et/ou DFT (13%) (**figure 8**). Il a été décidé de s'intéresser également aux formes familiales "élargies", étant donné les recouvrements possibles décrits entre SLA et autres pathologies neurodégénératives et neuromusculaires, notamment sur le plan génétique (119). En s'intéressant aux formes familiales élargies, c'est-à-dire aux cas index avec au moins un apparenté présentant au moins un des troubles suivants, pathologies neurodégénératives et/ou neuromusculaires, la proportion de forme familiale était de 28%, soit 278 patients (**figure 8**).



**Figure 8 :** Représentation des formes familiales et non familiales dans une population de patients du LBMR SLA du CHU de Tours testée en NGS panel ciblé de gènes de la SLA et/ou DFT entre le 1er janvier 2019 et le 1er janvier 2025

Parmi les 278 patients présentant des antécédents familiaux élargis, 9 patients présentaient une forme précoce de SLA (SLA avant 40 ans). En ce qui concerne les antécédents de pathologies neuromusculaires et maladies neurodégénératives, les pathologies les plus fréquemment retrouvées étaient la maladie d'Alzheimer (76 patients avec apparentés concernés par la pathologie), la maladie de Parkinson (41 patients avec apparentés concernés par la pathologie) et les démences non caractérisées (36 patients avec apparentés concernés par la pathologie) (**figure 9**).

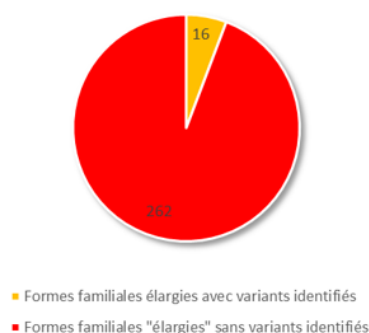
### Antécédents familiaux neurodégénératifs et/ou neuromusculaires, excepté SLA/DFT



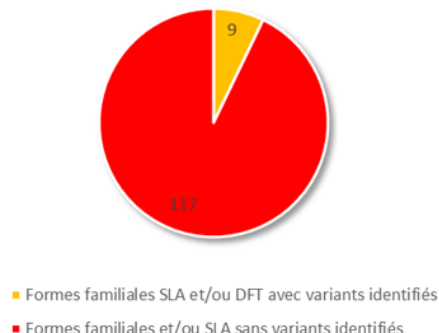
**Figure 9 :** Antécédents familiaux neurodégénératifs et/ou neuromusculaires, excepté SLA et/ou DFT

Parmi les 734 patients sans apparentés atteints de SLA et/ou DFT, 18 patients (soit 2% des formes non familiales) avaient présenté un variant pathogène ou probablement pathogène détecté par NGS panel ciblé de gènes SLA/DFT et 12 patients un variant de signification incertaine. Chez les 278 patients présentant une forme familiale élargie, 16 patients (soit 6% des formes familiales élargies) avaient présenté un variant pathogène ou probablement pathogène (**figure 10**) et 14 patients un variant de signification incertaine (soit 5% des formes familiales élargies). Enfin, parmi les 126 patients présentant une forme familiale SLA et/ou DFT, 9 patients (soit 7% des formes familiales SLA/DFT) avaient présenté un variant pathogène ou probablement pathogène détecté par NGS panel ciblé de gènes SLA/DFT et 7 patients un variant de signification incertaine (**figure 10**).

**Formes familiales élargies et identification de variants**

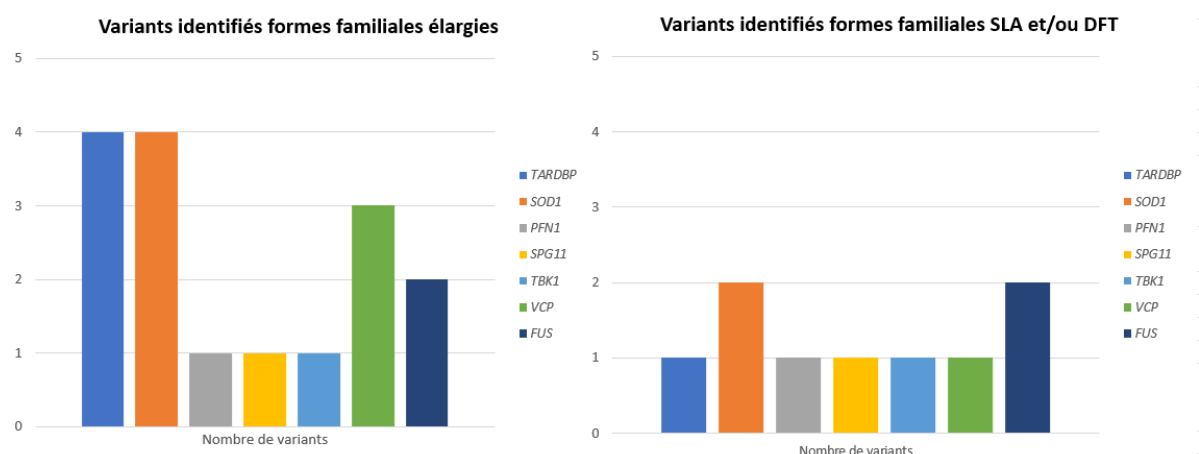


**Formes familiales SLA et/ou DFT et identification de variants**



**Figure 10 :** Identification de variants pathogènes et probablement pathogènes dans les formes familiales élargies et formes familiales SLA et/ou DFT après les analyses NGS ciblant les gènes associés à la SLA et/ou DFT

Parmi les variants pathogènes ou probablement pathogènes identifiés par panel NGS ciblé dans les formes familiales élargies, 4 étaient localisés dans le gène *TARDBP*, 4 dans le gène *SOD1*, 3 dans le gène *VCP*, 2 dans le gène *FUS* et 1 dans les gènes *PFN1*, *SPG11* et *TBK1*. Parmi les variants identifiés par NGS panel ciblé dans les formes familiales SLA et/ou DFT, 1 variant était localisé au niveau du gène *TARDBP*, 2 dans le gène *SOD1*, 1 dans le gène *VCP*, 2 dans le gène *FUS* et 1 dans les gènes *PFN1*, *SPG11* et *TBK1* (**figure 11**). L'ensemble de ces patients n'ont pas été retenus pour notre étude car un diagnostic génétique avait déjà été posé. Il en est de même des patients présentant un variant de signification incertaine.



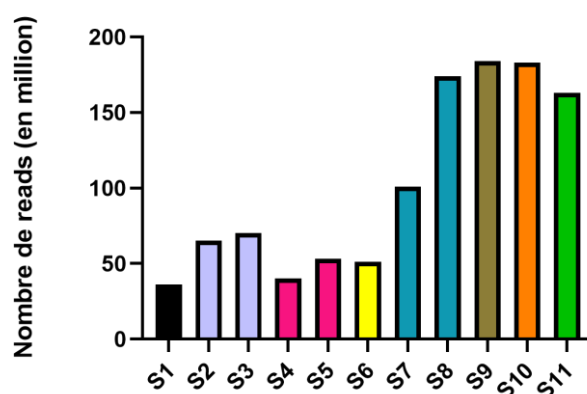
**Figure 11 :** Gènes avec variants pathogènes ou probablement pathogènes identifiés par analyse NGS panel ciblé sur les gènes de la SLA/DFT

Parmi les patients ne présentant pas de variants identifiés au panel NGS ciblé, pour trois familles, l'ADN de plusieurs apparentés symptomatiques (principalement des fratries atteintes

de SLA ou de pathologies neurodégénératives/neuromusculaires) a pu être retrouvé, permettant la réalisation d'analyses en duo. Ainsi, six patients ont donc été sélectionnés pour le séquençage de l'exome, auxquels se sont ajoutés quatre patients supplémentaires présentant une forme familiale de SLA, mais pour lesquels aucun ADN d'apparenté symptomatique n'était disponible. Cette sélection de 10 patients répondait à la contrainte technique liée à la capacité d'un run d'exome, soit 12 échantillons : 10 cas à analyser, un témoin positif et un échantillon blanc pour écarter le risque de contamination lors des manipulations.

## 2. Données qualité du séquençage de l'exome des échantillons S1 à S11

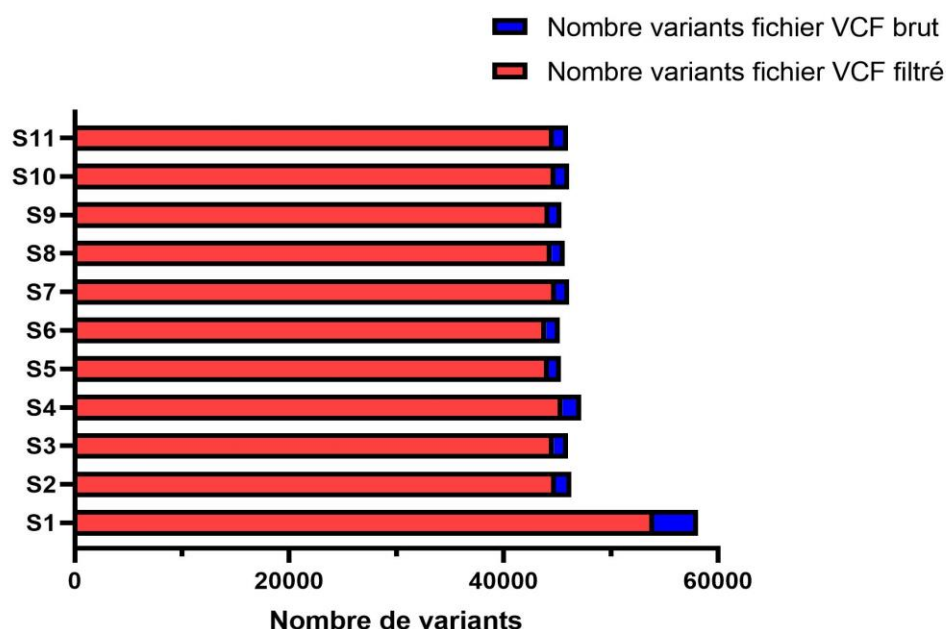
Le nombre de reads générés après séquençage d'exome a été évalué pour chaque échantillon (**figure 12**). Ce paramètre constitue une mesure directe de la profondeur de séquençage, c'est-à-dire du nombre de fois qu'une même région du génome a été lue. Une profondeur élevée permet une plus grande fiabilité dans la détection des événements génétiques, en particulier pour les variants de faible fréquence. Le suivi du nombre de reads par échantillon est donc un indicateur clé de la qualité des données produites. Pour notre séquençage, l'analyse du nombre de reads par échantillon permet d'identifier des disparités dans le rendement du séquençage, avec une profondeur autour de 30-40X pour les échantillons S4, S5, et S6 et une profondeur plus élevée pour les échantillons S8, S9, S10 et S11 (**figure 12**). Pour les échantillons S1 à S11, le pourcentage de bases couvertes à  $\geq 10X$  a été évalué, révélant une moyenne de 99,4 %, avec des valeurs extrêmes comprises entre 97,91 % et 99,86 %.



**Figure 12 :** Nombre de reads (en million) par échantillons générés lors du séquençage

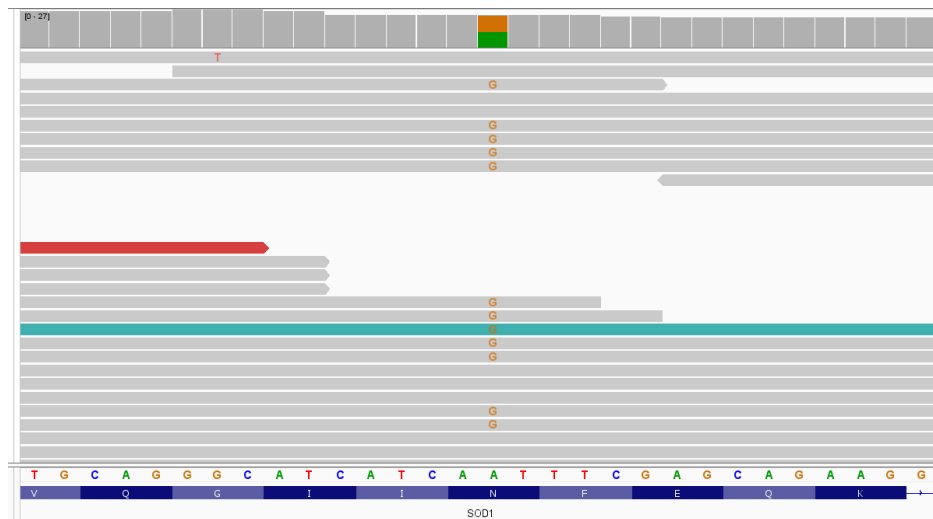
À partir des fichiers VCF bruts (fichiers issus de l'appel et de l'annotation des variants), le nombre moyen de variants identifiés par patient s'élevait à 45 487, illustrant la richesse en variations génétiques individuelles. Une première étape de filtrage a été réalisée à partir du fichier VCF brut en se basant sur la fréquence allélique dans GnomAD genome (Minor allele

frequency,  $MAF < 1 \%$ , ou  $MAF > 1 \%$  uniquement lorsque le variant était localisé dans un gène répertorié comme « likely pathogenic » ou « pathogenic » dans la base ClinVar), et en excluant les variants synonymes. Après ce filtrage, le nombre moyen de variants conservés par patient était de 1 559, réduisant significativement le bruit de fond et recentrant l'analyse sur les variants potentiellement pertinents sur le plan clinique (**figure 13**).



**Figure 13** : Nombre de variants fichier VCF brut et fichier VCF filtré

La validité du séquençage et de l'analyse bio-informatique a été vérifiée à l'aide du témoin positif, pour lequel le variant attendu, p.Asn21Ser, a bien été détecté (**figure 14**). Par ailleurs, il n'y a pas eu d'amplification d'ADN concernant le blanc confirmant l'absence de contamination lors de la technique.



**Figure 14** : Présence du variant *SOD1* p.Asn21Ser (visualisation IGV, Integrative Genomics Viewer) dans l'échantillon S1

### 3. Interprétation clinico-biologique des variants

#### 3.1 Approche diagnostique individuelle

A partir des fichiers VCF filtrés convertis sous format tableur, il a été réalisé l'étape d'interprétation clinico-biologique des variants à visée diagnostique (**tableau I**), c'est-à-dire dans le but de corréler la présence d'un ou de plusieurs variants génétiques au phénotype présenté par les patients. Les résultats vont être détaillés par patient et/ou duo ci-dessous.

**Tableau I : Résumé des variants d'intérêts retenus par patients à l'issue de l'interprétation clinico-biologique des variants**

| Patient | Sexe | Âge début | Phénotype clinique                                                                                 | Antécédents familiaux                                                                 | Gènes / Variants                                                                                                    | Type de variant                                                    | Classification ACMG |
|---------|------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------|
| S2      | F    | Non connu | Syndrome parkinsonien atypique + tracé dénervation à l'ENMG                                        | Frère S3 SLA ; parents décédés                                                        | Aucun variant d'intérêt                                                                                             | —                                                                  | —                   |
| S3      | M    | 64        | SLA avec atteintes initiales aux membres supérieurs                                                | Sœur S2 Syndrome Parkinsonien atypique ; parents décédés                              | <i>SOD3</i><br>NM_003102.4:c.542A>T<br>(p.His181Leu)                                                                | Faux-sens hétérozygote                                             | Classe 3            |
| S4      | M    | 59        | DFT puis SLA de forme spinale                                                                      | Soeur S5 SLA forme spinale; parents décédés                                           | Aucun variant d'intérêt                                                                                             | —                                                                  | —                   |
| S5      | F    | 60        | SLA avec atteinte initiale membre supérieur                                                        | Frère S4 SLA/DFT ; parents décédés                                                    | Aucun variant d'intérêt                                                                                             | —                                                                  | —                   |
| S6      | M    | 52        | Sclérose latérale primitive → SLA bulbaire                                                         | Cousine éloignée paternelle SLA et Sœur du grand père paternel SLA                    | <i>AQP4</i><br>NM_001650.7:c.155G>A<br>(p.Ser52Asn)                                                                 | Faux-sens avec impact possible sur épissage, hétérozygote          | Classe 3            |
| S7      | M    | 63        | Neuropathie axonale sensitivo-motrice chronique                                                    | Sœur S8 SLA ; enfants avec crampes/fasciculations                                     | <i>GPR132</i><br>NM_013345.4:c.217C>T<br>(p.Gln73Ter)                                                               | Non-sens hétérozygote                                              | Classe 3            |
| S8      | F    | —         | SLA                                                                                                | Frère S7                                                                              | <i>GPR132</i><br>NM_013345.4:c.217C>T<br>(p.Gln73Ter)                                                               | Non-sens hétérozygote                                              | Classe 3            |
| S9      | F    | 55        | SLA forme bulbaire                                                                                 | Antécédents familiaux : père Parkinson, tante Parkinson, tante maternelle SLA décédée | <i>UQCRC1</i><br>NM_003365.3:c.1372G>A<br>(p.Gly458Arg);<br><i>LRKK2</i><br>NM_198578.4:c.3939T>A<br>(p.Cys1313Ter) | Faux-sens ( <i>UQCRC1</i> ) Non sens ( <i>LRKK2</i> ) hétérozygote | Classe 3            |
| S10     | F    | 63        | SLA forme bulbaire                                                                                 | Cousine maternelle SLA forme spinale décédée                                          | <i>SYNE1</i><br>NM_182961.4:c.21396_21407del<br>(p.Trp7132Ter)                                                      | Non-sens hétérozygote                                              | Classe 3            |
| S11     | F    | 68        | SLA atteintes bulbaire et membres inférieurs; troubles comportement, aphasie, syndrome cérébelleux | Sœur atteinte SLA                                                                     | <i>POLG</i> c.1760C>T<br>(p.Pro587Leu);<br>c.752C>T<br>(p.Thr251Ile)                                                | Faux-sens hétérozygote                                             | Classe 3            |

ENMG : Électroneuromyogramme. SLA : Sclérose latérale amyotrophique. DFT : Démence fronto-temporale

### 3.1.1. Patients S2 et S3

Les patients **S2** et **S3** sont frère et sœur. Aucun autre antécédent familial de maladie neurodégénérative n'a été rapporté. Les parents sont décédés, ainsi qu'un autre frère, décédé à la suite d'un accident vasculaire cérébral.

Sur le plan clinique, la patiente S2 présente un syndrome parkinsonien atypique, associé à un tracé de dénervation à l'électromyogramme. Le patient S3 présente une SLA avec atteinte initiale prédominante aux membres supérieurs. Cette atteinte est apparue à l'âge de 64 ans. L'âge exact des patients au moment des examens est de 79 ans pour la patiente S2 et 71 ans pour le patient S3.

Un séquençage d'exome a été réalisé avec analyse en duo. A noter que pour ces deux échantillons, la profondeur de séquençage obtenue était inférieure aux standards diagnostiques (199). Un séquençage d'exome a été réalisé avec analyse bio-informatique en duo cherchant à détecter des variants d'intérêt commun aux deux patients, car étant symptomatiques tous les deux. Cette analyse n'a permis d'identifier aucun variant d'intérêt commun aux deux patients.

Une analyse en solo de chacun des patients a également été réalisée. Pour la patiente S2, aucun variant d'intérêt n'a été retrouvé. Pour le patient S3, il a été retrouvé le variant faux sens NM\_003102.4:c.542A>T (p.His181Leu) à l'état hétérozygote, qui affecte l'exon 2 sur 3 du gène *SOD3*, qui code l'enzyme superoxyde dismutase extracellulaire. Cette enzyme est un antioxydant majeur. Ce variant n'est pas connu des bases de données GnomAD exome ou genome v.4 et v.3. Le z-score associé au gène *SOD3* est de -2.33 pour les variants faux sens (GnomAD). Ce score négatif indique une moindre contrainte (plus de variants observés que prévus). Ce variant n'est pas rapporté dans ClinVar. Il entraîne la substitution d'un résidu histidine par une leucine à la position 181 de la protéine EC-SOD. L'histidine à cette position est très conservée à travers les espèces, ce qui suggère qu'elle pourrait jouer un rôle important dans la structure ou la fonction de l'enzyme. Le variant est localisé au niveau du domaine actif de l'enzyme. Les données *in silico* à l'appui de l'effet prévu du variant comprennent un score CADD de 29,5 et un score REVEL de 0,977. Il est prédit comme ayant un impact délétère sur la protéine par l'ensemble des logiciels de prédiction *in silico*. Dans la base de données OMIM, le gène *SOD3* n'est pas rattaché à une pathologie humaine. L'étude de Büyüköz et al. (174) rapportent la présence de deux variants *SOD3* Arg202Leu chez deux patients présentant une SLA de forme sporadique, l'un de sexe féminin et l'autre masculin. Le premier présentait une faiblesse des membres inférieurs, accompagnée de troubles de la parole, et le deuxième patient présentait une faiblesse des membres supérieurs, associée à des difficultés de parole et de

déglutition. La classification ACMG que nous avons retenue pour ce variant est la classe 3 (variant de signification incertaine) (PM1, PM2, PP3).

En conclusion, l'analyse de l'exome des patients S2 et S3 n'a pas révélé de variant d'intérêt partagé. Chez le patient S3, un variant rare et délétère a été identifié, dans le gène *SOD3* (p.His181Leu) à l'état hétérozygote. Nous l'avons classé de signification incertaine selon les critères ACMG. Il est à noter que la présentation clinique des deux patients diffère, ce qui pourrait suggérer qu'ils présentent des troubles neurodégénératifs distincts, malgré une atteinte commune des motoneurones. Bien que le rôle de *SOD3* dans la SLA ne soit pas établi, cette observation s'inscrit dans un contexte d'autres variants rapportés dans la littérature, justifiant des investigations fonctionnelles complémentaires pour en évaluer la contribution au phénotype clinique du patient.

### 3.1.2. Patients S4 et S5

Les patients **S4** et **S5** sont frère et sœur, issus d'une fratrie comprenant au total six enfants. Aucun autre membre de la famille n'est atteint à ce jour. Les parents sont décédés.

Le patient S4, de sexe masculin, a présenté une symptomatologie débutant vers l'âge de 59 ans, initialement sous la forme d'une démence fronto-temporale, évoluant vers une SLA de forme spinale. La patiente S5, de sexe féminin, a présenté les premiers signes à l'âge de 60 ans, débutant par une faiblesse musculaire de la main gauche. Le patient S4 a actuellement 63 ans et la patiente S5 a 62 ans.

Un séquençage d'exome a été réalisé avec analyse en duo cherchant à détecter des variants d'intérêt commun aux deux patients, car étant symptomatiques tous les deux. A noter que pour ces deux échantillons, la profondeur de séquençage obtenue était inférieure aux standards diagnostiques (199). Cette analyse n'a pas permis l'identification d'un variant d'intérêt commun aux patients S4 et S5. L'analyse de l'exome en solo de chacun des patients n'a pas non plus révélé de variants d'intérêts.

Toutefois, il faut noter la présence d'un variant commun aux deux patients, ainsi qu'à deux autres patients (patients S3 et S9). Il s'agit d'un variant tronquant NM\_002139.4 : c.315\_316insTT (p.Pro106PhefsTer32) qui affecte l'exon 4 sur 11 du gène *RBMX* (chromosome X) avec des fréquences alléliques allant de 15 à 40% selon les patients. Il se caractérise par l'insertion de deux nucléotides thymine aux positions 315 et 316 de la séquence codante du gène. Cette insertion provoque un décalage du cadre de lecture, entraînant la

substitution d'un acide aminé, la proline, par une phénylalanine au niveau du codon 106, suivie de l'apparition d'un codon stop prématuré situé 32 acides aminés en aval. Cette modification du cadre de lecture est susceptible d'induire la synthèse d'une protéine tronquée ou d'activer la dégradation de l'ARNm par le mécanisme dit de « nonsense-mediated decay », conduisant potentiellement à une perte de fonction de la protéine. Le variant est rapporté dans la population générale avec une fréquence de 0.0183, d'après les données de la base gnomAD exome v.4. Le score pLi pour le gène *RBMX* sur gnomAD est de 0.83, cela indique que le gène présente une tendance à l'intolérance, mais sans atteindre le seuil classiquement utilisé ( $\geq 0,9$ ) pour définir un gène intolérant aux variants tronquants. Le gène *RBMX*, également appelé RNA Binding Motif Protein, X-Linked, joue un rôle fondamental dans le métabolisme de l'ARN, en particulier dans les processus d'épissage alternatif, de stabilisation de l'ARNm et de régulation de l'expression génique. Il participe à l'assemblage des spliceosomes et pourrait également intervenir dans la régulation post-transcriptionnelle de l'ARN au cours du développement neuronal et dans la plasticité synaptique. Dans la base de données OMIM, le gène *RBMX* (300199) est associé à des troubles du développement intellectuel liés au chromosome X (X-linked).

Une étude récente publiée en 2024 (175) a analysé les exomes de 508 patients atteints de SLA et de 1660 témoins et a mis en évidence un enrichissement significatif en variants à perte de fonction du gène *RBMX* chez les patients SLA. Il s'agit de 5 patients masculins atteints de SLA (formes bulbaires et spinales), avec des mutations tronquantes du gène *RBMX* (frameshift ou nonsense). Ces variants (p.A78fs\*59, p.E82\*, p.E90\* et p.G118\*) se situent dans la région du domaine RRM (aa 16–82) ou juste en aval. À l'aide d'un modèle cellulaire murin NSC-34 exprimant la protéine mutante TDP-43 Q331K, les auteurs ont montré qu'une réduction de l'expression de *RBMX* entraînait une activation de la voie de signalisation p53 et une altération de la morphologie et de la survie des motoneurones. Par ailleurs, l'analyse transcriptomique single-cell du cortex moteur humain a révélé que les gènes régulés par *RBMX* sont majoritairement exprimés dans les neurones excitateurs corticospinaux, types cellulaires particulièrement vulnérables dans la SLA.

L'identification, chez les patients S4 et S5, d'un variant frameshift dans le gène *RBMX*, pourrait être une piste intéressante. Toutefois, la fréquence allélique chez les patients S4 et S5 étant basse, une confirmation par séquençage Sanger est nécessaire. De plus, ce variant est retrouvé au total chez 4 patients de cette étude ce qui pourrait laisser penser à un artefact de séquençage. De plus, même si ce variant semble intéressant, s'il est confirmé par séquençage

Sanger, il s'agit peut-être davantage d'un facteur de risque de développer une SLA qu'un gène causal de part sa fréquence élevée dans la population générale.

### 3.1.3. Patient S6

Le patient **S6** est un homme actuellement âgé de 65 ans. Il a présenté les premiers signes cliniques à l'âge de 52 ans. Le tableau initial évoquait une sclérose latérale primitive, qui a progressivement évolué vers une SLA avec atteinte bulbaire. L'interrogatoire familial a révélé des antécédents de SLA du côté paternel. Une cousine éloignée appartenant à la branche paternelle est rapportée comme ayant été atteinte de SLA, de même que la sœur du grand-père paternel, suggérant une possible agrégation familiale.

Un séquençage d'exome a été réalisé avec une analyse en solo (pas d'autre ADN familial disponible au LBMR SLA Tours). A noter que pour cet échantillon, la profondeur de séquençage obtenue était inférieure aux standards diagnostiques (199). Toutefois, il a été retrouvé un variant d'intérêt. Il s'agit d'un variant à l'état hétérozygote, NM\_001650.7 : c.155G>A (p.Ser52Asn), localisé dans l'exon 2 sur 5 du gène *AQP4*, qui code la protéine aquaporine-4, un canal à eau fortement exprimé dans le système nerveux central, en particulier au niveau des astrocytes. Cette protéine joue un rôle essentiel dans la régulation de l'homéostasie hydrique cérébrale, facilitant le transport transmembranaire de l'eau, en particulier dans le contexte du maintien de l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique. La substitution d'un résidu de sérine par une asparagine au niveau de la position 52 pourrait potentiellement altérer la conformation ou la fonction du canal car elle est située dans un des 8 domaines transmembranaires. Les outils bio informatiques Mistic, Revel et AlphaMissens prédisent un impact délétère sur la protéine. Ce variant présente un score SpliceAI AL de 0,28 indiquant un gain modéré d'un site accepteur. Plus précisément, cela pourrait suggérer que ce variant renforce un site accepteur cryptique, c'est-à-dire un site de jonction exon-intron qui n'est normalement pas utilisé, mais qui pourrait être activé par le variant. L'activation d'un site accepteur cryptique pourrait entraîner l'inclusion d'un exon supplémentaire ou la modification du cadre de lecture, impact majeur sur la protéine, pouvant lui conférer un gain ou une perte de fonction. Ce variant est absent des bases de données GnomAD exome et genome v.4 et absent de ClinVar. Pour le gène *AQP4*, le z-score est de 0.37 pour les variants faux sens et le pLI est égal à 0 (ce qui signifie que ce gène tolère les variants perte de fonction) sur gnomAD. Le gène *AQP4* (600308) est référencé sur OMIM comme associé de façon incertaine au phénotype Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts 4 de transmission autosomique récessive (620448).

Une étude menée en 2009 par Nicaise et *al.* (176) a montré une surexpression d'AQP4 dans le tronc cérébral et le cortex moteur de rats transgéniques *SOD1* G93A, modèles expérimentaux de SLA, associée à une diminution concomitante de l'expression du canal potassique astrocytaire Kir4.1. Des études post-mortem menées chez des patients atteints de SLA ont confirmé une accumulation anormale d'AQP4 périvasculaire dans le cortex moteur, en lien avec une altération fonctionnelle de la barrière hémato-encéphalique. Cette désorganisation est associée à une réduction de l'expression de GLT-1, principal transporteur du glutamate, suggérant un mécanisme indirect de toxicité glutamatergique favorisé par la dysfonction astrocytaire.

Au total, la classification ACMG retenu pour le variant NM\_001650.7 : c.155G>A (p.Ser52Asn) du gène *AQP4* est la classe 3 (variant de signification incertaine (PM1, PM2, PP3)).

En conclusion, pour le patient S6, l'identification d'un variant dans le gène *AQP4*, bien que classé de signification incertaine, reste un candidat intéressant à prendre en compte pour des analyses fonctionnelles ultérieures. Une étude familiale des apparentés symptomatiques serait souhaitable.

#### 3.1.4. Patients S7 et S8

Les patients **S7** et **S8** sont frère et sœur. Leurs parents sont décédés, et un autre frère présente des crampes et des fasciculations. Deux enfants du patient S7 présentent également des signes similaires à type de crampes et de fasciculations.

Le patient S7, actuellement âgé de 73 ans, présente une neuropathie axonale sensitivo-motrice d'évolution chronique depuis 2015. Sa sœur, la patiente S8, a été atteinte de SLA et est décédée à l'âge de 56 ans. Le patient S7 est suivi au centre hospitalier universitaire de Tours.

Les deux patients ont fait l'objet d'une analyse d'exome réalisée en duo. Les critères qualité pour ces échantillons sont conformes aux recommandations (199) et permettent un rendu en diagnostic clinique. L'étude a identifié un variant d'intérêt partagé entre les deux individus. Il s'agit du variant NM\_013345.4 : c.217C>T (p.Gln73Ter) qui est porté à l'état hétérozygote par les deux patients et qui est un variant non-sens dans le gène *GPR132*. Ce variant entraîne la substitution d'une cytosine (C) par une thymine (T) en position nucléotidique 217 (exon 4 sur 5), ce qui implique la conversion d'un codon glutamine (Gln, Q) en position 73 dans la séquence d'acides aminés en un codon stop (Ter). Cette terminaison prématurée pourrait aboutir à un

produit protéique tronqué, ce qui pourrait entraîner une protéine non fonctionnelle. L'autre hypothèse serait l'élimination de l'ARNm produit et aberrant par le système de surveillance nonsense-mediated mRNA decay. Il est présent dans la base de données gnomAD exome v4 avec une fréquence de 1.369e-06. Le gène présente une tolérance aux variants de perte de fonction, avec un ratio observé/attendu de 1,2 (IC 0,41–1,91), un score LOEUF de 1,905 et un pLI de 0,07 (données gnomAD). Il n'est à l'heure actuelle pas répertorié en pathologie humaine dans la base de données OMIM. Le gène *GPR132* code le récepteur 132 couplé à la protéine G. Le GPR132 est un membre de la famille des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) et est impliqué dans divers processus biologiques, notamment la régulation de la réponse immunitaire et la prolifération cellulaire. Il est exprimé dans une variété de tissus. Dans l'étude menée par Chesi et *al.* (53), les auteurs ont réalisé un séquençage d'exome complet sur une cohorte de 47 trios SLA sporadiques (patient et ses deux parents) afin d'identifier des mutations *de novo* potentiellement impliquées dans la pathogenèse de la maladie. Parmi les 25 mutations non synonymes *de novo* recensées, un variant dans le gène *GPR132* (p.Lys31Asn) a été identifié chez un homme présentant une SLA sporadique de forme spinale. Bien que ce variant ne soit pas un variant tronquant comme celui présenté par nos deux patients, il est intéressant de noter que ces variants se situent à proximité en termes de position sur la séquence primaire de la protéine. Il n'y a pas eu d'étude fonctionnelle réalisée dans la littérature.

Au total, la classification ACMG retenue pour le variant NM\_013345.4 : c.217C>T (p.Gln73Ter) du gène *GPR132* est la classe 3 (variant de signification incertaine (PM2)).

En conclusion, pour les patients S7 et S8, un variant d'intérêt a été détecté dans le gène *GPR132* classé de signification incertaine. Le variant observé dans *GPR132* ne permet pas, en l'état actuel des connaissances, d'établir un lien causal. Il pourrait représenter un facteur contributif, mais cette hypothèse nécessite d'être confirmée par des approches expérimentales et des données cliniques supplémentaires ainsi que par l'évolution clinique du patient S7. En effet, les patients S7 et S8 présentent des phénotypes cliniques différents. A noter que l'analyse des exomes en solo pour ces deux patients, n'a pas révélé d'autres variants d'intérêt.

### 3.1.5. Patient S9

La patiente S9 est actuellement âgée de 58 ans. Elle présente une SLA de forme bulbaire, avec un début des symptômes à l'âge de 55 ans.

Elle présente des antécédents familiaux de pathologies neurodégénératives. Son père, décédé à l'âge de 90 ans, a présenté une maladie de Parkinson, associée à des troubles de la déglutition. Une tante paternelle, âgée de 78 ans au moment de l'étude, est également atteinte de la maladie de Parkinson. Du côté maternel, une tante est décédée à l'âge de 86 ans des suites d'une SLA, à priori sans qu'aucun test génétique n'ait été réalisé.

L'analyse génétique a été conduite par une analyse d'exome réalisée en solo. Les critères qualité pour cet échantillon sont conformes aux recommandations (199) et permettent un rendu en diagnostic clinique. Cette analyse a permis d'identifier les deux variants d'intérêts suivants :

Dans le gène *UQCRC1*, il a été détecté le variant NM\_003365.3:c.1372G>A p.(Gly458Arg) (dans l'exon 12 sur 13) à l'état hétérozygote. Il s'agit d'un variant faux sens. Il a été identifié dans la population générale avec une fréquence de 6.842e-07, selon la base de données gnomAD exome v4. Le z-score associé au gène *UQCRC1* est de 0.7 selon gnomAD, ce gène présente une contrainte modérée aux variants faux sens. Sur le site Gene2Phenotype, le score pDN est de 0,716 indiquant une probabilité de 71,6 % qu'une mutation dans le gène étudié agisse selon un mécanisme dominant négatif. Cela signifie que la protéine mutée pourrait interférer avec la fonction de la protéine normale. Les prédictions bio-informatiques fournissent les éléments suivants concernant l'effet potentiel du variant : score CADD : 32,0, score REVEL : 0,355. Les outils de prédiction *in silico* d'impact sur la protéine sont partagés. Toutefois le score MetaRNN est de 0.87 (effet délétère). Le gène *UQCRC1* code une sous-unité du complexe III de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ce complexe intervient dans la chaîne de transport des électrons, une étape cruciale de la phosphorylation oxydative et de la production d'ATP au sein des mitochondries. Le gène *UQCRC1* (191328) est un gène OMIM associé à un syndrome parkinsonien avec polyneuropathie de transmission autosomique dominante (619279). Dans la base de données ClinVar, les variants rapportés dans le gène *UQCRC1* sont majoritairement des variants faux-sens, classés comme variants de signification incertaine ou comme probablement pathogènes. Il n'existe pas à l'heure actuelle de variants d'*UQCRC1* rapportés dans des cohortes de patients atteints de SLA à ce jour. Les variants hétérozygotes d'*UQCRC1* ont été associés à une forme atypique de maladie de Parkinson, sensible à la lévodopa, avec un âge moyen d'apparition de  $54,2 \pm 8,7$  ans (180) et observées dans des familles d'origine asiatique. L'étude de Lin et *al.* (181) a identifié des variants faux et un variant d'épissage dans le gène *UQCRC1* dans 3 familles dont les membres présentaient des symptômes moteurs à type de bradykinésie, de rigidité, de tremblements et de polyneuropathie notamment pour une famille.

Au total, la classification ACMG retenue pour le variant NM\_003365.3:c.1372G>A du gène *UQCRC1* est la classe 3 (variant de signification incertaine) (PM2, PP3 supporting).

Dans le gène *LRRK2*, il a été retrouvé le variant NM\_198578.4:c.3939T>A p.(Cys1313Ter) à l'état hétérozygote. Il s'agit d'un variant de type non-sens qui affecte la protéine en introduisant un codon STOP prématuré. La fréquence de ce variant dans la base de données gnomAD v4 exome est de 5.348e-05. Le score pLI associé au gène *LRRK2* est de 0 selon gnomAD. Le ratio observed/expected (o/e = 0,69 [0,61-0,78]) suggère une contrainte modérée, avec un nombre de variants LoF légèrement inférieur à ce qui serait attendu par hasard. Le variant est rapporté dans ClinVar avec un total de deux soumissions, toutes deux indiquant une signification incertaine. Le gène *LRRK2* code la protéine Leucine-Rich Repeat Kinase 2, qui joue un rôle crucial dans divers processus cellulaires, notamment les voies de signalisation, la fonction neuronale et l'autophagie. Il s'agit d'un gène OMIM associé à la maladie de Parkinson de transmission autosomique dominante (607060). *LRRK2* est un gène bien connu pour son rôle dans la maladie de Parkinson, notamment via le variant G2019S, qui affecte les fonctions kinase et GTPase de la protéine, contribuant à la neurodégénérescence (182). De façon intéressante, l'étude de Wszolek et *al.*, a décrit en 1997, une famille présentant des phénotypes complexes associant parkinsonisme, SLA et démence. Plus tard, le variant Y1699C a été identifiée dans cette famille dans l'étude de Zimprich et *al.* en 2004. Par ailleurs, dans cette étude, le phénotype clinique des patients porteurs de variants dans le gène *LRRK2* était très variable, incluant des atteintes motoneuronales ainsi que des manifestations de type paralysie supra nucléaire progressive (183, 184).

Au total, la classification ACMG retenue pour le variant NM\_198578.4:c.3939T>A dans le gène *LRRK2* est la classe 3 (variant de signification incertaine) (PM2), les critères étant insuffisants. Ce variant serait intéressant à explorer en études fonctionnelles car il s'agit d'un variant non-sens et non faux sens comme classiquement rapporté. Sa contribution au phénotype clinique est donc incertaine.

Au total, pour cette patiente, il a été identifié deux variants de signification incertaine dans les gènes *UQCRC1* et *LRRK2*. Il est difficile d'interpréter leur rôle sans données supplémentaires, telles que la ségrégation familiale et un phénotype clinique plus détaillé. Dans cette famille, la coexistence de deux pathologies neurodégénératives, la maladie de Parkinson et la SLA, ainsi que la présence de ces deux variants qui pourraient être transmis par le père, qui a présenté des troubles de la déglutition, suggère l'hypothèse suivante : la patiente pourrait présenter un syndrome chevauchant SLA-Parkinson ou un syndrome parkinsonien atypique. A

la lumière de ces résultats, il serait intéressant de noter l'évolution des signes cliniques présentés par la patiente.

### 3.1.6. Patient S10

La patiente **S10**, est une femme actuellement âgée de 66 ans, suivie dans le cadre d'un diagnostic de SLA. La symptomatologie a débuté à l'âge de 63 ans, avec une forme bulbaire. L'étude de l'histoire familiale révèle la présence d'un antécédent notable du côté maternel : une cousine ayant présenté une SLA de forme spinale, aujourd'hui décédée.

Une analyse de l'exome a été réalisée selon une approche en solo (sans analyse parentale simultanée). Les critères qualité pour cet échantillon sont conformes aux recommandations (199) et permettent un rendu en diagnostic clinique.

Cette analyse a permis de retenir un variant d'intérêt. Il s'agit du variant NM\_182961.4:c.21396\_21407del p.(Trp7132Ter) dans le gène *SYNE1* (exon 117 sur 153). Il s'agit d'un variant non-sens à l'état hétérozygote, avec apparition d'un codon STOP prématuré. Ce variant est inconnu des bases de données GnomAD et n'est pas répertorié sur ClinVar. Le gène *SYNE1* présente une tolérance globale aux variants perte de fonction (pLI = 0), mais le ratio observed/expected (o/e = 0,53 [0,49-0,56]) et le LOEUF = 0,56 indiquent une contrainte modérée, avec moins de variants LoF observés que ce qui serait attendu par hasard. Le gène *SYNE1* (spectrin repeat containing nuclear envelope protein 1) code une grande protéine à plusieurs domaines, qui est impliquée dans la liaison entre l'enveloppe nucléaire et le cytosquelette. Cette protéine est ubiquitaire mais fortement exprimée au niveau du système nerveux. Dans la base de données OMIM, le gène *SYNE1* (608441) est associé à trois phénotypes incluant l'arthrogrypose multiple congénitale de type myogénique (618484, transmission autosomique récessive), la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss de type 4 (612998, transmission autosomique dominante) et l'ataxie spinocérébelleuse autosomique récessive de type 8 (610743). Toutefois, dans la base de données ClinVar, un variant non-sens dans le gène *SYNE1* NM\_182961.4(*SYNE1*):c.22930C>T (p.Gln7644Ter) a été répertorié comme pathogène et rapporté dans un cas de SLA juvénile. Ce constat rejoint plusieurs observations publiées qui soulignent l'élargissement progressif du spectre clinique associé aux variants du gène *SYNE1*. Ainsi, Naruse et *al.* (185) ont décrit un patient présentant une SLA juvénile avec déclin cognitif avec deux variants pathogènes à l'état hétérozygote composite dans le gène *SYNE1*. L'équipe de Nadaf et *al.* (186) a rapporté le cas d'une patiente de 24 ans

présentant un phénotype complexe de type SLA et ataxie chez qui un variant délétère homozygote, c.22711\_22721del, (p.Ala7571ArgfsTer4), a été détectée dans l'exon 125 du gène *SYNE1*. De plus, Synofzik et *al.* (187) ont montré que plus de 60 % des patients atteints d'ataxie récessive liée à *SYNE1* présentaient également des manifestations motrices, notamment bulbaires, confirmant la diversité et la complexité phénotypiques associées à ce gène.

Contrairement aux cas rapportés dans la littérature, souvent associés à des formes juvéniles sévères de SLA ou à des phénotypes complexes avec des variants tronquant à l'état homozygote, notre patiente a présenté une SLA plus tardive. Ainsi, la classification ACMG retenue pour le variant NM\_182961.4:c.21396\_21407del dans le gène *SYNE1* est la classe 3 (variant de signification incertaine) (PM2, PVS1 supporting). A noter, que l'exome ne permettant pas d'évaluer l'ensemble des régions introniques, un deuxième variant intronique en trans dans ce gène ne peut être exclu pour cette patiente.

Au total, la patiente S10 présente un variant d'intérêt dans le gène *SYNE1* de signification incertaine à explorer lors d'études fonctionnelles.

### 3.1.7 Patient S11

La patiente **S11** est suivie dans le cadre d'une SLA avec atteinte bulbaire et des membres inférieurs. L'âge d'apparition des premiers signes cliniques est de 68 ans. Le profil clinique était marqué initialement par des troubles du comportement, notamment des épisodes de rires et pleurs spasmodiques, ainsi que par des perturbations du langage, caractérisées par une aphasie. Un syndrome cérébelleux a également été observé. L'imagerie par résonance magnétique cérébrale a objectivé une atrophie diffuse. À ce jour, la patiente est âgée de 70 ans. L'histoire familiale fait état d'un antécédent de SLA chez une sœur.

Un séquençage de l'exome a été réalisé chez la patiente en solo. Les critères qualité pour cet échantillon sont conformes aux recommandations (199) et permettent un rendu en diagnostic clinique.

Pour cette patiente, il a été identifié deux variants d'intérêt dans le gène *POLG*. Le gène *POLG* code la sous-unité catalytique de l'ADN polymérase gamma, qui est responsable de la réplication et de la réparation de l'ADN mitochondrial. Le gène *POLG* présente un z-score de -0,44 pour les variants faux sens. Les mutations du gène *POLG* (OMIM 174763) sont associées à un spectre de troubles mitochondriaux, conduisant à une variété de présentations cliniques

tels que l'Alpers-Huttenlocher syndrome, la myocerebrohepatopathy spectrum, la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss de type 4, la myoclonus epilepsy myopathy sensory ataxia, la progressive external ophthalmoplegia, et l'ataxie sensorielle avec neuropathie périphérique. Les symptômes peuvent débuter de la période néonatale à l'âge adulte (après 40 ans). L'établissement du diagnostic d'un trouble lié à POLG repose sur les signes cliniques et l'identification de variants pathogènes bialléliques dans le gène *POLG* (188). Le phénotype clinique pour les patients après 40 ans inclut les signes cliniques suivants : ptosis, faiblesse musculaire, ataxie, paralysie oculaire externe progressive. A noter également, la présence possible de troubles de l'humeur, d'épisodes de régression psychomoteur, de troubles du mouvement (dysarthrie, myoclonie, syndrome parkinsonien). Concernant les examens parcliniques, l'imagerie cérébrale peut apparaître normale au début et à mesure que la maladie progresse, on peut noter la présence notamment d'une atrophie cérébrale généralisée (188).

Le premier variant d'intérêt identifié dans le gène *POLG* est le variant NM\_002693.3: c.1760C>T (p.Pro587Leu). Il s'agit d'un variant faux-sens situé dans l'exon 10 sur 23 du gène *POLG*. Il a été retrouvé à l'état hétérozygote chez notre patiente, et a été identifié dans la population générale avec une fréquence gnomAD de 0,19 %. Les données informatiques à l'appui de l'effet prévu du variant comprennent un score CADD de 29,3 et un score REVEL de 0,796. Les outils de prédiction *in silico* de l'impact du variant sur la protéine sont partagés. Ce variant est situé au niveau de la région reliant le domaine exonucléase et le domaine polymérase. Ce variant est rapporté à de nombreuses reprises dans la base de données ClinVar (29 variants classés pathogène, 10 variants classés probablement pathogènes, 5 variants classés de signification incertaine). Il est associé majoritairement au phénotype « mitochondrial disease » ou « mitochondrial DNA depletion 4b ou 1 ».

Le deuxième variant d'intérêt est le variant NM\_002693.3 c.752C>T (p.Thr251Ile) dans le gène *POLG* (exon 3 sur 23). Il s'agit d'un variant faux-sens, retrouvé à l'état hétérozygote chez notre patiente. Il a été identifié dans la population générale à une fréquence de 0,19 % selon gnomAD. Les données informatiques étayant l'effet prédit du variant comprennent un score CADD de 13,89 et un score REVEL de 0,527. Les outils de prédictions *in silico* de l'impact du variant sur la protéine sont partagés. Ce variant est situé au niveau du domaine exonucléase de la protéine. Dans ClinVar, le variant c.752C>T p.Thr251Ile a été soumis 31 fois comme pathogène, 10 fois comme probablement pathogène et 7 fois avec une signification incertaine. Le variant a été trouvé en cis avec un autre variant, P587L (présenté également par

notre patiente) (189). Cette combinaison a été observée chez des individus présentant des caractéristiques cliniques variées, comprenant des atteintes neuromusculaires.

Pour les deux variants précédents dans le gène *POLG*, il n'est pas possible de détecter si ces variants sont présents en cis (même allèle) ou en trans (allèles différents) car séparés de 1008 paires de base. Une analyse complémentaire serait nécessaire pour éclaircir ce point.

Au total, pour ces deux variants dans le gène *POLG*, il a été retenu la classe 3 (variant de signification incertaine) (PS1) en l'absence de confirmation de la phase. Au regard de ces éléments et dans une perspective à la fois diagnostique et de conseil génétique, la réalisation d'un séquençage de l'exome chez la sœur atteinte est recommandée.

### 3.2. Approche exploratoire

L'analyse initiale des variants rares et délétères issus des exomes des dix patients n'a pas révélé de variants partagés par l'ensemble du groupe. Aucun variant pathogène ou probablement pathogène n'a été identifié dans les gènes classiquement associés à la SLA, ce qui est cohérent avec le fait que tous les patients avaient préalablement bénéficié d'un séquençage ciblé par panel couvrant ces gènes et qui se sont avérés négatifs.

Pour ce travail de thèse, il a été décidé de réaliser en complément de l'interprétation clinico-biologique classique des variants, une étude d'enrichissement fonctionnel par patients des variants rares et délétères afin de détecter des variants d'intérêt dans des voies statistiquement enrichies. Ceci pourrait constituer un outil supplémentaire pour prioriser certains variants parmi les variants rares et délétères chez un patient ou identifier une voie biologique majoritairement touchée. La liste des gènes retenus par patients pour l'analyse fonctionnelle est rapportée en **annexe 5**.

#### 3.2.1 Regroupement fonctionnel des variants par patients

Concernant la patiente **S2**, l'analyse d'enrichissement fonctionnel menée, a mis en évidence deux voies biologiques retrouvées significativement enrichies en s'appuyant sur la base Reactome 2024. Ces voies sont "activation of Na-permeable kainate receptors" (p value adjusted = 0,00232 reactome) avec la présence d'un variant dans le gène *GRIK1* et la voie "TYSND1 cleaves peroxisomal proteins" (p value adjusted = 0,00809) avec la présence d'un variant dans le gène *ACAA1*. Ces voies sont également significativement enrichies via l'analyse

d'enrichissement fonctionnel reposant sur la base GO biological process 2025 (p value adjusted = 0.04662 pour ces deux voies). Le rôle de GRIK1 en tant que récepteur du glutamate est particulièrement intéressant, puisque les déséquilibres de la neurotransmission glutamatergique sont fréquemment impliqués dans les maladies neurodégénératives. Ces résultats suggèrent des pistes génétiques plausibles à approfondir par des analyses complémentaires pour cette patiente.

Concernant le patient **S3**, il n'a pas été retrouvé de voies significativement enrichies via la base Reactome 2024. Une voie a été significativement enrichie via la base GO biological process « Regulation of Macromolecule Metabolic Process » (GO:0060255) avec les gènes *KIF16B* et *CNDP1* (adjusted p value = 0,02138).

Pour les patients **S2** et **S3**, il n'a pas été retrouvé de voies biologiques significativement enrichies communes. Toutefois, ces gènes pourraient être explorés à titre individuel étant donné le phénotype différent des patients.

Concernant les patients **S4** et **S5**, il n'a pas été retrouvé de voies biologiques significativement enrichies.

Concernant le patient **S6**, deux voies ont été retrouvées significativement enrichies via l'analyse reposant sur la base GO biological process 2025 (p value adjusted = 0.01512 pour ces deux voies). Il s'agit des processus biologiques Renal Water Homeostasis (GO:0003091) et Multicellular Organismal-Level Water Homeostasis (GO:0050891) pour lesquels les gènes *WFS1* et *AQP4* sont impliqués. A noter que la protéine AQP4 est exprimé au niveau cérébral, rénal et du système respiratoire. Bien que l'enrichissement GO identifie la voie "Renal Water Homeostasis", le variant dans *AQP4* et l'expression neuronale connue de ce gène suggèrent que la perturbation se manifeste principalement au niveau du système nerveux central, affectant potentiellement l'homéostasie hydrique cérébrale. Ce résultat conforte notre décision de retenir comme variant d'intérêt celui retrouvé dans *AQP4* pour ce patient mais met en avant également le gène *WFS1*.

Concernant le patient **S7**, il n'a pas été retrouvé de voie significativement enrichie via la base Reactome mais un grand nombre de processus biologiques (70) ont été retrouvé significativement enrichi. Ce résultat discordant n'a pas été retenu. Concernant la patiente **S8**, il n'a pas été retrouvé de voies biologiques significativement enrichies.

Concernant la patiente **S9**, il n'a pas été retrouvé de voie significativement enrichie via la base Reactome mais un grand nombre de processus biologiques (60) via Gene ontology

biological process ont été retrouvé significativement enrichi. Ce résultat discordant n'a pas été retenu.

Concernant la patiente **S10**, il n'a pas été retrouvé de voies biologiques significativement enrichies.

Concernant la patiente **S11**, il n'a pas été retrouvé de voie significativement enrichie via la base Reactome. L'analyse via Gene ontology biological process révèle 12 voies significativement enrichies (adjusted p value = 0.04229). Cette analyse révèle une signature biologique dominée par des processus de dégradation de la chitine et du métabolisme glucidique (gène *CHIA*), des processus de modifications post-traductionnelles de protéines (gène *PDF*), des processus liés à la réparation de l'ADN et réponse immune (gènes *ASCC1*, *HFM1*, *RELB*) et des processus de transport membranaire (gène *SLCO4A1*).

Au total, l'étude d'enrichissement fonctionnel des variants rares et délétères a permis d'identifier de nouveaux variants candidats chez certains patients et de conforter l'intérêt d'un variant déjà retenu chez un autre patient.

Dans un second temps, une analyse d'enrichissement fonctionnel a été réalisée sur l'ensemble des variants rares et prédits délétères des dix patients (**annexe 6**) afin d'explorer l'hypothèse d'un fond génétique commun prédisposant à la SLA et aux atteintes neurodégénératives.

### 3.2.2 Regroupement fonctionnel des variants de la cohorte exome

Les résultats obtenus pour l'analyse d'enrichissement fonctionnel de l'ensemble des variants rares et prédits délétères chez les dix patients sont résumés dans le **tableau II**.

**Tableau II** : Résumé des résultats de l'analyse d'enrichissement fonctionnel (Reactome Pathways 2024 et GO biological process 2025) des variants rares et prédits délétères identifiés chez les dix patients

| Voie / Processus                                                 | Base                   | p-value (brute) | Odds Ratio | Gènes impliqués           | Patients   |
|------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------|------------|---------------------------|------------|
| Reversal of Alkylation Damage by DNA Dioxygenases                | Reactome Pathways 2024 | 0,00107         | 55,52      | <i>ASCC1, ALKBH2</i>      | S11, S4    |
| DNA Damage Reversal                                              | Reactome Pathways 2024 | 0,00142         | 46,27      | <i>ASCC1, ALKBH2</i>      | S11, S4    |
| G2/M DNA Damage Checkpoint                                       | Reactome Pathways 2024 | 0,01848         | 5,65       | <i>PIAS4, RFC3, WEE1</i>  | S7, S3     |
| G2/M DNA Replication Checkpoint                                  | Reactome Pathways 2024 | 0,03573         | 34,46      | <i>WEE1</i>               | S7         |
| NOTCH2 Activation and Transmission of Signal to the Nucleus      | Reactome Pathways 2024 | 0,01404         | 12,06      | <i>DLL4, CNTN1</i>        | S4, S9     |
| Activated NOTCH1 Transmits Signal to the Nucleus                 | Reactome Pathways 2024 | 0,02116         | 9,56       | <i>DLL4, CNTN1</i>        | S4, S9     |
| Signaling by NOTCH2                                              | Reactome Pathways 2024 | 0,028           | 8,15       | <i>DLL4, CNTN1</i>        | S4, S9     |
| SUMOylation ofSUMOylation Proteins                               | Reactome Pathways 2024 | 0.02657         | 8.40       | <i>PIAS4, NUP54</i>       | S5, S7     |
| SUMOylation of Ubiquitynylation Proteins                         | Reactome Pathways 2024 | 0.03247         | 7.49       | <i>PIAS4, NUP54</i>       | S5, S7     |
| Diseases associated with Glycosylation Precursor Biosynthesis    | Reactome Pathways 2024 | 0,00515         | 21,35      | <i>DPM1, PMM2</i>         | S4, S10    |
| Molybdenum Cofactor Biosynthesis                                 | Reactome Pathways 2024 | 0,04272         | 27,57      | <i>MOCS1</i>              | S6         |
| Regulation of G2/M Transition of mitotic cell cycle (GO:0010389) | GO BP 2025             | 0,0081          | 12,68      | <i>WEE1, GPR132, RRM1</i> | S5, S7, S8 |

| Voie / Processus                             | Base       | p-value (brute) | Odds Ratio | Gènes impliqués                                                                                                                                                 | Patients                        |
|----------------------------------------------|------------|-----------------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Protein Glycosylation<br>(GO:0006486)        | GO BP 2025 | 0,0125          | 9,34       | <i>GALNT12</i> ,<br><i>DPM1</i> ,<br><i>GALNT6</i> ,<br><i>PMM2</i> , <i>MOGS</i>                                                                               | S2, S4, S5, S8,<br>S10          |
| DNA Repair<br>(GO:0006281)                   | GO BP 2025 | 0,0152          | 8,77       | <i>RFC3</i> , <i>ALKBH2</i> ,<br><i>PIAS4</i> , <i>RRM1</i> ,<br><i>PARP4</i> , <i>ASCC1</i> ,<br><i>TRAP</i>                                                   | S2, S3, S4, S5,<br>S7, S11      |
| Protein Modification<br>Process (GO:0036211) | GO BP 2025 | 0,00646         | 2,67       | <i>PARP4</i> , <i>PDF</i> ,<br><i>NEK4</i> , <i>STK36</i> ,<br><i>LRRK2</i> , <i>MAST2</i> ,<br><i>PMM2</i> , <i>MATK</i> ,<br><i>NEK10</i> ,<br><i>PPP2R3A</i> | S2, S3, S7, S8,<br>S9, S10, S11 |
| DNA Damage Response<br>(GO:0006974)          | GO BP 2025 | 0,034           | 2,38       | <i>RFC3</i> , <i>RRM1</i> ,<br><i>PARP4</i> , <i>NEK4</i> ,<br><i>TTC5</i> , <i>METTL3</i> ,<br><i>TRAP</i>                                                     | S2, S3, S5, S6,<br>S7, S9       |

### 3.2.2.1 Analyse d'enrichissement fonctionnel avec la base Reactome Pathways 2024

L'analyse d'enrichissement fonctionnel basée sur la base de données Reactome Pathways 2024 des gènes porteurs de variants rares et prédits délétères dans les exomes des dix patients n'a pas permis d'identifier de processus biologiques significativement enrichis ( $p$  adjusted  $< 0,05$  après correction par la méthode de Benjamini-Hochberg).

Toutefois, des voies biologiques présentant des  $p$  brutes  $< 0,05$  associées à des odds ratios élevés, indiquant une surreprésentation notable de certaines voies biologiques et suggérant des tendances biologiques potentiellement pertinentes, ont été identifiées. Plusieurs voies liées à la réparation de l'ADN se sont démarquées parmi les enrichissements les plus notables. La voie « Reversal of Alkylation Damage by DNA Dioxygenases » présentait une  $p$ -value brute de 0,00107 avec un odds ratio de 55,52, tandis que « DNA Damage Reversal » affichait une  $p$ -value de 0,00142 et un odds ratio de 46,27. Les gènes impliqués dans ces voies sont *ASCC1* (patient **S11**) et *ALKBH2* (patient **S4**). D'autres voies impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire, telles que « G2/M DNA Damage Checkpoint » ( $p = 0,01848$  ; odds ratio = 5,65) et « G2/M DNA Replication Checkpoint » ( $p = 0,03573$  ; odds ratio = 34,46) ont été détectées. Les gènes impliqués dans ces voies sont *PIAS4* (patient **S7**), *RFC3* (patient **S3**) et *WEE1* (patient **S7**).

La signalisation NOTCH, également représentée, se distingue par la présence de plusieurs voies avec des enrichissements modérés. Par exemple, la voie « NOTCH2 Activation

and Transmission of Signal to the Nucleus » présente une p-value de 0,01404 et un odds ratio de 12,06. La voie « Activated NOTCH1 Transmits Signal to the Nucleus » ( $p = 0,02116$  ; odds ratio = 9,56) ainsi que « Signaling by NOTCH2 » ( $p = 0,02800$  ; odds ratio = 8,15) sont également à notifier. Les gènes impliqués dans ces voies sont *DLL4* (patient S4) et *CNTN1* (patient S9). La signalisation NOTCH est reconnue pour son rôle dans la différenciation neuronale, la plasticité synaptique et la réponse gliale.

Des voies impliquant la SUMOylation ont également été retrouvées parmi les enrichissements les plus notables. La voie « SUMOylation of SUMOylation Proteins » affichait une p-value de 0,02657 avec un odds ratio de 8,40, tandis que « SUMOylation of Ubiquitinylation Proteins » montrait une p-value de 0,03247 pour un odds ratio de 7,49. Les gènes impliqués dans ces voies sont *PIAS4* (patient S7) et *NUP54* (patient S5). La SUMOylation est un mécanisme clé dans la régulation de la stabilité et de la localisation subcellulaire de protéines telles que TDP-43. Une perturbation de ces mécanismes pourrait favoriser l'accumulation de protéines mal repliées ou agrégées.

Enfin, plusieurs voies métaboliques associées aux glycosylations et à la biosynthèse de cofacteurs ont été retrouvées, comme « Diseases Associated With Glycosylation Precursor Biosynthesis » ( $p = 0,00515$  ; odds ratio = 21,35) ou « Molybdenum Cofactor Biosynthesis » ( $p = 0,04272$  ; odds ratio = 27,57). Les gènes impliqués dans ces voies sont respectivement *DPM1* et *PMM2* (patients S4 et S10) et *MOCS1* (patient S6). Bien que le lien avec la SLA soit encore peu exploré, ces perturbations pourraient refléter des altérations du métabolisme protéique ou du stress du réticulum endoplasmique, éléments déjà impliqués dans la vulnérabilité des motoneurones.

En résumé, bien qu'aucune voie n'atteigne la significativité après correction, l'analyse des valeurs de p brutes permet de dégager des tendances biologiques, en particulier autour de la réparation de l'ADN, la signalisation NOTCH, la SUMOylation, ainsi que le métabolisme des glycoprotéines.

#### 3.2.2.2 Analyse d'enrichissement fonctionnel avec la base Go biological process 2025

L'analyse d'enrichissement fonctionnel basée sur la base de Go biological process 2025 des gènes porteurs de variants rares et prédits délétères dans les exomes des dix patients n'a pas permis d'identifier de processus biologiques significativement enrichis ( $p_{\text{adjusted}} < 0,05$  après correction par la méthode de Benjamini-Hochberg).

Cependant, certains processus présentent un intérêt biologique notable malgré l'absence de signification statistique corrigée. En particulier, plusieurs d'entre eux se recoupent fonctionnellement avec des voies décrites précédemment, suggérant une convergence indépendante des sources annotatives.

Le terme "regulation of G2/M transition of mitotic cell cycle" (GO:0010389) présente une p-value brute de 0,0081 et un odds ratio de 12,68, indiquant un enrichissement marqué, bien que non significatif après ajustement. Ce processus est en lien direct avec les voies Reactome "G2/M DNA Damage Checkpoint" et "G2/M DNA Replication Checkpoint", toutes deux impliquées dans le contrôle de l'intégrité génomique en phase G2/M du cycle cellulaire. Les gènes impliqués dans le processus "regulation of G2/M transition of mitotic cell cycle" sont *WEE1* (patient S7), *GPR132* (patients S7 et S8) et *RRM1* (patient S5).

De même, le processus "protein glycosylation" (GO:0006486) présente une p-value brute de 0,0125 et un odds ratio de 9,34. Ce processus correspond à la voie Reactome "Diseases Associated with Glycosylation Precursor Biosynthesis", qui regroupe plusieurs désordres liés à des altérations du métabolisme des sucres activés nécessaires à la glycosylation des protéines. Les gènes impliqués dans le processus "protein glycosylation" sont *GALNT12* (patient S2), *DPM1* (patient S4), *GALNT6* (patient S5), *PMM2* (patient S10) et *MOGS* (patient S8).

Enfin, le terme "DNA repair" (GO:0006281), avec une p-value brute de 0,0152 et un odds ratio de 8,77, se superpose avec les voies Reactome "DNA Damage Reversal" et "Reversal of Alkylation Damage by DNA Dioxygenases", suggérant une implication possible des mécanismes de réparation directe de l'ADN. Les gènes impliqués dans le processus "DNA repair" sont *PIAS4* (patient S7), *ALKBH2* (patient S4), *RFC3* (patient S3), *RRM1* (patient S5), *PARP4* (patient S3), *ASCC1* (patient S11), *TRAIP* (patient S2).

Par ailleurs, un ensemble notable de gènes identifiés dans la cohorte est impliqué dans le processus "Protein Modification Process" (GO:0036211), avec une p-value brute de 0,006460 et un odds ratio de 2,67. Ce terme englobe un large éventail de modifications post-traductionnelles, telles que la phosphorylation, la glycosylation, l'ubiquitination ou la méthylation qui jouent un rôle central dans la régulation de l'activité, de la stabilité et de la signalisation des protéines. Parmi les gènes associés à ce processus figurent *PARP4* (patient S3), *PDF* (patient S11), *NEK4* (patient S7), *STK36* (patient S2), *LRRK2* (patient S9), *MAST2* (patient S10), *PMM2* (patient S10), *MATK* (patient S8), *NEK10* (patient S3) et *PPP2R3A* (patient S3).

Un autre processus est également porteur de nombreux gènes porteurs de variants rares et prédits délétères est le "DNA Damage Response" (GO:0006974), associé à une p-value brute de 0,03400 et un odds ratio de 2,38. Ce terme englobe l'ensemble des mécanismes cellulaires activés en réponse à des lésions de l'ADN, incluant la détection du dommage, l'activation de voies de signalisation (checkpoint), ainsi que la réparation des structures altérées. Il s'agit d'un processus fondamental pour le maintien de l'intégrité génomique, particulièrement pertinent dans les cellules post-mitotiques comme les neurones. Parmi les gènes enrichis dans ce processus figurent *RFC3* (patient S3), *RRM1* (patient S5), *PARP4* (patient S3), *NEK4* (patient S7), *TTC5* (patient S9), *METTL3* (patient S6) et *TRAIP* (patient S2). Certains de ces gènes, notamment *PARP4* et *NEK4*, apparaissent également dans d'autres processus liés à la modification des protéines, suggérant de possibles fonctions croisées dans la coordination de la réponse au stress cellulaire.

Bien qu'aucune voie n'atteigne la significativité après correction, l'analyse combinée Reactome et GO suggère des tendances fonctionnelles convergentes chez plusieurs patients, principalement autour de la réparation de l'ADN et de la modification post-traductionnelle des protéines. Bien que les gènes diffèrent d'un patient à l'autre, ce résultat suggère une possible perturbation de mécanismes biologiques partagés, essentiels pour le maintien de l'intégrité cellulaire. L'altération de ces voies peut favoriser l'accumulation de dommages à l'ADN et de protéines mal repliées, des phénomènes connus pour contribuer à la mort neuronale et à la neurodégénérescence. Ces enrichissements, bien que non significatifs après correction, pourraient refléter un fond génétique commun conférant une vulnérabilité aux maladies neurodégénératives, en cohérence avec des mécanismes déjà décrits dans la physiopathologie de la SLA et d'autres maladies neurodégénératives.

## DISCUSSION

L'avènement du séquençage haut débit et, en particulier, du séquençage de l'exome, a permis une avancée significative dans l'exploration des bases génétiques des maladies rares, dont la SLA (54). Dans cette étude, nous avons réalisé une analyse de l'exome de dix patients présentant une forme familiale de SLA, dans l'objectif d'identifier de nouveaux variants potentiellement impliqués dans la pathogénie de la maladie.

L'utilisation de l'exome comme outil dynamique, réévalué périodiquement en fonction des progrès scientifiques, constitue une stratégie prometteuse pour faire évoluer le diagnostic génétique de la SLA. Sur le plan du diagnostic, l'exome permet une exploration de l'ensemble des séquences codantes à la différence des panels ciblés, permettant la découverte de variants dans des gènes moins bien caractérisés ou nouvellement impliqués (55).

La première étape du travail de thèse a été la sélection de nos 10 patients pour le séquençage de leur exome. Le recueil manuel et systématique des données cliniques, généalogiques et moléculaires réalisé à partir du logiciel Dx Lab a permis d'analyser les profils de 981 patients ayant bénéficié d'un panel NGS ciblé de gènes SLA/DFT entre 2019 et 2025. Ce travail a mis en évidence une proportion de formes familiales classiques de SLA/DFT relativement faible (13 %), mais en accord avec les données de la littérature, qui estiment que 5 à 15 % des cas de SLA sont familiaux (190 ; 191). En raison des chevauchements génétiques croissants décrits entre la SLA et d'autres affections neurodégénératives ou neuromusculaires (192 ; 119), il est apparu intéressant pour cette étude d'élargir les critères d'antécédents familiaux au-delà des seules formes de SLA ou de DFT. Ainsi, en considérant comme "forme familiale élargie" toute situation où au moins un apparenté était atteint d'une pathologie neurodégénérative ou d'une affection neuromusculaire, la proportion de cas considérés comme familiaux est passée de 13 % à 28 %. Cette approche trans-nosographique peut être intéressante dans l'évaluation génétique des patients sans variant identifié par panel ciblé car elle permet de cibler des syndromes frontières entre plusieurs troubles neurodégénératifs ou neuromusculaires avec des atteintes des motoneurones. Parmi les antécédents autres que SLA et DFT retrouvés, il a été rapporté majoritairement des apparentés atteints de la maladie d'Alzheimer, de la maladie de Parkinson et de démence non caractérisée. Il est retrouvé donc majoritairement des pathologies neurodégénératives et peu de pathologies neuromusculaires dans les antécédents

familiaux. Toutefois, il convient de rappeler que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson présentent une prévalence plus élevée dans la population générale que les pathologies neuromusculaires (193 – 196).

Ensuite, une partie du travail a consisté à évaluer le rendement diagnostique actuel du séquençage par analyse NGS ciblée des gènes SLA/DFT. À noter que les patients ayant bénéficié de cette analyse sont tous négatifs pour l'étude du gène *C9ORF72*. L'expansion pathologique HRE n'est donc pas incluse dans les résultats présentés ci-après. Chez les patients présentant une forme familiale élargie, 16 patients ont eu un diagnostic génétique positif avec la détection préalable de variants pathogènes ou probablement pathogènes par panel NGS ciblé. La distribution des variants identifiés reflète les gènes les plus souvent impliqués dans les formes héréditaires de SLA non mutées *C9ORF72*, avec notamment les gènes *TARDBP*, *SOD1*, *FUS* et *VCP*, en cohérence avec les études génétiques antérieures (197). Néanmoins, le rendement diagnostique du panel ciblé sur les cas *C9ORF72* négatifs reste limité, puisqu'il ne permet actuellement d'établir un diagnostic moléculaire que chez 6 % des patients SLA présentant une forme familiale élargie. En élargissant l'analyse aux variants de signification incertaine, ce taux atteint 12 % (14 patients supplémentaires), ce qui demeure relativement faible. Enfin, si l'on restreint l'analyse aux formes familiales de SLA et/ou de DFT, la détection d'un variant pathogène ou probablement pathogène ne concerne que 7 % des cas, soulignant la difficulté d'atteindre un diagnostic génétique définitif avec les approches de séquençage ciblé.

Parmi les patients restants, sans variant identifié, seuls trois cas ont pu bénéficier d'une analyse en duo avec un apparenté symptomatique dont l'ADN était disponible au LBMR SLA CHU de Tours. Aucun cas ne permettait une analyse en trio, en raison de l'indisponibilité des ADN parentaux. L'absence d'analyse en trio, souvent due à l'indisponibilité de l'ADN parental dans les pathologies à début adulte comme la SLA, constitue une contrainte bien connue dans les études de l'exome. Cette limitation peut entraver l'interprétation des variants rares, en particulier pour établir leur ségrégation familiale et leur rôle pathogène (171). Toutefois, le développement de plateformes collaboratives internationales et le partage structuré de données génétiques et phénotypiques ont significativement amélioré les capacités d'interprétation, même en l'absence d'analyses familiales classiques. Il existe des initiatives comme le projet MinE (198) permettant de répertorier des variants rares. Il s'agit d'une étude à grande échelle de séquençage du génome qui rassemble les données de milliers de patients SLA du monde entier (environ 8000), dont Tours. L'objectif principal est d'identifier des variants génétiques rares et potentiellement pathogènes, qu'ils soient présents dans des formes familiales ou sporadiques de la maladie. En centralisant et harmonisant ces données, MinE permet de relier

des patients porteurs de variants similaires, une approche dite de "matchmaking", afin de renforcer les preuves de causalité génétique, même lorsque l'ADN parental ou les analyses en trio ne sont pas disponibles. Dans ce contexte, il sera très important de rester intégré dans des réseaux collaboratifs, où l'échange d'expertise, de données cliniques détaillées et de données moléculaires permettra une interprétation collective des variants rares.

Au total, 10 patients ont été sélectionnés pour le séquençage de l'exome, incluant six cas familiaux en duo et quatre cas avec formes familiales mais sans apparentés testés sur le plan génétique. En conclusion, ce travail de sélection met en évidence la faible proportion de cas familiaux pour lesquels une analyse familiale en duo ou trio est réalisable à titre rétrospectif. Elle met également en évidence le faible rendement diagnostique du NGS ciblé, même au sein d'une population présentant des formes familiales de SLA. Ainsi, plus d'une centaine de patients, dont l'ADN est conservé au LBMR SLA de Tours et qui présentent des antécédents familiaux, restent sans diagnostic génétique établi.

Le deuxième axe de ce travail de thèse a été la réalisation du séquençage de l'exome de 10 patients SLA à forme familiale. Sur notre plateau technique hospitalier, ce premier run de séquençage d'exomes a permis à 5 échantillons sur 10 de répondre aux critères d'exigence de rendu en diagnostic clinique (199) sans optimisation préalable du protocole, avec une couverture satisfaisante des gènes classiquement explorés dans le panel NGS ciblé SLA/DFT. Le pipeline bio-informatique est opérationnel, bien qu'il reste souhaitable d'y intégrer l'appel des CNV. Ces résultats confirment la faisabilité technique du séquençage de l'exome au sein de notre LBMR SLA à Tours avec l'équipement dont nous disposons actuellement et est compatible avec un rendu en diagnostic.

Chez les 10 patients étudiés, les séquençages de leurs exomes ont révélé une diversité notable de variants d'intérêt. Il a été détecté des variants d'intérêt chez 7 patients sur dix. Les variants ont été identifiés dans les gènes suivants : *SOD3*, *AQP4*, *GPR132*, *UQCRC1*, *LRRK2*, *SYNE1* et *POLG*. Ce large spectre génétique s'accompagne d'une grande variabilité phénotypique, avec des formes cliniques hétérogènes. Cette hétérogénéité génétique et phénotypique complexifie considérablement la reconnaissance et la classification des cas, d'autant plus que certains patients peuvent présenter des formes atypiques avec notamment la présence possible de signes extra-pyramidaux ou de signes cérébelleux (200). Toutefois, compte tenu de la taille restreinte de l'échantillon, il est difficile de déterminer si les phénotypes observés reflètent la diversité globale des patients atteints de SLA. A noter que les cas familiaux

présentés dans cette étude, avaient le plus souvent des phénotypes proches mais non identiques (par exemple, forme de SLA différentes entre deux apparentés).

Chez les patients étudiés, les gènes porteurs de variants d'intérêt ont des fonctions variées allant de la gestion du stress oxydatif et des altérations mitochondriales à des rôles dans la signalisation cellulaire, le transport membranaire et la structure cellulaire. L'ensemble de ces gènes ne sont à l'heure actuelle pas classiquement associés à la SLA mais retrouvés pour certains chez des patients présentant une SLA comme *SOD3*, *GPR132* et *SYNE1*. Pour d'autres gènes comme *LRRK2*, *UQCRC1* et *POLG*, ils sont déjà impliqués en pathologie humaine dans des maladies neurodégénératives. La présence de variants dans ces gènes suggère que certains patients pourraient présenter des phénotypes s'inscrivant dans des spectres cliniques chevauchants, illustrant les recouvrements possibles entre différentes maladies neurodégénératives, comme Parkinson et SLA ou les polgopathies et la SLA. Un axe d'amélioration sera pour nous une meilleure caractérisation phénotypique des patients, notamment à travers l'utilisation d'outils tel que BaMaRa permettant d'alimenter la BNDMR (Banque Nationale de Données Maladies Rares).

Les variants d'intérêts retrouvés chez nos patients sont tous classés comme variants de signification incertaine, permettant possiblement un rendu aux patients mais ne permettant pas un conseil génétique et notamment la réalisation de tests pré symptomatiques chez les apparentés. Ce résultat était attendu. En effet, le séquençage de l'exome entier, n'est actuellement pas utilisé en France dans le diagnostic génétique de la SLA, ce qui réduit notre connaissance des exomes des patients SLA. La richesse d'informations génétiques générée par l'exome conduit mécaniquement à une forte proportion de variants de signification incertaine, d'autant plus que les études fonctionnelles sont rares. L'intérêt du séquençage de l'exome réside dans sa capacité à identifier de nouveaux variants et gènes candidats, qui nécessiteront initialement des études fonctionnelles pour confirmer leur rôle, tout en constituant un socle de connaissances solide pour les analyses futures. Pour le patient, il permet de générer de nouvelles hypothèses diagnostiques, particulièrement utiles dans un contexte d'errance génétique et parfois clinique.

Bien que les variants détectés soient pour l'instant classés comme de signification incertaine, leur contexte biologique, leur lien avec des mécanismes neuronaux clés dans la SLA et la neurodégénérescence, suggèrent pour certains qu'ils pourraient représenter de nouveaux gènes candidats impliqués dans la SLA ou dans des phénotypes SLA-like.

Notre étude illustre ainsi que le séquençage de l'exome entier, même chez des patients sans variants retrouvés dans les gènes classiques de la SLA, est un outil puissant pour révéler de nouveaux candidats génétiques, bien avant de recourir à des technologies plus coûteuses comme le séquençage du génome entier. Toutefois, notre groupe de patients étant restreint, il convient de poursuivre le séquençage de l'exome à d'autres patients du LBMR SLA présentant un diagnostic génétique non conclusif.

Au vu des résultats de notre étude, plusieurs recommandations se dégagent afin d'optimiser l'utilisation du séquençage de l'exome chez des patients présentant une SLA ou des atteintes des motoneurones. Le séquençage de l'exome des apparentés malades présentant des phénotypes cliniques proches est vivement recommandé, car il permet d'affiner la recherche de variants partagés potentiellement pathogènes. Cependant, cette démarche peut s'avérer complexe en raison du décès prématuré des apparentés ou de la survenue tardive de la maladie chez les plus jeunes membres, limitant ainsi la disponibilité de données comparatives. Ainsi, le recours à l'étude de l'exome en solo sera probablement fréquent mais ne doit pas être un frein au déploiement de l'exome dans la SLA grâce aux possibilités de travail collaboratif sur le plan international. Il est également crucial de ne pas restreindre l'analyse aux variants partagés en duo ou en famille, mais de porter une attention particulière aux variants rares et prédits délétères identifiés chez des individus, qui peuvent représenter des éléments clés pour le diagnostic ou la compréhension des mécanismes sous-jacents d'autant plus si les traits phénotypiques divergent. L'apport du séquençage de l'exome est particulièrement notable dans les cas de phénotypes cliniques complexes, qu'ils soient familiaux ou sporadiques, car il offre la possibilité de reclasser les patients dans un cadre nosologique plus approprié. Par ailleurs, la coexistence de différentes pathologies neurodégénératives au sein d'une même famille souligne la nécessité d'une approche large et ouverte. L'exome, par sa nature non ciblée, constitue un atout majeur en permettant une analyse exhaustive et sans a priori, bien que cela rende l'interprétation plus complexe, nécessitant une expertise approfondie tant sur le plan biologique, pour comprendre les voies moléculaires et les cibles potentielles, que sur le plan clinique, avec une connaissance fine des traits phénotypiques. Cette approche dynamique permet également de revisiter les données génétiques à la lumière de l'évolution clinique ou après le décès du patient. De plus, l'étude de ces variants rares peut conduire à la découverte de nouvelles voies biologiques impliquées dans la pathogénie de la SLA ou plus largement d'atteintes du motoneurone, ouvrant des perspectives pour un approfondissement des mécanismes sous-jacents et une stratification plus fine des malades. L'étude moléculaire pourrait servir de biomarqueur. La corrélation génotype/phénotype demeure un axe de recherche essentiel à poursuivre ; une discussion

clinico-biologique régulière entre généticiens, neurologues et biologistes est indispensable pour optimiser l'interprétation des données et orienter les investigations futures.

Au total, une évolution de la stratégie diagnostique dans notre laboratoire de référence sur la SLA pourrait consister à proposer un séquençage d'exome en première intention chez les patients présentant une SLA familiale et dont l'analyse du gène *C9ORF72* est négative. Cette approche permet, d'une part, d'explorer l'ensemble des gènes actuellement connus comme causaux dans la SLA au moyen d'un "panel *in silico*", et, d'autre part, de conserver les données de l'exome en vue d'une réanalyse ultérieure. Celle-ci peut s'avérer pertinente soit à la lumière de nouvelles connaissances (identification de nouveaux gènes ou variants pathogènes impliqués dans la maladie), soit lors de la survenue d'un nouveau cas dans la famille, rendant alors possible une analyse en duo ou en trio.

En dépit de ses apports indéniables, le séquençage de l'exome présente certaines limites. En effet, l'exome ne couvre que les régions codantes du génome, laissant de côté les régions non codantes, y compris les éléments régulateurs, une partie des introns, et les régions intergéniques. Des techniques complémentaires tel que le RNAseq pourrait s'avérer précieuses mais nécessite tout de même au préalable un séquençage de l'ADN génomique pour une meilleure interprétation. Le développement de modèles expérimentaux, tels que des systèmes *in vitro* dérivés de cellules souches pluripotentes induites, permet d'évaluer fonctionnellement l'impact de ces variants, offrant ainsi une validation biologique nécessaire à leur interprétation (201 ; 202). Enfin, la complexité des interactions génétiques, les facteurs environnementaux et la pénétrance incomplète de nombreux variants compliquent encore davantage la compréhension de la SLA, nécessitant de combiner différentes approches (génomique, transcriptomique et fonctionnel).

Le troisième axe de notre travail a concerné la réalisation d'analyse d'enrichissement fonctionnel des gènes porteurs de variants rares et prédits délétères chez nos patients. A titre individuel, de nouvelles pistes intéressantes ont été révélées chez certains patients. Par exemple, chez la patiente S2, l'enrichissement significatif de la voie "activation of Na-permeable kainate receptors", impliquant le gène *GRIK1*, suggère une implication possible des récepteurs ionotropiques du glutamate. Ces récepteurs, déjà associés à l'excitotoxicité dans la SLA et dans la maladie de Parkinson (203 ; 204), pourraient contribuer à des dérèglements calciques. La voie peroxysomale "TYSND1 cleaves peroxisomal proteins", impliquant *ACAA1*, pourrait refléter une atteinte métabolique encore peu explorée dans la SLA. Le patient S3 présente un enrichissement du processus "Regulation of Macromolecule Metabolic Process" impliquant

*KIF16B* et *CNDP1*, deux gènes liés respectivement au transport vésiculaire et au métabolisme peptidique. Bien que les gènes impliqués interviennent dans des contextes cellulaires distincts (peroxysomes pour *ACAA1*, cytoplasme pour *CNDP1*), ils convergent fonctionnellement vers des déséquilibres métaboliques et protéiques (205). Ce point commun pourrait refléter une signature pathogène partagée entre les patients S2 et S3 fondée sur une perturbation de la protéostase et du stress métabolique neuronal. Mais la présence du variant d'intérêt dans le gène *SOD3* pour le patient S3 pourrait expliquer le phénotype clinique différent entre ces deux individus. Chez le patient S6, l'enrichissement de deux voies liées à l'homéostasie hydrique, impliquant notamment *WFS1* et *AQP4*, soutient l'intérêt du variant identifié dans *AQP4*. Il est par ailleurs possible qu'un nouveau variant délétère influence également cette même voie, suggérant une perturbation fonctionnelle potentiellement convergente dans le contrôle de l'équilibre hydrique.

Les tests d'enrichissement fonctionnel à titre individuel présentent plusieurs limites. Ils reposent sur des annotations issues de bases de données telles que GO ou Reactome, qui peuvent être incomplètes ou discordantes, ce qui peut entraîner des résultats contradictoires selon la source utilisée. Par ailleurs, une surreprésentation statistique peut être observée simplement parce qu'un gène appartient à une petite voie métabolique ou est très étudié, sans que cela reflète nécessairement une perturbation biologique réelle. Ces analyses ne tiennent pas compte du contexte cellulaire ou tissulaire, et leur puissance statistique peut être limitée en cas de liste réduite de gènes. De plus, la liste des gènes rares et potentiellement délétères est définie a priori par le professionnel, introduisant un biais subjectif. En somme, l'enrichissement fonctionnel constitue un outil très intéressant, apportant un argument supplémentaire dans l'interprétation des variants et offrant une possibilité d'approche de modèles génétiques complexes, mais ne peut être considéré comme une preuve absolue de leur implication fonctionnelle.

A l'échelle de la cohorte, bien que les résultats n'aient pas atteint la significativité statistique, l'analyse d'enrichissement fonctionnel des variants rares et délétères des 10 patients a permis de faire émerger des tendances biologiques. A noter que ces tendances biologiques sont différentes de celles observées à titre individuel. Les voies liées à la réparation de l'ADN (DNA Damage Reversal, Reversal of Alkylation Damage by DNA Dioxygenases) présentent des p-values brutes très faibles et des odds ratios élevés, impliquant des gènes tels que *ASCC1* et *ALKBH2*. Ce signal est renforcé par l'enrichissement parallèle du terme GO DNA Repair, impliquant un ensemble élargi de gènes (*PIAS4*, *ALKBH2*, *RFC3*, *RRM1*, *PARP4*, *ASCC1*, *TRAIP*) et retrouvé chez 6 des 10 patients.

Un autre processus biologique particulièrement intéressant est celui des modifications post-traductionnelles des protéines, regroupé sous le terme ontologique "protein modification process". Il implique des variants retrouvés chez 7 des 10 patients de l'étude. Il constitue ainsi le processus biologique le plus partagé par les patients dans l'analyse. Ce groupe fonctionnel inclut des mécanismes tels que la phosphorylation, la glycosylation, l'ubiquitination, la sumoylation et la méthylation, qui jouent un rôle crucial dans la régulation fine de l'activité, de la stabilité, du transport et de l'agrégation des protéines. Ce signal est d'autant plus pertinent dans le contexte de la SLA que plusieurs protéines clés impliquées dans sa physiopathologie, telles que TDP-43, FUS ou SOD1, subissent des modifications post-traductionnelles altérées. Par exemple, la phosphorylation et l'ubiquitination aberrantes de TDP-43 sont caractéristiques de ses agrégats cytoplasmiques retrouvés dans la grande majorité des cas de SLA (206). L'observation de variants dans ce processus chez une majorité des patients permet d'émettre l'hypothèse selon laquelle des anomalies dans la régulation post-traductionnelle des protéines pourraient constituer un mécanisme transversal commun, indépendamment des gènes classiquement impliqués dans la SLA. Ces résultats suggèrent que le séquençage de l'exome peut révéler des signatures biologiques communes à fort potentiel mécanistique et constituer des cibles thérapeutiques. Cela suggère également que ces perturbations pourraient être d'origine constitutionnelle, et non uniquement secondaires à la dégénérescence. Il pourrait s'agir d'un fond génétique prédisposant à l'apparition de maladie neurodégénérative. Ces résultats sont à confirmer et à approfondir sur des groupes plus grands de patients, ce qui pourrait permettre d'atteindre la significativité statistique. Dans la littérature, Chesi et al. (2013) (53) ont réalisé une analyse d'enrichissement fonctionnel des gènes porteurs de variants de novo chez 47 patients atteints de SLA sporadique et 50 témoins. Ils ont observé un enrichissement significatif de la voie « chromatin regulator genes » dans le groupe SLA, suggérant que des altérations des mécanismes régulateurs génomiques pourraient intervenir dans la physiopathologie de la maladie. Bien que leur analyse montre une convergence vers la régulation chromatinienne et la transcription, et que notre analyse mette plutôt en évidence des perturbations dans la réparation de l'ADN et les modifications post-traductionnelles des protéines, ces observations convergent vers l'idée d'anomalies biologiques transversales dans des groupes de patients (ici formes sporadiques SLA). A noter que cette étude date de 2013 et donc l'annotation des voies biologiques et processus biologiques étaient différentes qu'à l'heure actuelle.

Collectivement, les résultats de nos analyses d'enrichissement fonctionnel illustrent l'utilité du séquençage de l'exome entier dans l'identification de signatures fonctionnelles rares

et individuelles mais aussi de voies impliquées à l'échelle de la cohorte avec une attention toute particulière pour le processus des modifications post-traductionnelles des protéines et la réparation de l'ADN. L'enrichissement fonctionnel, bien qu'à interpréter avec prudence en raison de la taille réduite de notre groupe de patients, apparaît ici comme un outil puissant de valorisation de variants rares mais aussi permettant de générer des hypothèses physiopathologiques.

Nos résultats font émettre l'hypothèse d'une architecture génétique complexe dans la SLA, où un « fond génétique » composé de multiples variants rares affectant des processus biologiques clés, notamment la modification post traductionnelle des protéines et la réparation de l'ADN, pourrait interagir avec des variants plus fortement délétères détectés par approche diagnostique conventionnelle. Ceci renforce la pertinence des analyses plus globale de groupes de variants pour élucider la complexité génétique de la maladie et ouvrir de nouvelles pistes thérapeutiques ciblant ces processus. Ces résultats sont à confirmer par l'étude d'une plus grosse cohorte mais d'autres articles questionnent également cette complexité génétique (207).

Pour résumé, notre étude, bien que basée sur un groupe restreint de patients, met en évidence la richesse des données générées par l'exome et l'intérêt de leur valorisation dans une double perspective : clinique et exploratoire et ainsi permettre l'émergence de nouvelles thérapeutiques.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse illustre la pertinence croissante du séquençage de l'exome dans le cadre du diagnostic génétique de la SLA. Le séquençage de l'exome, par sa capacité à explorer de manière non biaisée l'ensemble des gènes codants des protéines, permet de dépasser les limites des analyses focalisées sur quelques gènes majoritairement impliqués. Elle s'avère particulièrement pertinente dans les contextes cliniques atypiques, mais également dans les formes familiales avec coexistence de troubles neurodégénératifs variés.

L'inclusion finale de dix patients dans notre étude, bien que limité par des contraintes techniques, a permis de détecter des variants d'intérêt chez 7 patients sur dix. Les variants ont été identifiés dans les gènes suivants : *SOD3*, *AQP4*, *GPR132*, *UQCRC1*, *LRRK2*, *SYNE1* et *POLG*. Ces variants sont actuellement classés de signification incertaine, mais pourraient faire l'objet de reclassements futurs à l'issue d'études fonctionnelles.

L'analyse d'enrichissement fonctionnel conduite parallèlement a permis de détecter des voies enrichies à titre individuel, mais aussi des tendances de voies potentiellement enrichies à l'échelle du groupe. Parmi celles-ci, le processus des modifications post-traductionnelles des protéines émerge comme un signal transversal fort entre différents patients, en lien avec les anomalies connues dans la SLA (agrégats de protéines TDP-43). Nos résultats sont compatibles avec l'hypothèse d'un cadre génétique complexe dans la SLA, caractérisé par la coexistence de variants rares et délétères affectant des fonctions biologiques à la fois partagées et spécifiques.

En conclusion, ce travail soutient l'intégration du séquençage de l'exome dans la stratégie diagnostique des formes familiales de SLA en permettant la découverte de nouveaux variants d'intérêt. Il ouvre également des perspectives nouvelles pour la compréhension des mécanismes moléculaires sous-jacents et, à terme, le développement de thérapies ciblées ou communes à des sous-groupes de patients.

À la lumière de ces résultats, plusieurs perspectives se dessinent. Tout d'abord, l'intégration du séquençage de l'exome dans le parcours diagnostique des patients atteints de SLA familiale pourrait permettre une amélioration du rendement diagnostique. Cette démarche devra s'accompagner d'un enrichissement des bases de données cliniques et génétiques

nationales, favorisant une annotation plus fine des phénotypes et des variants et améliorant notre expertise dans le diagnostic génétique de la SLA.

Par ailleurs, la confirmation in vitro du rôle de nos gènes et variants candidats via la réalisation d'études fonctionnelles, notamment transcriptomiques, pourrait affiner l'interprétation de ces variants rares, et ainsi les valider en tant que nouveaux gènes impliqués et/ou en tant que biomarqueurs (diagnostiques, pronostiques ou thérapeutiques). Les études des exomes des patients SLA pourraient jouer un rôle clé dans la définition et la précision des entités nosologiques actuelles, en se basant sur des critères moléculaires. Ainsi, le diagnostic pourrait s'appuyer en partie sur l'identification de signatures génétiques spécifiques. L'étude des interactions géniques représente également un axe prometteur, notamment à travers des approches d'intelligence artificielle et de modélisation intégrée. Enfin, le renforcement des collaborations internationales et la participation active à des initiatives de partage de données (comme le projet MinE) seront essentiels.

## ANNEXES

**Annexe 1 :** Revue de la littérature et des bases de données OMIM et ClinVar concernant des gènes retrouvés avec variants d'intérêt (classe 3, 4 et 5) chez des patients dont le phénotype associé est SLA et/ou DFT

| Gène           | Protéine codée                                                                 | Fonction protéine                                                                                         | Types de variants                                                                                   | Phénotype clinique associé OMIM, ClinVar, littérature                                                       | Localisation protéine (The Human protein Atlas) |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| <b>C9ORF72</b> | Chromosome 9 Open Reading Frame 72                                             | Régulation du transport endosomal (interactions avec les protéines Rab)                                   | Expansion de répétitions G4C2, variants introniques et exoniques ponctuels                          | Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 1                                              | Cytoplasme                                      |
| <b>SOD1</b>    | Superoxyde dismutase 1                                                         | Conversion des radicaux superoxydes                                                                       | Duplication<br>Variants ponctuels (faux sens, non coding transcrit, variant intronique)             | Amyotrophic lateral sclerosis 1<br>Spastic tetraplegia and axial hypotonia, progressive                     | Nucléoplasme et cytoplasme                      |
| <b>FUS</b>     | FUS RNA binding protein                                                        | Régulation de la transcription, réparation de l'ADN                                                       | Délétion, duplication, Variants ponctuels (faux sens, non sens, donneur d'épissage), Microsatellite | Amyotrophic lateral sclerosis 6, with or without frontotemporal dementia<br>Essential tremor, hereditary, 4 | Nucléoplasme                                    |
| <b>TARDBP</b>  | TDP-43 (TAR DNA-binding protein 43)                                            | Régulation des ARN et de la transcription de l'ADN                                                        | Variants ponctuels (faux sens)                                                                      | Amyotrophic lateral sclerosis 10, with or without FTD                                                       | Nucléoplasme                                    |
| <b>VCP</b>     | Valosin containing protein ou TERA (transitional endoplasmic reticulum ATPase) | Hydrolase (dégradation des protéines, réparation et réplication de l'ADN, régulation du cycle cellulaire) | Variants ponctuels (faux sens)                                                                      | Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 6                                              | Nucléoplasme et cytoplasme                      |

|                |                                                          |                                                                                      |                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                               |                           |
|----------------|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
|                |                                                          | et activation de la voie NF-kappa B)                                                 |                                                                                                                                     | Maladie de Charcot-Marie-Tooth type 2Y<br><br>Inclusion body myopathy with early-onset Paget disease and frontotemporal dementia 1                                            |                           |
| <b>ERLIN2</b>  | ER lipid raft associated 2                               | Rôle dans signalisation de l'inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3)                      | Délétion, duplication, Insertion, Insertion-Délétion<br><br>Variants ponctuels (faux sens, donneur d'épissage)                      | Amyotrophic lateral sclerosis ( <i>Amador et al, 2019</i> )<br><br>Spastic paraplegia 18A et 18B                                                                              | Cytoplasme (RE)           |
| <b>CHCHD10</b> | Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 10 | Protéine mitochondriale (rôle dans la morphologie et la fonction de la mitochondrie) | Insertion/Délétion<br><br>Variants ponctuels (faux sens)                                                                            | Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 2<br><br>Spinal muscular atrophy, Jokela<br><br>Myopathy, isolated mitochondrial, autosomal dominant             | Cytoplasme (mitochondrie) |
| <b>HNRNPA1</b> | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1               | Régulation transport et épissage ARNm                                                | Délétion / Insertion-Délétion<br><br>Variants ponctuels (faux sens)                                                                 | Amyotrophic lateral sclerosis 20<br><br>Inclusion body myopathy with early-onset Paget disease without frontotemporal dementia 3<br><br>Myopathy, distal, 3                   | Nucléoplasme              |
| <b>TBK1</b>    | TANK binding kinase 1                                    | Sérine/thréonine kinase (défense antivirale et immunité)                             | Duplication, Insertion/Délétion, Délétion<br><br>Variants ponctuels (non sens, faux sens, donneur d'épissage)<br><br>Microsatellite | Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 4<br><br>Autoinflammation with arthritis and vasculitis<br><br>Encephalopathy, acute, infection-induced (herpes- | Nucléoplasme et vésicule  |

|              |                                    |                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                      |                               |
|--------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
|              |                                    |                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                      | specific),<br>susceptibility to                                                                                                                                                                                                      |                               |
| <b>KIF5A</b> | Kinesin family<br>member 5A        | Transport axonal de<br>protéines                                                                                          | Délétion, Insertion,<br>Insertion-Délétion<br><br>Variants ponctuels<br>(sites épissages en<br>domaine C-ter, faux<br>sens, non sens,<br>variant intronique),<br>microsatellite                      | Amyotrophic lateral<br>sclerosis,<br>susceptibility to, 25<br><br>Myoclonus,<br>intractable, neonatal<br><br>Spastic paraplegia<br>10, autosomal<br>dominant<br><br>Maladie Charcot<br>Marie Tooth<br>( <i>Brenner et al, 2018</i> ) | Nucléoplasme et<br>cytoplasme |
| <b>NEK1</b>  | NIMA related<br>kinase 1           | Kinase (réparation<br>ADN, cycle<br>cellulaire, méiose)                                                                   | Délétion, Insertion,<br>Duplication<br><br>Variants ponctuels<br>(faux sens, non<br>sens, variant<br>intronique, donneur<br>site épissage, non<br>coding transcrit<br>variant)<br><br>Microsatellite | Amyotrophic<br>lateral sclerosis,<br>susceptibility to, 24<br><br>Short-rib thoracic<br>dysplasia 6 with or<br>without polydactyly<br><br>Orofaciodigital<br>syndrome II                                                             | Nucléoplasme et<br>cytoplasme |
| <b>VAPB</b>  | VAMP associated<br>protein B and C | Participe à la<br>réponse UPR,<br>homéostasie du<br>calcium<br>intracellulaire                                            | Mutations ponctuels<br>(faux sens)                                                                                                                                                                   | Amyotrophic lateral<br>sclerosis 8<br><br>Spinal muscular<br>atrophy, late-onset,<br>Finkel type                                                                                                                                     | Cytoplasme (RE)               |
| <b>OPTN</b>  | Optineurin                         | Maintien de<br>l'appareil de Golgi,<br>rôle dans exocytose,<br>transport<br>membranaire<br>(immunité inné,<br>autophagie) | Insertion, Délétion,<br>Duplication<br><br>Mutations ponctuels<br>(non sens, faux<br>sens, donneur de<br>site d'épissage)<br><br>Microsatellite                                                      | Amyotrophic lateral<br>sclerosis 12 with or<br>without<br>frontotemporal<br>dementia<br><br>Glaucoma 1, open<br>angle, E<br><br>Glaucoma, normal<br>tension,<br>susceptibility to                                                    | Cytoplasme                    |

|               |                                                   |                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                          |                                                                                                                                          |                                      |
|---------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>UBQLN2</b> | Ubiquilin 2                                       | Régulation dégradation des protéines (autophagie, UPS, ERAD)                                                                                                          | Mutations ponctuels (faux sens)                                                                                                          | Amyotrophic lateral sclerosis 15, with or without frontotemporal dementia                                                                | Cytoplasme et membrane cytoplasmique |
| <b>PFN1</b>   | Profilin 1                                        | Se lie à l'actine et affecte la structure du cytosquelette                                                                                                            | Duplication<br>Mutations ponctuels (3 prime UTR variant, faux sens)                                                                      | Amyotrophic lateral sclerosis 18                                                                                                         | Cytoplasme                           |
| <b>ANXA11</b> | Annexin A11                                       | Impliqué dans le cycle cellulaire                                                                                                                                     | Insertion-délétion<br>Mutations ponctuels (faux sens)                                                                                    | Amyotrophic lateral sclerosis 23<br><br>Inclusion body myopathy and brain white matter abnormalities<br><br>Supranuclear palsy           | Nucléoplasme et cytoplasme           |
| <b>DNAJC7</b> | DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C7  | Molécule chaperone (régule les chaperons moléculaires HSP70 et HSP90)                                                                                                 | CNV                                                                                                                                      | Amyotrophic lateral sclerosis (clinvar 1 Vous ; <i>Fahran et al, 2019 ; He et al, 2021 ; Libonati et al, 2024</i> )                      | Nucléoplasme et cytoplasme           |
| <b>ALS2</b>   | Alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2 | Régulateur de GTPase. Contrôle la survie et la croissance des motoneurons spinaux                                                                                     | Insertion-Délétion, Délétion, Duplication<br>Mutations ponctuels (non sens, faux sens, donneur de site d'épissage)<br><br>Microsatellite | Amyotrophic lateral sclerosis 2, juvenile<br><br>Primary lateral sclerosis, juvenile<br><br>Spastic paralysis, infantile onset ascending | Cytoplasme (vésicule)                |
| <b>TREM2</b>  | Triggering receptor expressed on myeloid cells 2  | Forme un complexe récepteur de signalisation avec TYROBP, qui assure la médiation de la signalisation et l'activation cellulaire (ligand : protéine bêta amyloïde 42, | Délétion<br><br>Variant ponctuel (faux sens, splice acceptor variant, splice donor variant, variant intronique, non sens)                | Alzheimer disease 17, susceptibility to<br><br>Polycystic lipomembranous osteodysplasia with sclerosing leukoencephalopathy 2            | Vésicules                            |

|                |                                           |                                                                                                            |                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                     |                                   |
|----------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
|                |                                           | lipoprotéines, phospholipides), rôle dans l'inflammation et l'immunité                                     |                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                     |                                   |
| <b>SETX</b>    | Senataxin                                 | Hélicase (transcription ADN, réparation ADN, métabolisme ARN, croissance neurites cellules hippocampiques) | Duplication, délétion<br>Variants ponctuels (faux sens, variant épissage, non sens<br>Microsatellite                                                | Amyotrophic lateral sclerosis 4, juvenile<br><br>DFT ( <i>Tabuas-Pereira, 2022</i> )<br><br>Spinocerebellar ataxia, autosomal recessive, with axonal neuropathy 2                   | Nucléoplasme et cytoplasme        |
| <b>ANG</b>     | Angiogenin                                | Ribonucléase (angiogénèse, réponse au stress)                                                              | Mutations ponctuels (faux sens, non coding transcrit variant)<br><br>Retrouvé toujours en association avec <i>EGILA</i> en cas de SLA               | Amyotrophic lateral sclerosis 9                                                                                                                                                     | Nucléole<br><br>Filament d'actine |
| <b>FIG4</b>    | FIG4 phosphoinositide 5-phosphatase       | Activité phosphoinositide phosphatase                                                                      | Duplication, Délétion, inversion, insertion<br><br>Variants ponctuels (faux sens, splice acceptor variant, donneur, non sens)<br><br>Microsatellite | Amyotrophic lateral sclerosis 11<br><br>Charcot-Marie-Tooth disease, type 4J<br><br>Yunis-Varon syndrome<br><br>Polymicrogyria, bilateral temporooccipital                          | Cytoplasme                        |
| <b>SIGMAR1</b> | Sigma non-opioid intracellular receptor 1 | Récepteur (rôle dans système endocrinien, immunitaire, système nerveux)                                    | Délétion, Duplication<br><br>Variants ponctuels (faux sens, non sens, intronique)<br><br>Microsatellite                                             | Amyotrophic lateral sclerosis 16, juvenile<br><br>Neuronopathy, distal hereditary motor, autosomal recessive 2<br><br>LS-Parkinson's disease (PD) complex ( <i>Li et al, 2023</i> ) | Cytoplasme                        |

|               |                                        |                                                                                |                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                             |                                             |
|---------------|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| <b>CHMP2B</b> | Charged multivesicular body protein 2B | Protéine de transport endosomal                                                | Variants ponctuels (faux sens, non sens, splice acceptor variant)                                                                                                           | Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 7                                                                                                                                                              | Cytoplasme                                  |
| <b>SQSTM1</b> | Sequestosome 1                         | Autophagie, différenciation cellulaire, apoptose, immunité                     | Duplication, Indel, Insertion, délétion<br><br>Variants ponctuels (faux sens, non sens intronique, splice acceptor et donnor variant, 5' UTR variant)<br><br>Microsatellite | Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 3<br><br>Myopathy, distal, with rimmed vacuoles<br><br>Neurodegeneration with ataxia, dystonia, and gaze palsy, childhood-onset<br><br>Paget disease of bone 3 | Cytoplasme (vésicules)                      |
| <b>DAO</b>    | D-amino acid oxidase                   | Oxydoréductase (agit sur neuromodulateurs D-sérine notamment)                  | CNV                                                                                                                                                                         | Amyotrophic Lateral Sclerosis (3 Vous dans ClinVar)                                                                                                                                                                         | Non répertoriée sur the Human protein atlas |
| <b>DCTN1</b>  | Dynactin subunit 1                     | Cycle cellulaire, mitose (transport le long des microtubules)                  | Duplication<br><br>Variants ponctuels (faux sens, splice donnor variant)                                                                                                    | Amyotrophic lateral sclerosis<br><br>Neuronopathy, distal hereditary motor, autosomal dominant 14<br><br>Perry syndrome                                                                                                     | Microtubules                                |
| <b>MATR3</b>  | Matrin 3                               | Régulation transcription, ARN défectueux, régulation réponse immunitaire innée | Variant ponctuel (faux sens)                                                                                                                                                | Amyotrophic lateral sclerosis 21<br><br>Joue un rôle avec TDP-43                                                                                                                                                            | Nucléoplasme                                |
| <b>TUBA4A</b> | Tubulin alpha 4a                       | Constituant principal des microtubules, activité GTPase                        | Duplication, Délétion<br><br>Variant ponctuel (faux sens)                                                                                                                   | Amyotrophic lateral sclerosis 22 with or without frontotemporal dementia                                                                                                                                                    | Microtubules                                |

|               |                                                       |                                                                                                          |                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                      |                                        |
|---------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
|               |                                                       |                                                                                                          | Microsatellite                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                      |                                        |
| <b>CCNF</b>   | Cyclin F                                              | Cycle cellulaire, mitose, protéasome                                                                     | Variant ponctuel (faux sens, 5' UTR variant)                                                                                                            | Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 5                                                                                                                                                       | Centrosome                             |
| <b>TIA1</b>   | TIA1 cytotoxic granule associated RNA binding protein | Protéine de liaison à l'ARN (régulation épissage, traduction)                                            | Variants ponctuels                                                                                                                                      | Amyotrophic lateral sclerosis 26 with or without frontotemporal dementia<br><br>Welander distal myopathy                                                                                                             | Nucléoplasme et cytoplasme             |
| <b>GLT8D1</b> | Glycosyltransferase 8 domain containing 1             | Glycosyltransférase (fonction précise non déterminée)                                                    | Délétion<br><br>Variant ponctuel (faux sens)<br><br>Frameshift variant                                                                                  | Frontotemporal dementia (1 classé likely patho ClinVar, <i>Tabuas-Pereira et al, 2022</i> )<br><br>Amyotrophic lateral sclerosis (1 variant classé Vous ClinVar, <i>Cao et al, 2021 ; Cooper Knock et al, 2019</i> ) | Appareil de Golgi et centrosome        |
| <b>CYLD</b>   | CYLD lysine 63 deubiquitinase                         | Déubiquitinase (survie, prolifération, différenciation cellulaire, immunité)                             | Délétion, Duplication<br><br>Variants ponctuels (nons sens, faux sens, intronique, splice donor variant, splice acceptor variant)<br><br>Microsatellite | Frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis 8 ?<br><br>Brooke-Spiegler syndrome<br><br>Cylindromatosis, familial<br><br>Trichoepithelioma, multiple familial, 1                                     | Nucléoplasme et satellite centriolaire |
| <b>SPG11</b>  | SPG11 vesicle trafficking associated, spatacsin       | Rôle dans la plasticité des neurites (stabilité du cytosquelette et transport des vésicules synaptiques) | Délétion, Indel, Duplication, Insertion<br><br>Variants ponctuels (non sens, faux sens, splice acceptor variant, splice                                 | Amyotrophic lateral sclerosis 5, juvenile<br><br>Charcot-Marie-Tooth disease, axonal, type 2X                                                                                                                        | Cytoplasme, membrane externe, nucléole |

|               |                                                      |                                                                                                                            |                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                        |                                                   |
|---------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|               |                                                      |                                                                                                                            | donnor variant,<br>intronique)<br><br>Microsatellite                                                                                                          | Spastic paraplegia<br>11, autosomal<br>recessive                                                                                                                                                                       |                                                   |
| <b>NEFH</b>   | Neurofilament<br>heavy chain                         | Maintien forme<br>neurones en<br>association avec<br>NEFM et NEFL                                                          | Délétion,<br>Duplication<br><br>Variants ponctuels<br>(non sens, splice<br>donnor variant)                                                                    | Amyotrophic lateral<br>sclerosis,<br>susceptibility to<br><br>Charcot-Marie-<br>Tooth disease,<br>axonal, type 2CC                                                                                                     | Non répertoriée sur<br>the Human protein<br>atlas |
| <b>PRPH</b>   | Peripherin                                           | Protéine de filament<br>intermédiaire<br>neuronal                                                                          | Variant ponctuel<br>(non coding<br>transcrit variant)                                                                                                         | Amyotrophic lateral<br>sclerosis,<br>susceptibility to                                                                                                                                                                 | Non répertoriée sur<br>the Human protein<br>atlas |
| <b>PNPLA6</b> | Patatin like<br>phospholipase<br>domain containing 6 | Hydrolase<br>(hydrolyse de<br>plusieurs lipides<br>membranaire,<br>désacyle la<br>phosphatidylcholine<br>intracellulaire)  | Duplication,<br>Délétion, Insertion<br><br>Variants ponctuels<br>(faux sens, non<br>sens, splice donnor<br>variant, acceptor<br>variant<br><br>Microsatellite | Amyotrophic<br>Lateral Sclerosis (2<br>VOUS ClinVar)<br><br>Laurence-Moon<br>syndrome<br><br>Boucher-Neuhauser<br>syndrome<br><br>Oliver-McFarlane<br>syndrome<br><br>Spastic paraplegia<br>39, autosomal<br>recessive | RE et cytoplasme                                  |
| <b>ELP3</b>   | Elongator<br>acetyltransferase<br>complex subunit 3  | Sous-unité<br>catalytique de<br>l'acétyltransférase<br>de l'ARNt du<br>complexe<br>élongateur, rôle<br>dans la neurogénèse | CNV<br><br>Variant ponctuel<br>(faux sens)                                                                                                                    | Amyotrophic lateral<br>sclerosis (1 classé<br>VOUS sur ClinVar)                                                                                                                                                        | Cytoplasme                                        |
| <b>EWSR1</b>  | EWS<br>RNA binding<br>protein 1                      | Régulateur<br>transcriptionnel                                                                                             | CNV<br><br>Variant ponctuel<br>(faux sens)                                                                                                                    | Amyotrophic lateral<br>sclerosis (1 classé<br>VOUS sur<br>CLINVAR)<br><br>Neuroepithelioma<br><br>Ewing sarcoma                                                                                                        | Nucléoplasme et<br>nucléole                       |

|                          |                                           |                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                  |                                             |
|--------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| <b>ERBB4</b>             | Erb-b2 receptor tyrosine kinase 4         | Protéine membranaire (mitogénèse, différenciation, apoptose)                                                                                       | Duplication, Délétion<br>Variants ponctuels (faux sens<br>Microsatellite                                                                                            | Amyotrophic lateral sclerosis 19                                                                                                                                                                                 | Non répertoriée sur the Human protein atlas |
| <b>MAPT</b>              | Microtubule associated protein tau        | Assemblage et stabilité des microtubules (polarité neuronale)                                                                                      | Variant ponctuel (faux sens, intronique, synonyme)                                                                                                                  | Amyotrophic lateral sclerosis<br>Parkinson disease, susceptibility to<br>Frontotemporal dementia 1, with or without parkinsonism<br>Pick disease<br>Supranuclear palsy, progressive                              | Membrane cytoplasmique et Nuclear Speckles  |
| <b>GRN</b>               | Granulin precursor                        | Cytokine<br>Régulateur de la fonction lysosomale (inflammation, cicatrisation, prolifération fibroblastes, survie neuronale et croissance axonale) | Duplication, délétion, insertion<br>Variants ponctuels (splice donor variant, non sens, splice acceptor variant, intronique, faux sens, synonyme)<br>Microsatellite | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br>Aphasia, primary progressive<br>Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 11<br>Frontotemporal dementia 2                                                                                | Lysosomes et endosomes                      |
| <b>C21ORF2 (CFAP410)</b> | Cilia and flagella associated protein 410 | Régulation organisation cytosquelette, morphologie cellulaire, réparation dommages liés à ADN                                                      | Délétion, Duplication, Indel, Insertion<br>Mutations ponctuels (non sens, splice acceptor variant, splice donor variant, faux sens, intronique)<br>Microsatellite   | Amyotrophic lateral sclerosis (1 variant classé VOUS sur ClinVar mais classé bénin dans article <i>Scaber et al, 2023</i> )<br>Retinal dystrophy with macular staphyloma<br>Spondylometaphyseal dysplasia, axial | Mitochondries, cytosole, vésicule           |

|                     |                                                       |                                                                                                                              |                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                            |                                                      |
|---------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>TFG</b>          | Trafficking from ER to golgi regulator                | Trafic intracellulaire                                                                                                       | Variants ponctuels (non sens, faux sens)                                                                                                           | Amyotrophic Lateral Sclerosis ( <i>Dhakal et al, 2022</i> )<br><br>Spastic paraplegia 57, autosomal recessive<br><br>Hereditary motor and sensory neuropathy, Okinawa type | Vésicules et cytoplasme                              |
| <b>SPTLC2</b>       | Serine palmitoyltransferase long chain base subunit 2 | Rôle biosynthèse de novo des sphingolipides                                                                                  | Variants ponctuels (faux sens)                                                                                                                     | Juvenil amyotrophic lateral sclerosis ( <i>Dohrn et al, 2024, Naruse et al, 2024</i> )<br><br>Neuropathy, hereditary sensory and autonomic, type IC                        | Membrane cytoplasmique et jonctions cellulaires      |
| <b>SMN1 (SMN)</b>   | Survival of motor neuron 1, telomeric                 | Rôle dans épissage pré-ARNm (développement neurones moteurs et proprioceptifs)                                               | Délétion, Duplication, Indel, Insertion<br><br>Variants ponctuels (faux sens, non sens, intronique, splice acceptor variant)<br><br>Microsatellite | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Spinal muscular atrophy 1 à 4                                                                                                         | Nuclear bodies, cytoplasme<br><br>Intéragit avec FUS |
| <b>PDIA1 (P4HB)</b> | Prolyl 4-hydroxylase subunit beta                     | Catalyse la formation, la rupture et le réarrangement des liaisons disulfure (modifications post traductionnelles protéines) | Duplication<br><br>Variants ponctuels (faux sens)                                                                                                  | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Cole-Carpenter syndrome 1                                                                                                             | Réticulum endoplasmique                              |
| <b>PDIA3</b>        | Protein disulfide isomerase family A member 3         | Disulfure isomérase qui catalyse la formation, l'isomérisation et la réduction ou l'oxydation des liaisons disulfure         | Variants ponctuels (faux sens)                                                                                                                     | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Intellectual disability                                                                                                               | Réticulum endoplasmique                              |

|                       |                                                       |                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                         |                                      |
|-----------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| <b><i>RAPGEF2</i></b> | Rap guanine nucleotide exchange factor 2              | Sert de lien entre les récepteurs de la surface cellulaire et les GTPases<br>Rap/Ras dans les cascades de signalisation intracellulaire, important dans le développement (différenciation, neurogénèse) | CNV                                                                                                                                                                              | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Epilepsy, familial adult myoclonic, 7                                                                                                                              | Membrane cytoplasmique, cytoplasme   |
| <b><i>KIF1A</i></b>   | Kinesin family member 1A                              | Transport axonal des précurseurs des vésicules synaptiques et des vésicules à noyaux denses                                                                                                             | Délétion, Duplication, Indel, Insertion<br><br>Variant ponctuel (faux sens, non sens, splice donor variant, synonyme, splice acceptor variant, intronique)<br><br>Microsatellite | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Spastic paraplegia 30, autosomal recessive<br><br>Spastic paraplegia 30, autosomal dominant<br><br>Neuropathy, hereditary sensory, type IIC<br><br>NESCAV syndrome | Cytoplasme, satellites centriolaires |
| <b><i>SPTLC1</i></b>  | Serine palmitoyltransferase long chain base subunit 1 | Sérine palmitoyltransférase (hémostase métabolique, viabilité cellulaire adipocyte)                                                                                                                     | Délétion<br><br>Variant ponctuel (faux sens, Microsatellite                                                                                                                      | Amyotrophic lateral sclerosis 27, juvenile<br><br>Neuropathy, hereditary sensory and autonomic, type IA                                                                                                 | Reticulum endoplasmique              |
| <b><i>DYNC1H1</i></b> | Dynein cytoplasmic 1 heavy chain 1                    | Motilité rétrograde intracellulaire des vésicules et des organites le long des microtubules, assemblage du fuseau mitotique                                                                             | Délétion, Indel, duplication<br><br>Variant ponctuel (faux sens, splice acceptor variant, non sens, intronique)<br><br>Microsatellite                                            | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Charcot-Marie-Tooth disease, axonal, type 2O<br><br>Cortical dysplasia, complex, with other brain malformations 13<br><br>Spinal muscular atrophy, lower           | Centrosome, cytoplasme               |

|                        |                                                              |                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                             |                                                            |
|------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
|                        |                                                              |                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                               | extremity-<br>predominant 1, AD                                                                                                                             |                                                            |
| <b>SUMO4</b>           | Small ubiquitin like<br>modifier 4                           | Moduler la<br>localisation, la<br>stabilité ou l'activité<br>subcellulaire des<br>protéines, et<br>intervient en cas de<br>stress oxydatif    | CNV                                                                                                                                                                           | Amyotrophic Lateral<br>Sclerosis<br><br>Diabetes mellitus,<br>insulin-dependent, 5                                                                          | Nucléoplasme,<br>nuclear bodies                            |
| <b>DHTKD1</b>          | Dehydrogenase E1<br>and transketolase<br>domain containing 1 | Dégradation<br>d'acides aminés et<br>glycolyse                                                                                                | Délétion,<br>Duplication<br><br>Variant ponctuel<br>(faux sens, non<br>sens, splice donor<br>variant, splice<br>acceptor variant)<br><br>Microsatellite                       | Amyotrophic<br>Lateral Sclerosis<br><br>Alpha-aminoacidic<br>and alpha-<br>ketoadipic aciduria<br><br>Charcot-Marie-<br>Tooth disease,<br>axonal, type 2Q ? | Mitochondrie                                               |
| <b>TP73</b>            | Tumor protein p73                                            | Participe à la<br>réponse apoptotique<br>aux dommages à<br>l'ADN, régulation<br>transcription ADN,<br>différenciation<br>cellules pulmonaires | Délétion<br><br>Variant ponctuel<br>(non sens, splice<br>donor variant)                                                                                                       | Amyotrophic<br>Lateral Sclerosis<br><br>Ciliary dyskinesia,<br>primary, 47, and<br>lissencephaly                                                            | Nucleoplasm,<br>Golgi, Vesicules,<br>jonctions cellulaires |
| <b>ATP13A2 (PARK9)</b> | ATPase cation<br>transporting 13A2                           | Translocase<br>(exportateur<br>polyamines,<br>homéostasie cations<br>IC pour intégrité<br>neuronale,<br>homéostasie<br>lipidique)             | Délétion,<br>Duplication, Indel<br><br>Variant ponctuel<br>(non sens, faux<br>sens, splice donor<br>variant, intronique,<br>splice acceptor<br>variant)<br><br>Microsatellite | SLA juvénile (forme<br>récessive)<br><br>Spastic paraplegia<br>78, autosomal<br>recessive<br><br>Kufor-Rakeb<br>syndrome                                    | Membrane<br>cytoplasmique                                  |
| <b>CHRNA4</b>          | Cholinergic receptor<br>nicotinic alpha 4<br>subunit         | Récepteur<br>nicotinique de<br>l'acétylcholine<br>(entrée d'ions<br>sodium<br>intracellulaire)                                                | Variants ponctuels<br>(faux sens)<br><br>Microsatellite                                                                                                                       | Fronto-temporal<br>dementia<br><br>Epilepsy, nocturnal<br>frontal lobe, 1<br><br>Nicotine addiction,<br>susceptibility to                                   | Membrane<br>cytoplasmique                                  |

|               |                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                |
|---------------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| <b>CHRNA4</b> | Cholinergic receptor<br>nicotinic beta 4<br>subunit | Récepteur<br>membranaire de<br>l'acétylcholine                                                                                                                                                                                                                                       | Variants ponctuels<br>(faux sens)                                                                                                                                   | Fronto-temporal<br>dementia                                                                                                                                                                                                                                                                  | Réticulum<br>endoplasmique,<br>Cells jonctions |
| <b>KANK1</b>  | KN motif and<br>ankyrin repeat<br>domains 1         | Impliqué dans le<br>contrôle de la<br>formation du<br>cytosquelette en<br>régulant la<br>polymérisation de<br>l'actine, Inhibe la<br>formation de<br>lamellipodes, Inhibe<br>la propagation<br>cellulaire médiée<br>par la fibronectine,<br><br>Inhibe la croissance<br>des neurites | Variant ponctuel<br>(faux sens)                                                                                                                                     | Amyotrophic<br>Lateral Sclerosis<br><br>Cerebral palsy,<br>spastic quadriplegic,<br>2                                                                                                                                                                                                        | Membrane<br>cytoplasmique                      |
| <b>RBM45</b>  | RNA binding motif<br>protein 45                     | Protéine de liaison à<br>l'ARN (rôle<br>probable dans le<br>développement<br>neuronal)                                                                                                                                                                                               | CNV                                                                                                                                                                 | Amyotrophic Lateral<br>Sclerosis<br><br>Fronto-temporal<br>dementia                                                                                                                                                                                                                          | Nucléoplasme                                   |
| <b>MFN2</b>   | Mitofusin 2                                         | Régulation de la<br>dynamique et du<br>métabolisme<br>mitochondriale,<br>prolifération<br>cellules musculaires<br>lisses vasculaires,<br>réponse UPR du<br>stress du RE                                                                                                              | Délétion,<br>Duplication<br><br>Variants ponctuels<br>(faux sens, non<br>sens, splice acceptor<br>variant, intronique<br>splice donor variant<br><br>Microsatellite | Amyotrophic<br>Lateral Sclerosis<br><br>Fronto-temporal<br>dementia<br><br>Charcot-Marie-<br>Tooth disease,<br>axonal, type 2A2A,<br>2A2B<br><br>Hereditary motor<br>and sensory<br>neuropathy VIA<br><br>Lipomatosis,<br>multiple symmetric,<br>with or without<br>peripheral<br>neuropathy | Mitochondries                                  |
| <b>VEGFA</b>  | Vascular endothelial<br>growth factor A             | Facteur de<br>croissance<br>(angiogénèse,<br>vasculogénèse,<br>guidage des axones<br>des motoneurones                                                                                                                                                                                | Délétion,<br>microsatellite                                                                                                                                         | Amyotrophic<br>Lateral Sclerosis<br><br>Microvascular<br>complications of<br>diabetes 1                                                                                                                                                                                                      | Non déterminé                                  |

|               |                                                   |                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                |                                     |
|---------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
|               |                                                   | durant le développement)                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                |                                     |
| <b>PCDHA9</b> | Protocadherin alpha 9                             | Adhésion cellulaire (probablement impliquée dans établissement e maintien de connexions neuronales)                                                       | CNV                                                                                                                                                                     | Amyotrophic Lateral Sclerosis                                                                                                                                  | Non déterminée                      |
| <b>HSPB1</b>  | Heat shock protein family B (small) member 1      | Protéine chaperonne (résistance au stress, organisation actine, gestion des protéines dénaturées, phosphorylation et transport axonal des neurofilaments) | Délétion, duplication, Insertion, Indel<br><br>Variant ponctuel (faux sens, non sens)                                                                                   | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Charcot-Marie-Tooth disease, axonal, type 2F<br><br>Neuronopathy, distal hereditary motor, autosomal dominant 3           | Cytoplasme, membrane cytoplasmique  |
| <b>TAF15</b>  | TATA-box binding protein associated factor 15     | Protéine de liaison à l'ARN et à l'ADN simple brin (initiation transcription au niveau de promoteurs distincts)                                           | CNV                                                                                                                                                                     | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Fronto-temporal dementia<br><br>Parkinson-like<br><br>Chondrosarcoma, extraskeletal myxoid                                | Nucléoplasme                        |
| <b>MFSD8</b>  | Major facilitator superfamily domain containing 8 | Transporteur (petites molécules)                                                                                                                          | Délétion, duplication, Insertion, Indel<br><br>Variant ponctuel (non sens, splice acceptor variant, faux sens, intronique, splice donnor variant)<br><br>Microsatellite | Fronto-temporal dementia<br><br>Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 7<br><br>Macular dystrophy with central cone involvement | Vésicules et nucléoplasme           |
| <b>RNF13</b>  | Ring finger protein 13                            | Ubiquitine-protéine ligase E3 qui régule la prolifération cellulaire,                                                                                     | Délétion                                                                                                                                                                | Amyotrophic Lateral Sclerosis                                                                                                                                  | Nucléoplasme, cytoplasme, vésicules |

|                 |                                                                   |                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                |                                                                  |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
|                 |                                                                   | l'apoptose, le trafic et la localisation des protéines                                                                                                                                           | Variants ponctuels (non sens, faux sens)<br><br>Microsatellite                                                                                                         | Developmental and epileptic encephalopathy 73                                                                                                  |                                                                  |
| <b>C19ORF12</b> | Chromosome 19 open reading frame 12                               | Fonction spécifique non connue                                                                                                                                                                   | Délétion, duplication, Indel<br><br>Variant ponctuel (faux sens, 5' UTR variant)                                                                                       | Amyotrophic Lateral Sclerosis - like<br><br>Neurodegeneration with brain iron accumulation 4<br><br>Spastic paraplegia 43, autosomal recessive | Cytoplasme                                                       |
| <b>GNE</b>      | Glucosamine (UDP-N-acetyl)-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase | Régule et initie la biosynthèse de l'acide N-acétylneuraminique (NeuAc), un précurseur des acides sialiques (développement précoce, adhésion cellulaire, transduction du signal, tumorigénicité) | Délétion, Indel, Duplication, Insertion<br><br>Variant ponctuel (non sens, faux sens, splice donor variant, splice acceptor variant, intronique)<br><br>Microsatellite | Amyotrophic Lateral Sclerosis<br><br>Nonaka myopathy<br><br>Sialuria<br><br>Thrombocytopenia 12 with or without myopathy                       | Cytoplasme                                                       |
| <b>ABCA7</b>    | ATP binding cassette subfamily A member 7                         | Catalyse la translocation de phospholipides spécifiques du cytoplasme vers le feuillet extracellulaire (phagocytose, transport lipide)<br><br>A noter exporte le bêta amyloïde                   | Délétion, duplication<br><br>Variants ponctuels (non sens, splice donor variant, splice acceptor variant)                                                              | Amyotrophic Lateral Sclerosis (VOUS ClinVar)<br><br>Alzheimer disease 9, susceptibility to                                                     | Appareil de Golgi, membrane cytoplasmique, jonctions cellulaires |
| <b>ATXN2</b>    | Ataxin 2                                                          | Régulateur négatif de l'internalisation endocytaire de l'EGFR au niveau de la membrane cytoplasmique                                                                                             | Variants ponctuels (faux sens)                                                                                                                                         | Amyotrophic lateral sclerosis, susceptibility to, 13<br><br>Parkinson disease, late-onset, susceptibility to<br><br>Spinocerebellar ataxia 2   | Cytoplasme                                                       |

|                |                                                |                                                                                                                                                           |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                       |                                                |
|----------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|                |                                                |                                                                                                                                                           |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                       |                                                |
| <b>CACNA1A</b> | Calcium voltage-gated channel subunit alpha1 A | Contraction musculaire, libération d'hormones ou de neurotransmetteurs, expression des gènes, motilité cellulaire, division cellulaire et mort cellulaire |                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                       | Reticulum endoplasmique                        |
| <b>CHRNA3</b>  | Cholinergic receptor nicotinic alpha 3 subunit | Ouverture d'un canal conducteur d'ions à travers la membrane plasmique après liaison avec acétylcholine                                                   | Duplication, délétion, Insertion<br><br>Variant ponctuel (non sens, faux sens, splice donor variant)<br><br>Microsatellite | Amyotrophic Lateral Sclerosis (likely pathogen ClinVar)<br><br>Lung cancer susceptibility 2<br><br>Bladder dysfunction, autonomic, with impaired pupillary reflex and secondary CAKUT | Membrane cytoplasmique<br><br>Nuclear speckles |
| <b>DDX20</b>   | DEAD-box helicase 20                           | Epissage des ARNm, métabolisme, petites ribonucléoprotéines nucléolaires (snoRNP)                                                                         | CNV<br><br>Variants ponctuels (faux sens)                                                                                  | Amyotrophic Lateral Sclerosis (VOUS ClinVar)                                                                                                                                          | Nuclear bodies, nucléoplasme, cytoplasme       |
| <b>ERLIN1</b>  | ER lipid raft associated 1                     | Impliqué dans la régulation de l'homéostasie du cholestérol cellulaire                                                                                    | Délétion<br><br>Variant ponctuel (splice acceptor variant, faux sens)                                                      | Juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ClinVar, pathogenic)<br><br>Spastic paraplegia 62, autosomal recessive                                                                        | Reticulum endoplasmique                        |
| <b>GLE1</b>    | GLE1 RNA export mediator                       | Exportation des ARNm contenant des queues poly(A) du noyau vers le cytoplasme                                                                             | Délétion, Duplication, Indel<br><br>Variant ponctuel (non sens, splice acceptor variant, splice donor variant,             | Amyotrophic lateral sclerosis (ClinVar VOUS)<br><br>Congenital arthrogryposis with                                                                                                    | Membrane nucléaire, nucléole                   |

|                |                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                              |                                                        |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
|                |                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                    | faux sens,<br>intronique)<br><br>Microsatellite                                                                                                                       | anterior horn cell<br>disease<br><br>Lethal congenital<br>contracture<br>syndrome 1                                                                                                                                                          |                                                        |
| <b>MOBP</b>    | Myelin associated<br>oligodendrocyte<br>basic protein                     | Rôle probable dans<br>le compactage ou la<br>stabilisation de la<br>gaine de myéline                                                                                                                                                                               | Variant ponctuel<br>(faux sens,<br>intronique)                                                                                                                        | Amyotrophic lateral<br>sclerosis (ClinVar<br>VOUS)                                                                                                                                                                                           | Cytoplasmic bodies                                     |
| <b>PARK7</b>   | Parkinsonism<br>associated<br>deglycase                                   | Autophagie,<br>réparation de<br>l'ADN, fécondation,<br>réponse<br>inflammatoire,<br>réponse au stress                                                                                                                                                              | Délétion,<br>Duplication<br><br>Variant ponctuel<br>(non sens, faux<br>sens)<br><br>Microsatellite                                                                    | Amyotrophic lateral<br>sclerosis-<br>parkinsonism-<br>dementia complex<br>(ClinVar<br>pathogenic)<br><br>Parkinson disease 7,<br>autosomal recessive<br>early-onset                                                                          | Nucléoplasme<br>Cytoplasme                             |
| <b>TRPM7</b>   | Transient receptor<br>potential cation<br>channel subfamily<br>M member 7 | Canal ionique<br>(régulation de la<br>mort des cellules<br>neuronales<br>anoxiques                                                                                                                                                                                 | Variant ponctuel<br>(faux sens,<br>intronique)<br><br>Microsatellite                                                                                                  | Amyotrophic lateral<br>sclerosis-<br>parkinsonism-<br>dementia complex,<br>susceptibility to                                                                                                                                                 | Membrane<br>cytoplasmique,<br>vésicules,<br>cytoplasme |
| <b>PLEKHG5</b> | Pleckstrin<br>homology and<br>RhoGEF domain<br>containing G5              | Autophagie des<br>vésicules<br>synaptiques dans<br>l'axone terminal des<br>motoneurones,<br>différenciation des<br>cellules neuronales,<br>angiogénès,<br>migration, adhésion<br>et dégradation de la<br>matrice os dans les<br>macrophages et les<br>ostéoclastes | Délétion,<br>Duplication,<br>Insertion<br><br>Variant ponctuel<br>(non sens, splice<br>donor variant, splice<br>acceptor variant,<br>faux sens)<br><br>Microsatellite | Juvenile<br>amyotrophic lateral<br>sclerosis (ClinVar<br>likely pathogen et<br>pathogen)<br><br>Charcot-Marie-<br>Tooth disease,<br>recessive<br>intermediate C<br><br>Neuronopathy,<br>distal hereditary<br>motor, autosomal<br>recessive 4 | Nucléoplasme                                           |
| <b>PON1</b>    | Paraoxonase 1                                                             | Capable<br>d'hydrolyser un<br>large spectre de<br>substrats<br>organophosphorés<br>et de lactones, des<br>esters d'acides<br>carboxyliques                                                                                                                         | CNV<br><br>Variants ponctuels<br>(faux sens)                                                                                                                          | Amyotrophic lateral<br>sclerosis (ClinVar,<br>VOUS)<br><br>Organophosphate<br>poisoning,<br>sensitivity to                                                                                                                                   | Non déterminé                                          |

|               |                                                       |                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                           |                                  |
|---------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|
|               |                                                       | aromatiques.<br>Protection enzymatique des lipoprotéines de basse densité contre la modification oxydative                                                                                                                            |                                                                                                                                                           | Microvascular complications of diabete<br><br>Coronary artery spasm 2, susceptibility to 5<br><br>Coronary artery disease, susceptibility to                                                                                              |                                  |
| <b>SARM1</b>  | Sterile alpha and TIR motif containing 1              | Hydrolase (Différenciation, Immunité innée, Neurogenèse)                                                                                                                                                                              | CNV<br>Variant ponctuels (faux sens)                                                                                                                      | Amyotrophic lateral sclerosis (ClinVar VOUS)                                                                                                                                                                                              | Mitochondrie                     |
| <b>SYNE1</b>  | Spectrin repeat containing nuclear envelope protein 1 | Impliqué dans la connexion entre la lame nucléaire et le cytosquelette (spermatogénèse, ciliogénèse, neurogénèse)                                                                                                                     | Duplication, Délétion, Indel<br><br>Variant ponctuel (splice donor variant, non sens, splice acceptor variant, non sens, faux sens)<br><br>Microsatellite | Juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ClinVar, pathogen)<br><br>Arthrogryposis multiplex congenita 3, myogenic type<br><br>Emery-Dreifuss muscular dystrophy 4, autosomal dominant<br><br>Spinocerebellar ataxia, autosomal recessive 8 | Nucléoplasme, membrane nucléaire |
| <b>UNC13A</b> | Unc-13 homolog A                                      | Joue un rôle dans la maturation des vésicules au cours de l'exocytose (libération des neurotransmetteurs, impliqué dans l'amorçage des granules sécrétoires dans la sécrétion d'insuline, formation de dendrites par les mélanocytes) | Délétion<br><br>Variant ponctuel (faux sens, intronique)                                                                                                  | Amyotrophic lateral sclerosis type 1 (ClinVar, 1 variant likely pathogène et 1 variant VOUS)                                                                                                                                              | Non déterminée                   |

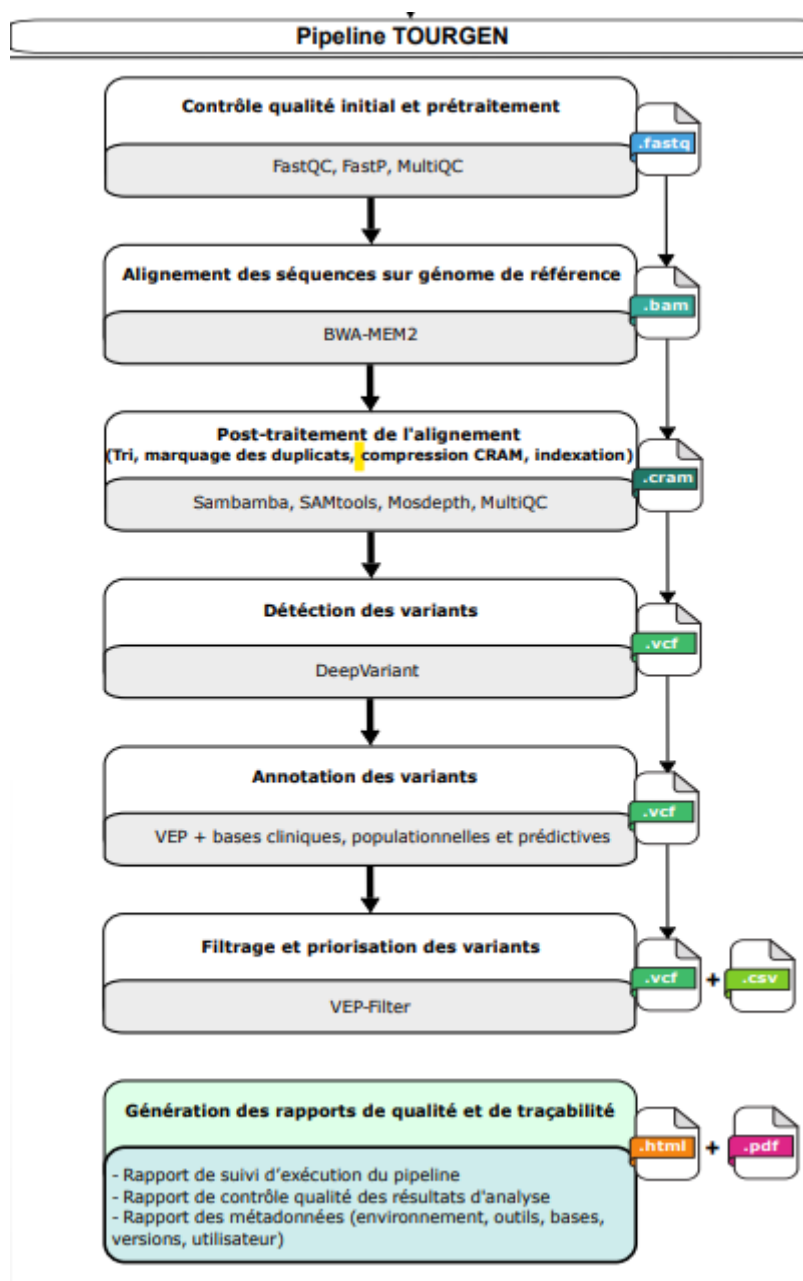
|               |                                                    |                                                                                                                |                                                                                                |                               |                          |
|---------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| <b>SS18L1</b> | SS18L1 subunit of BAF chromatin remodeling complex | Activateur transcriptionnel nécessaire à la croissance dendritique et à la ramification des neurones corticaux | CNV de grande taille, Délétion<br><br>Variants ponctuels (faux sans, 5' UTR variant, non sens) | Amyotrophic lateral sclerosis | Nucléoplasme, cytoplasme |
|---------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------------|

VOUS : Variant of Uncertain Significance

**Annexe 2 : Liste des gènes du panel NGS ciblé gènes SLA/DFT - Sang - CHU Tours**

NGS **ALS2** (NM\_020919.4), **ANG** (NM\_001145.4), **ANXA11** (NM\_145868.2), **APOE** (NM\_000041.4), **APP** (NM\_000484.4), **CCNF** (NM\_001761.3), **CHCHD10** (NM\_213720.3), **CHMP2B** (NM\_014043.4), **CSF1R** (NM\_001288705.3), **DCTN1** (NM\_004082.5), **ERBB4** (NM\_005235.3), **FIG4** (NM\_014845.6), **FUS** (NM\_004960.4), **GRN** (NM\_002087.4), **HNRNPA1** (NM\_031157.4), **KIF5A** (NM\_004984.4), **MAPT** (NM\_005910.6), **MATR3** (NM\_199189.3), **NEK1** (NM\_001199397.3), **OPTN** (NM\_021980.4), **PSEN1** (NM\_000021.4), **PSEN2** (NM\_000447.3), **RNF31** (NM\_017999.5), **SH3RF1** (NM\_020870.4), **SIGMAR1** (NM\_005866.4), **SOD1** (NM\_000454.5), **SPAST** (NM\_014946.4), **SPG11** (NM\_025137.4), **SPG7** (NM\_003119.4), **SPTLC1** (NM\_006415.4), **SQSTM1** (NM\_003900.5), **TARDBP** (NM\_007375.4), **TBK1** (NM\_013254.4), **TRIM9** (NM\_001387360.1), **TUBA4A** (NM\_006000.3), **UBQLN2** (NM\_013444.4), **UNC13A** (NM\_001080421.3), **VAPB** (NM\_004738.5), **VCP** (NM\_007126.5)

**Annexe 3 :** Schéma du pipeline bioinformatique *TOURGEN* appliqué à l'analyse de données de Whole Exome Sequencing (WES) (développé et réalisé par Tarek Alouane).



Après séquençage sur **NextSeq 550**, les fichiers bruts **BCL** sont convertis en **FASTQ** par bcl2fastq. Ces fichiers servent d'entrée au pipeline **TOURGEN** qui comprend : (1) contrôle qualité et prétraitement (par FastQC, FastP, MultiQC), (2) alignement sur le génome de référence **GRCh38** avec BWA-MEM2 (sortie : **BAM**), (3) post-traitement de l'alignement incluant le marquage des duplicats, compression en **CRAM** (par Sambamba, SAMtools, Mosdepth), (4) détection des variants par DeepVariant (sortie : **VCF**), (5) annotation des variants via VEP (sortie : **VCF**), (6) filtrage et priorisation des variants rares avec vep-filter (sortie : **VCF**, converti en **CSV** pour visualisation). Le pipeline produit également des rapports de qualité et de traçabilité aux formats **HTML** et **PDF**.

**Annexe 4 : Outils, versions et sources utilisés par l'application MobiDetails pour l'annotation et l'interprétation des variants**

| Resource                     | Version                 | Reference                     |
|------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| AbSplice                     | v1.0.0 (dataset)        | Wagner et al., 2023           |
| AlphaMissense                | v20230803 (dataset)     | Cheng et al., 2023            |
| Cactus_241_way               | hg38                    | Christmas et al., 2023        |
| CADD                         | v1.7                    | Rentzsch et al., 2019         |
| ClinGenSpecificationRegistry | v20250917               | None et al., None             |
| ClinPred                     | 2018_hg19               | Alirezaie et al., 2018        |
| ClinVar                      | v20250915               | Landrum et al., 2016          |
| dbMTS                        | v1.0                    | Chang et al., 2020            |
| dbNSFP                       | v4.3a                   | Liu et al., 2016              |
| dbSNV                        | v1.1                    | Jian et al., 2014             |
| dbSNP                        | v157                    | Sherry et al., 2001           |
| EpiSignature                 | v20210901               | Foroutan et al., 2021         |
| Eigen                        | v1.1                    | Ionita-Laza et al., 2016      |
| FatHMM-XF                    | from dbNSFP             | Rogers et al., 2018           |
| genebe                       | Live web site           | Stawinski et al., 2024        |
| gnomAD                       | v2.1.1;v3.1.2;v4.1.0    | Karczewski et al., 2020       |
| GPN-MSA                      | hg38                    | Benegas et al., 2025          |
| HexoSplice                   | Live web site           | Tubeuf et al., 2020           |
| InterVar                     | API                     | Li et al., 2017               |
| LitVar2                      | API                     | Allot et al., 2018            |
| LOVD                         | API                     | Fokkema et al., 2011          |
| MaveDB                       | 20241114                | Rubin et al., 2025            |
| MaxEntScan                   | 2004                    | Yeo et al., 2004              |
| MetaDome                     | v1.0.1                  | Wiel et al., 2019             |
| MetaSVM-LR                   | from dbNSFP             | Dong et al., 2015             |
| Mistic                       | v1                      | Chennen, Weber et al., 2020   |
| MIZTLI                       | Live web site           | Blavier et al., 2022          |
| MobiDeep                     | v1                      | Bouazzaoui et al., 2025       |
| MorfeeDB                     | 1.0                     | Meguerditchian et al., 2025   |
| MPA                          | 1.1                     | Yauy et al., 2018             |
| MuPIT                        | API                     | Niknafs et al., 2013          |
| Mutalyzer                    | API                     | Wildeman et al., 2008         |
| mygene.info                  | API                     | Xin et al., 2016              |
| OncokBGenes                  | v20221213               | Chakravarty et al., 2017      |
| panelApp                     | API                     | Stark et al., 2021            |
| phyloPPrimates               | hg38                    | Kuderna et al., 2023          |
| Polyphen-2                   | from dbNSFP             | Adzhubei et al., 2010         |
| PromoterAI                   | 2025                    | Jaganathan et al., 2025       |
| regulomeDB                   | Live web site           | Boyle et al., 2012            |
| ReMM                         | 0.4 GRCh38              | Schubach et al., 2023         |
| REVEL                        | 1.3                     | Ioannidis et al., 2016        |
| SIFT                         | from dbNSFP             | Ng et al., 2003               |
| SPiP                         | v2.1                    | Leman et al., 2022            |
| spliceAI                     | v1.3                    | Jaganathan et al., 2019       |
| spliceAIlookup               | API                     | None et al., None             |
| SpliceAI-visual              | internal implementation | De Sainte Agathe et al., 2022 |
| togows                       | API                     | Katayama et al., 2010         |
| VariantValidator             | API                     | Freeman et al., 2018          |

**Annexe 5 : Liste des gènes avec variants rares et prédits délétères par patients**

| S2                                                                                                                                                                                                                             | S3                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | S4                                                                                                                                                                                        | S5                                                                                                                                                                                                                                           | S6                                                                                                                                                                                                                                                                                              | S7                                                                                                                                                                                             | S8                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>EFCAB12</i><br><i>ATP10D</i><br><i>PFAS</i><br><i>PDCD2L</i><br><i>STK36</i><br><i>ACAA1</i><br><i>TRAIP</i><br><i>SMAD9</i><br><i>TOX3</i><br><i>TBCB</i><br><i>GRIK1</i><br><i>ZIC4</i><br><i>GALNT12</i><br><i>TTYH3</i> | <i>NEMP2</i><br><i>SLC15A3</i><br><i>C19orf25</i><br><i>POLR3H</i><br><i>RBMX</i><br><i>ABCA3</i><br><i>NEK10</i><br><i>PPP2R3A</i><br><i>SOD3</i><br><i>AMZ1</i><br><i>PRDM12</i><br><i>VPS33A</i><br><i>PARP4</i><br><i>RFC3</i><br><i>ATP2A3</i><br><i>UNC13D</i><br><i>CNDP1</i><br><i>KIF16B</i><br><i>DTD1</i><br><i>TTLL12</i><br><i>NOD1</i><br><i>SMIM7</i> | <i>MED8</i><br><i>ROBO4</i><br><i>NSRP1</i><br><i>DPM1</i><br><i>RBMX</i><br><i>WFS1</i><br><i>MBLAC2</i><br><i>LAMA2</i><br><i>DNAI1</i><br><i>ALKBH2</i><br><i>DLL4</i><br><i>BLTP2</i> | <i>PRDM2</i><br><i>NACAD</i><br><i>C10orf90</i><br><i>POU6F1</i><br><i>DTWD1</i><br><i>RBMX</i><br><i>BOC</i><br><i>NUP54</i><br><i>TLR3</i><br><i>MEGF10</i><br><i>FKBP9</i><br><i>TRPV6</i><br><i>RRM1</i><br><i>GALNT6</i><br><i>KDSR</i> | <i>OTOF</i><br><i>CORO1B</i><br><i>AMN1</i><br><i>GJB2</i><br><i>METTL3</i><br><i>ASPSCR1</i><br><i>PARS2</i><br><i>MFSD2B</i><br><i>ARL4C</i><br><i>WFS1</i><br><i>MOCS1</i><br><i>LAMB1</i><br><i>PRAG1</i><br><i>UBTD1</i><br><i>EPB41L3</i><br><i>AQP4</i><br><i>PLPP2</i><br><i>TRIP10</i> | <i>NEK4</i><br><i>CDH10</i><br><i>WEE1</i><br><i>GPR132</i><br><i>GDF1</i><br><i>ACAA1</i><br><i>INTS10</i><br><i>EIF4EBP1</i><br><i>PRTFDC1</i><br><i>HAL</i><br><i>PIAS4</i><br><i>MEGF8</i> | <i>CDH10</i><br><i>PCM1</i><br><i>PKP3</i><br><i>SPSB2</i><br><i>FBRSL1</i><br><i>GPR132</i><br><i>GDF1</i><br><i>MOGS</i><br><i>ACAA1</i><br><i>INTS10</i><br><i>PRTFDC1</i><br><i>DPP3</i><br><i>ARHGEF12</i><br><i>HAL</i><br><i>ATP11A</i><br><i>CTXN2</i><br><i>MATK</i> |

| S9                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | S10                                                                                                                                                                                                                                                                                         | S11                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>UQCRC1</i><br><i>LRRK2</i><br><i>MRPL44</i><br><i>DCBLD2</i><br><i>TOP1MT</i><br><i>CNTN1</i><br><i>GAS2L3</i><br><i>TTC5</i><br><i>DAZAP1</i><br><i>BCL2L12</i><br><i>RBMX</i><br><i>NRXN1</i><br><i>PRRC1</i><br><i>NID2</i><br><i>RUNDC1</i><br><i>EPB41L3</i><br><i>SUCLG1</i><br><i>SH3TC1</i> | <i>SYNE1</i><br><i>MAST2</i><br><i>ETFDH</i><br><i>NPAT</i><br><i>ZNF268</i><br><i>KNOP1</i><br><i>DAZAP1</i><br><i>DHX57</i><br><i>ATP8A1</i><br><i>HELQ</i><br><i>PSD2</i><br><i>MAD1L1</i><br><i>CLDN3</i><br><i>KDM4C</i><br><i>HCN4</i><br><i>PMM2</i><br><i>MMP24</i><br><i>BRWD1</i> | <i>ASCC1</i><br><i>SYNE1</i><br><i>TXLNA</i><br><i>HFM1</i><br><i>CHIA</i><br><i>LGI2</i><br><i>ROR2</i><br><i>PDF</i><br><i>VAT1L</i><br><i>RELB</i><br><i>AHCY</i><br><i>SLCO4A1</i><br><i>TRIM23</i><br><i>POLG</i> |

**Annexe 6 :** *Liste des gènes avec variants rares et prédits délétères de l'ensemble des 10 patients*

*EFCAB12, ATP10D, PFAS, PDCD2L, STK36, ACAA1, TRAIP, SMAD9, TOX3, TBCB, GRIK1, ZIC4, GALNT12, TTYH3, NEMP2, SLC15A3, C19orf25, POLR3H, RBMX, ABCA3, NEK10, PPP2R3A, SOD3, AMZ1, PRDM12, VPS33A, PARP4, RFC3, ATP2A3, UNC13D, CNDP1, KIF16B, DTD1, TTLL12, NOD1, SMIM7, MED8, ROBO4, NSRP1, DPM1, WFS1, MBLAC2, LAMA2, DNAI1, ALKBH2, DLL4, BLTP2, PRDM2, NACAD, C10orf90, POU6F1, DTWD1, BOC, NUP54, TLR3, MEGF10, FKBP9, TRPV6, RRM1, GALNT6, KDSR, OTOF, CORO1B, AMN1, GJB2, METTL3, ASPSCR1, PARS2, MFSD2B, ARL4C, MOCS1, LAMB1, PRAG1, UBTD1, EPB41L3, AQP4, PLPP2, TRIP10, NEK4, CDH10, WEE1, GPR132, GDF1, INTS10, EIF4EBP1, PRTFDC1, HAL, PIAS4, MEGF8, PCM1, PKP3, SPSB2, FBRSL1, MOGS, DPP3, ARHGEF12, ATP11A, CTXN2, MATK, UQCRC1, LRRK2, MRPL44, DCBLD2, TOP1MT, CNTN1, GAS2L3, TTC5, DAZAP1, BCL2L12, NRXN1, PRRC1, NID2, RUNDC1, SUCLG1, SH3TC1, SYNE1, MAST2, ETFDH, NPAT, ZNF268, KNOP1, DHX57, ATP8A1, HELQ, PSD2, MAD1L1, CLDN3, KDM4C, HCN4, PMM2, MMP24, BRWD1, ASCC1, TXLNA, HFM1, CHIA, LIG2, ROR2, PDF, VAT1L, RELB, AHCY, SLCO4A1, TRIM23, POLG*

## BIBLIOGRAPHIE

1. Inserm. Sclérose latérale amyotrophique (SLA) – Maladie de Charcot. [Internet]. 2023. Disponible sur : <https://www.inserm.fr/dossier/sclerose-laterale-amyotrophique-sla-maladie-charcot/>
2. Meininger V, Salachas F, et al. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis in France: incidence and prevalence. *Rev Neurol (Paris)*. 2018;174(1-2):42–49.
3. Haute Autorité de Santé (HAS). Protocole national de diagnostic et de soins (PNDs) – Sclérose latérale amyotrophique [Internet]. Saint-Denis : HAS; 2022. Disponible sur : [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_612628/fr/ald-n-9-pnds-sclerose-laterale-amyotrophique](https://www.has-sante.fr/jcms/c_612628/fr/ald-n-9-pnds-sclerose-laterale-amyotrophique)
4. Chiò A, Logroscino G, Traynor BJ, et al. Prognostic factors in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol*. 2009;8(11):1082–1098.
5. Verma A. Clinical Manifestation and Management of Amyotrophic Lateral Sclerosis. In: Araki T, editor. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* [Internet]. Brisbane (AU): Exon Publications; 2021 Jul 25. Chapter 1. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK573427/?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK573427/?utm_source=chatgpt.com) doi: 10.36255/exonpublications.amyotrophiclateralsclerosis.management.2021
6. Tröger M, Dengler R. The role of electromyography (EMG) in the diagnosis of ALS. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2000 Jun;1 Suppl 2:S33-40.
7. Gupta A, Nguyen TB, Chakraborty S, Bourque PR. Accuracy of Conventional MRI in ALS. *Can J Neurol Sci*. 2014 Jan;41(1):53-7.
8. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet*. 1985;1(8437):1106–7.
9. Mills KR. Magnetic stimulation and central conduction time. In: Eisen A, editor. *Handbook of Clinical Neurophysiology*. Elsevier; 2004. p. 283–93. (Clinical Neurophysiology of Motor Neuron Diseases; vol. 4).
10. Rösler KM, Truffert A, Hess CW, Magistris MR. Quantification of upper motor neuron loss in amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical Neurophysiology*. 2000;111(12):2208–18.
11. Andersen PM, Borasio GD, Dengler R, Hardiman O, Kollewe K, Leigh PN, Pradat PF, Silani V, Tomik B; EFNS Task Force on Diagnosis and Management of Amyotrophic Lateral Sclerosis. EFNS task force on management of amyotrophic lateral sclerosis: guidelines for diagnosing and clinical care of patients and relatives. *Eur J Neurol*. 2005 Dec;12(12):921-38.

12. Andersen PM, Borasio GD, Dengler R, Hardiman O, Kollewe K, Leigh PN, Pradat PF, Silani V, Tomik B; EALSC Working Group. Good practice in the management of amyotrophic lateral sclerosis: clinical guidelines. An evidence-based review with good practice points. EALSC Working Group. *Amyotroph Lateral Scler*. 2007 Aug;8(4):195-213.
13. Haute Autorité de santé. Prise en charge des personnes atteintes de sclérose latérale amyotrophique. Conférence de consensus, 23 et 24 novembre 2005. Saint-Denis La Plaine : HAS ; 2006. Disponible sur : [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/Sclerose\\_laterale\\_amyotrophique\\_long.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/Sclerose_laterale_amyotrophique_long.pdf)
14. Guennoc AM, Camu W, Corcia P. Les critères d'Awaji: les nouveaux critères diagnostiques de la sclérose latérale amyotrophique [Awaji criteria: new diagnostic criteria for amyotrophic lateral sclerosis]. *Rev Neurol (Paris)*. 2013 Jun-Jul;169(6-7):470-5. French.
15. Saitoh Y, Takahashi Y. Riluzole for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegener Dis Manag*. 2020 Dec;10(6):343-355.
16. Miller RG, Mitchell JD, Moore DH. Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 3. Art. No.: CD001447.
17. Neupane P, Thada PK, Singh P, Faisal AR, Rai N, Poudel P, Waleed MS, Quinonez J, Ruxmohan S, Jain E. Investigating Edaravone Use for Management of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): A Narrative Review. *Cureus*. 2023 Jan 13;15(1):e33746.
18. Kashyap PV, et al. Effect of Edaravone Therapy on Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Meta-Analysis. *Neurology*. 2025;104(1):e1–e9.
19. Miller TM, Cudkowicz ME, Genge A, Shaw PJ, Sobue G, Bucelli RC, Chiò A, Van Damme P, Ludolph AC, Glass JD, Andrews JA, Babu S, Benatar M, McDermott CJ, Cochrane T, Chary S, Chew S, Zhu H, Wu F, Nestorov I, Graham D, Sun P, McNeill M, Fanning L, Ferguson TA, Fradette S; VALOR and OLE Working Group. Trial of Antisense Oligonucleotide Tofersen for SOD1 ALS. *N Engl J Med*. 2022 Sep 22;387(12):1099-1110.
20. Genscript. Three advancing gene therapy strategies for ALS. 2023.
21. Lin X, et al. Gene therapy for ALS: Targeting SOD1, TARDBP, and FUS. *Int J Mol Sci*. 2023;26(9):4063.
22. Blanquer M, et al. Stem cell-based therapies for amyotrophic lateral sclerosis: current status and future perspectives. *Front Cell Neurosci*. 2023;17:1187890.
23. de Oliveira RM, et al. Neuroinflammation in ALS: pathophysiology and therapeutic targets. *Front Neurosci*. 2022;16:1043876.

24. Mora JS, Genge A, Chio A, Estol CJ, Chaverri D, Hernández M, Marín S, Mascias J, Rodriguez GE, Povedano M, Paipa A, Dominguez R, Gamez J, Salvado M, Lunetta C, Ballario C, Riva N, Mandrioli J, Moussy A, Kinet JP, Auclair C, Dubreuil P, Arnold V, Mansfield CD, Hermine O; AB10015 STUDY GROUP. Masitinib as an add-on therapy to riluzole in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomized clinical trial. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2020 Feb;21(1-2):5-14.
25. Andrews JA, Cudkowicz ME, Hardiman O, Meng L, Bian A, Lee J, Wolff AA, Malik FI, Shefner JM. VITALITY-ALS, a phase III trial of tirasemtiv, a selective fast skeletal muscle troponin activator, as a potential treatment for patients with amyotrophic lateral sclerosis: study design and baseline characteristics. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2018 May;19(3-4):259-266. Erratum in: *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2018 May;19(3-4):321.
26. Belbasis, L., et al. (2016). Environmental Risk Factors and Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Neurology*, 263(5), 1007–1020.
27. Bozzoni, V., et al. (2016). Amyotrophic Lateral Sclerosis and Environmental Factors. *Frontiers in Neurology*, 7, 178.
28. Soriani M-H, Desnuelle C. Épidémiologie de la SLA. *Rev Neurol (Paris)*. 2009;165(7):627–640.
29. Franz CK. Impact of traumatic brain injury on amyotrophic lateral sclerosis. *Front Neurol*. 2019;10:1–11.
30. Re DB, et al. Identifying exposures determining higher ALS risk. *Front Neurol*. 2022;13:1–12.
31. Kong LZ, et al. Military traumatic brain injury: a challenge straddling neurology and psychiatry. *Military Med*. 2022;187(5–6):1–8
32. Huisman M-H, et al. Effect of presymptomatic body mass index and dietary intake on the risk of amyotrophic lateral sclerosis. *JAMA Neurol*. 2015;72(6):1–7
33. Eom J, et al. Relationship between dietary total antioxidant capacity and amyotrophic lateral sclerosis risk in Korea: a case-control study. *Nutr Neurosci*. 2022;25(2):1–8
34. Seelen M, et al. Mediterranean diet modifies risk of amyotrophic lateral sclerosis: a case-control study. *Neurology*. 2013;80(7):1–6
35. Mejzini R, Flynn LL, Pitout IL, Fletcher S, Wilton SD, Akkari PA. ALS Genetics, Mechanisms, and Therapeutics: Where Are We Now? *Front Neurosci*. 2019 Dec 6;13:1310.

36. Zou ZY, Zhou ZR, Che CH, Liu CY, He RL, Huang HP. (2017) Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 88(7):540-549.
37. Nijs M, Van Damme P. The genetics of amyotrophic lateral sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2024 Oct 1;37(5):560-569.
38. Opie-Martin S, Iacoangeli A, Topp SD, Abel O, Mayl K, Mehta PR, et al. The SOD1-mediated ALS phenotype shows a decoupling between age of symptom onset and disease duration. *Nature Communications*. 2022;13(1):6901
39. Ghasemi M, Brown RH Jr. Genetics of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018 May 1;8(5):a024125.
40. Abrahao A, Abath Neto O, Kok F, Zanoteli E, Santos B, Pinto WBV de R, et al. One family, one gene and three phenotypes: A novel VCP (valosin-containing protein) mutation associated with myopathy with rimmed vacuoles, amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *J Neurol Sci*. 15 sept 2016;368:352-8.
41. Agarwal S, Potocki L, Collier TR, Woodbury SL, Adesina AM, Jones J, et al. Utility of whole exome sequencing in evaluation of juvenile motor neuron disease. *Muscle Nerve*. avr 2016;53(4):648-52.
42. Amador MDM, Muratet F, Teyssou E, Banneau G, Danel-Brunaud V, Allart E, et al. Spastic paraplegia due to recessive or dominant mutations in ERLIN2 can convert to ALS. *Neurol Genet*. déc 2019;5(6):e374.
43. Bannwarth S, Ait-El-Mkadem S, Chaussonnet A, Genin EC, Lacas-Gervais S, Fragaki K, et al. A mitochondrial origin for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis through CHCHD10 involvement. *Brain*. août 2014;137(Pt 8):2329-45.
44. Beijer D, Kim HJ, Guo L, O'Donovan K, Mademan I, Deconinck T, et al. Characterization of HNRNPA1 mutations defines diversity in pathogenic mechanisms and clinical presentation. *JCI Insight*. 22 juill 2021;6(14):e148363.
45. Bettencourt C, Houlden H. Exome sequencing uncovers hidden pathways in familial and sporadic ALS. *Nat Neurosci*. mai 2015;18(5):611-3.
46. Bourbouli M, Paraskevas GP, Rentzos M, Mathioudakis L, Zouvelou V, Bougea A, et al. Genotyping and Plasma/Cerebrospinal Fluid Profiling of a Cohort of Frontotemporal Dementia-Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients. *Brain Sci*. 19 sept 2021;11(9):1239.
47. Brenner D, Müller K, Lattante S, Yilmaz R, Knehr A, Freischmidt A, et al. FUS mutations dominate TBK1 mutations in FUS/TBK1 double-mutant ALS/FTD pedigrees. *Neurogenetics*. janv 2022;23(1):59-65.

48. Brenner D, Yilmaz R, Müller K, Grehl T, Petri S, Meyer T, et al. Hot-spot KIF5A mutations cause familial ALS. *Brain*. 1 mars 2018;141(3):688-97.
49. Cao B, Gu X, Wei Q, Li C, Chen Y, Ou R, et al. Mutation screening and burden analysis of GLT8D1 in Chinese patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*. mai 2021;101:298.e17-298.e21.
50. Chen JY, Liu XY, Xu YS, Fan DS. [Association between rare UBQLN2 variants and amyotrophic lateral sclerosis in Chinese population]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 30 mars 2021;101(12):846-50.
51. Chen J, Liu X, Xu Y, Fan D. [Rare variants of HSPB1 are probably associated with amyotrophic lateral sclerosis]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 30 janv 2021;41(1):75-8.
52. Chen YP, Yu SH, Wei QQ, Cao B, Gu XJ, Chen XP, et al. Role of genetics in amyotrophic lateral sclerosis: a large cohort study in Chinese mainland population. *J Med Genet*. sept 2022;59(9):840-9.
53. Chesi A, Staahl BT, Jovičić A, Couthouis J, Fasolino M, Raphael AR, et al. Exome sequencing to identify de novo mutations in sporadic ALS trios. *Nat Neurosci*. juill 2013;16(7):851-5.
54. Chia R, Chiò A, Traynor BJ. Novel genes associated with amyotrophic lateral sclerosis: diagnostic and clinical implications. *Lancet Neurol*. janv 2018;17(1):94-102.
55. Cirulli ET, Lasseigne BN, Petrovski S, Sapp PC, Dion PA, Leblond CS, et al. Exome sequencing in amyotrophic lateral sclerosis identifies risk genes and pathways. *Science*. 27 mars 2015;347(6229):1436-41.
56. Cooper-Knock J, Moll T, Ramesh T, Castelli L, Beer A, Robins H, et al. Mutations in the Glycosyltransferase Domain of GLT8D1 Are Associated with Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cell Rep*. 26 févr 2019;26(9):2298-2306.e5.
57. Cox SN, Lo Giudice C, Lavecchia A, Poeta ML, Chiara M, Picardi E, et al. Mitochondrial and Nuclear DNA Variants in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Enrichment in the Mitochondrial Control Region and Sirtuin Pathway Genes in Spinal Cord Tissue. *Biomolecules*. 28 mars 2024;14(4):411.
58. Daoud H, Zhou S, Noreau A, Sabbagh M, Belzil V, Dionne-Laporte A, et al. Exome sequencing reveals SPG11 mutations causing juvenile ALS. *Neurobiol Aging*. avr 2012;33(4):839.e5-9.
59. Dekker AM, Diekstra FP, Pulit SL, Tazelaar GHP, van der Spek RA, van Rheenen W, et al. Exome array analysis of rare and low frequency variants in amyotrophic lateral sclerosis. *Sci Rep*. 11 avr 2019;9(1):5931.

60. Deng J, Wu W, Xie Z, Gang Q, Yu M, Liu J, et al. Novel and Recurrent Mutations in a Cohort of Chinese Patients With Young-Onset Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Neurosci.* 2019;13:1289.
61. Dhakal B, Sapkota S, Parajuli A, Khadka B, Subedi B, Paudel R, et al. A novel TFG variant of uncertain significance in amyotrophic lateral sclerosis: A case report and review of literature. *Ann Med Surg (Lond).* déc 2022;84:104840.
62. Dobson-Stone C, Luty AA, Thompson EM, Blumbergs P, Brooks WS, Short CL, et al. Frontotemporal dementia-amyotrophic lateral sclerosis syndrome locus on chromosome 16p12.1-q12.2: genetic, clinical and neuropathological analysis. *Acta Neuropathol.* avr 2013;125(4):523-33.
63. Dohrn MF, Beijer D, Lone MA, Bayraktar E, Oflazer P, Orbach R, et al. Recurrent de-novo gain-of-function mutation in SPTLC2 confirms dysregulated sphingolipid production to cause juvenile amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 14 févr 2024;95(3):201-5.
64. Dols-Icardo O, García-Redondo A, Rojas-García R, Borrego-Hernández D, Illán-Gala I, Muñoz-Blanco JL, et al. Analysis of known amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia genes reveals a substantial genetic burden in patients manifesting both diseases not carrying the C9ORF72 expansion mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* févr 2018;89(2):162-8.
65. Dong S, Yin X, Wang K, Yang W, Li J, Wang Y, et al. Presence of Rare Variants is Associated with Poorer Survival in Chinese Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Phenomics.* avr 2023;3(2):167-81.
66. Dratch L, Bardakjian TM, Johnson K, Babaian N, Gonzalez-Alegre P, Elman L, et al. The Importance of Offering Exome or Genome Sequencing in Adult Neuromuscular Clinics. *Biology (Basel).* 2 févr 2024;13(2):93.
67. Farhan SMK, Howrigan DP, Abbott LE, Klim JR, Topp SD, Byrnes AE, et al. Exome sequencing in amyotrophic lateral sclerosis implicates a novel gene, DNAJC7, encoding a heat-shock protein. *Nat Neurosci.* déc 2019;22(12):1966-74.
68. Feró O, Varga D, Nagy É, Karányi Z, Sipos É, Engelhardt J, et al. DNA methylome, R-loop and clinical exome profiling of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Sci Data.* 24 janv 2024;11(1):123.
69. Fifita JA, Williams KL, McCann EP, O'Brien A, Bauer DC, Nicholson GA, et al. Mutation analysis of MATR3 in Australian familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging.* mars 2015;36(3):1602.e1-2.

70. Funayama M, Ohe K, Amo T, Furuya N, Yamaguchi J, Saiki S, et al. CHCHD2 mutations in autosomal dominant late-onset Parkinson's disease: a genome-wide linkage and sequencing study. *Lancet Neurol.* mars 2015;14(3):274-82.
71. García JC, Bustos RH. The Genetic Diagnosis of Neurodegenerative Diseases and Therapeutic Perspectives. *Brain Sci.* 13 déc 2018;8(12):222.
72. Garton FC, Benyamin B, Zhao Q, Liu Z, Gratten J, Henders AK, et al. Whole exome sequencing and DNA methylation analysis in a clinical amyotrophic lateral sclerosis cohort. *Mol Genet Genomic Med.* juill 2017;5(4):418-28.
73. Gibson SB, Downie JM, Tsetsou S, Feusier JE, Figueroa KP, Bromberg MB, et al. The evolving genetic risk for sporadic ALS. *Neurology.* 18 juill 2017;89(3):226-33.
74. Gkazi SA, Troakes C, Topp S, Miller JW, Vance CA, Sreedharan J, et al. Striking phenotypic variation in a family with the P506S UBQLN2 mutation including amyotrophic lateral sclerosis, spastic paraplegia, and frontotemporal dementia. *Neurobiol Aging.* janv 2019;73:229.e5-229.e9.
75. Goldstein O, Kedmi M, Gana-Weisz M, Twito S, Nefussy B, Vainer B, et al. Rare homozygosity in amyotrophic lateral sclerosis suggests the contribution of recessive variants to disease genetics. *J Neurol Sci.* 15 juill 2019;402:62-8.
76. Goldstein O, Nayshool O, Nefussy B, Traynor BJ, Renton AE, Gana-Weisz M, et al. OPTN 691\_692insAG is a founder mutation causing recessive ALS and increased risk in heterozygotes. *Neurology.* 2 févr 2016;86(5):446-53.
77. Gonzalez-Perez P, Woehlbier U, Chian RJ, Sapp P, Rouleau GA, Leblond CS, et al. Identification of rare protein disulfide isomerase gene variants in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Gene.* 25 juill 2015;566(2):158-65.
78. Goossens R, van den Boogaard ML, Lemmers RJLF, Balog J, van der Vliet PJ, Willemsen IM, et al. Intronic SMCHD1 variants in FSHD: testing the potential for CRISPR-Cas9 genome editing. *J Med Genet.* déc 2019;56(12):828-37.
79. Gratten J, Zhao Q, Benyamin B, Garton F, He J, Leo PJ, et al. Whole-exome sequencing in amyotrophic lateral sclerosis suggests NEK1 is a risk gene in Chinese. *Genome Med.* 17 nov 2017;9(1):97.
80. Gu X, Chen Y, Wei Q, Hou Y, Cao B, Zhang L, et al. Rare CYLD Variants in Chinese Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Genet.* 2021;12:740052.
81. He D, Liu Y, Dong S, Shen D, Yang X, Hao M, et al. The prognostic value of systematic genetic screening in amyotrophic lateral sclerosis patients. *J Neurol.* mars 2024;271(3):1385-96.

82. He D, Shang L, Liu Q, Shen D, Sun X, Cai Z, et al. Association of apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 allele and amyotrophic lateral sclerosis in Chinese population. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* août 2022;23(5-6):399-406.
83. He J, Fu J, Fan D. The complement C7 variant rs3792646 is associated with amyotrophic lateral sclerosis in a Han Chinese population. *Neurobiol Aging.* mars 2021;99:103.e1-103.e7.
84. He J, Ma X, Yu W, Tang L, Fu J, Liu X, et al. Validation of the pathogenic role of rare DNAJC7 variants in Chinese patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging.* oct 2021;106:314.e1-314.e6.
85. He S, He XX, Yang HQ, Zhang JW, Chen S. Two new cases with the UBQLN2 gene mutation in Han Chinese. *Neurol Sci.* 28 juin 2024;
86. Heo K, Lim SM, Nahm M, Kim YE, Oh KW, Park HT, et al. A De Novo RAPGEF2 Variant Identified in a Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis Patient Impairs Microtubule Stability and Axonal Mitochondria Distribution. *Exp Neurobiol.* déc 2018;27(6):550-63.
87. Hop PJ, Lai D, Keagle PJ, Baron DM, Kenna BJ, Kooyman M, et al. Systematic rare variant analyses identify RAB32 as a susceptibility gene for familial Parkinson's disease. *Nat Genet.* juill 2024;56(7):1371-6.
88. Hu N, Zhang L, Shen D, Yang X, Liu M, Cui L. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis-associated genetic variants: a clinic-based study. *Neurol Sci.* avr 2024;45(4):1515-22.
89. Huang L, Liu Z, Yuan Y, Shen L, Jiang H, Tang B, et al. Mutation analysis of MFSD8 in an amyotrophic lateral sclerosis cohort from mainland China. *Eur J Neurosci.* févr 2021;53(4):1197-206.
90. Iacoangeli A, Al Khleifat A, Sproviero W, Shatunov A, Jones AR, Opie-Martin S, et al. ALSgeneScanner: a pipeline for the analysis and interpretation of DNA sequencing data of ALS patients. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* mai 2019;20(3-4):207-15.
91. Johnson JO, Chia R, Miller DE, Li R, Kumaran R, Abramzon Y, et al. Association of Variants in the SPTLC1 Gene With Juvenile Amyotrophic Lateral Sclerosis. *JAMA Neurol.* oct 2021;78(10):1-13.
92. Johnson JO, Mandrioli J, Benatar M, Abramzon Y, Van Deerlin VM, Trojanowski JQ, et al. Exome sequencing reveals VCP mutations as a cause of familial ALS. *Neuron.* 9 déc 2010;68(5):857-64.
93. Johnson JO, Pioro EP, Boehringer A, Chia R, Feit H, Renton AE, et al. Mutations in the Matrin 3 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci.* mai 2014;17(5):664-6.

94. Khani M, Nafissi S, Shamshiri H, Moazzeni H, Taheri H, Elahi E. Identification of RNF13 as cause of recessively inherited ALS in a multi-case pedigree. *J Med Genet.* 25 juill 2022;jmedgenet-2022-108645.
95. Kim J, Liao YH, Ionita C, Bale AE, Darras B, Acsadi G. Mitochondrial Membrane Protein-Associated Neurodegeneration Mimicking Juvenile Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Pediatr Neurol.* nov 2016;64:83-6.
96. K ro lu  , Yılmaz R, Sorgun MH, Solako lu S,  ener  . GNE missense mutation in recessive familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neurogenetics.* d c 2017;18(4):237-43.
97. Labb  C, Rayaprolu S, Soto-Ortolaza A, Ogaki K, Uitti RJ, Wszolek ZK, et al. Investigating FUS variation in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* janv 2014;20 Suppl 1(01):S147-149.
98. Le Ber I, Camuzat A, Guerreiro R, Bouya-Ahmed K, Bras J, Nicolas G, et al. SQSTM1 mutations in French patients with frontotemporal dementia or frontotemporal dementia with amyotrophic lateral sclerosis. *JAMA Neurol.* nov 2013;70(11):1403-10.
99. Leblond CS, Gan-Or Z, Spiegelman D, Laurent SB, Szuto A, Hodgkinson A, et al. Replication study of MATR3 in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging.* janv 2016;37:209.e17-209.e21.
100. Leblond CS, Kaneb HM, Dion PA, Rouleau GA. Dissection of genetic factors associated with amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol.* d c 2014;262 Pt B:91-101.
101. Leoni TB, Gonz lez-Salazar C, Rezende TJR, Hern ndez ALC, Mattos AHB, Coimbra Neto AR, et al. A Novel Multisystem Proteinopathy Caused by a Missense ANXA11 Variant. *Ann Neurol.* ao t 2021;90(2):239-52.
102. Li C, Lin J, Gu X, Hou Y, Liu K, Jiang Q, et al. Mutation Screening of TFG in  $\alpha$ -Synucleinopathy and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Mov Disord.* ao t 2022;37(8):1756-61.
103. Li H, Xuan T, Xu T, Yang J, Cheng J, Wang Z. SIGMAR1 variants in ALS-PD complex cases: a case report of a novel mutation and literature review. *Front Neurol.* 2023;14:1242472.
104. Li W, Liu Z, Sun W, Yuan Y, Hu Y, Ni J, et al. Mutation analysis of GLT8D1 and ARPP21 genes in amyotrophic lateral sclerosis patients from mainland China. *Neurobiol Aging.* janv 2020;85:156.e1-156.e4.
105. Liao P, Yuan Y, Liu Z, Hou X, Li W, Wen J, et al. Association of variants in the KIF1A gene with amyotrophic lateral sclerosis. *Transl Neurodegener.* 26 oct 2022;11:46.
106. Libonati L, Cambieri C, Colavito D, Moret F, D'Andrea E, Del Giudice E, et al. Genetics screening in an Italian cohort of patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis: the importance of early testing and its implication. *J Neurol.* avr 2024;271(4):1921-36.

107. Lim SM, Kim YE, Choi WJ, Oh KW, Noh MY, Kwon MS, et al. CLEC4C p.K210del variant causes impaired cell surface transport in plasmacytoid dendritic cells of amyotrophic lateral sclerosis. *Oncotarget*. 3 mai 2016;7(18):24942-9.
108. Liu Q, Shu S, Wang RR, Liu F, Cui B, Guo XN, et al. Whole-exome sequencing identifies a missense mutation in hnRNPA1 in a family with flail arm ALS. *Neurology*. 25 oct 2016;87(17):1763-9.
109. McCann EP, Fifita JA, Grima N, Galper J, Mehta P, Freckleton SE, et al. Genetic and immunopathological analysis of CHCHD10 in Australian amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia and transgenic TDP-43 mice. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. févr 2020;91(2):162-71.
110. Mentis AFA, Vlachakis D, Papakonstantinou E, Zaganas I, Patrinos GP, Chrousos GP, et al. A novel variant in DYNC1H1 could contribute to human amyotrophic lateral sclerosis-frontotemporal dementia spectrum. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*. févr 2022;8(2):a006096.
111. Millecamps S, De Septenville A, Teyssou E, Daniau M, Camuzat A, Albert M, et al. Genetic analysis of matrin 3 gene in French amyotrophic lateral sclerosis patients and frontotemporal lobar degeneration with amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurobiol Aging*. déc 2014;35(12):2882.e13-2882.e15.
112. Müller K, Brenner D, Weydt P, Meyer T, Grehl T, Petri S, et al. Comprehensive analysis of the mutation spectrum in 301 German ALS families. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. août 2018;89(8):817-27.
113. Müller K, Oh KW, Nordin A, Panthi S, Kim SH, Nordin F, et al. De novo mutations in SOD1 are a cause of ALS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. févr 2022;93(2):201-6.
114. Nahm M, Lim SM, Kim YE, Park J, Noh MY, Lee S, et al. ANXA11 mutations in ALS cause dysregulation of calcium homeostasis and stress granule dynamics. *Sci Transl Med*. 21 oct 2020;12(566):eaax3993.
115. Naruse H, Ishiura H, Esaki K, Mitsui J, Satake W, Greimel P, et al. SPTLC2 variants are associated with early-onset ALS and FTD due to aberrant sphingolipid synthesis. *Ann Clin Transl Neurol*. avr 2024;11(4):946-57.
116. Naruse H, Ishiura H, Mitsui J, Takahashi Y, Matsukawa T, Tanaka M, et al. Burden of rare variants in causative genes for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) accelerates age at onset of ALS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. mai 2019;90(5):537-42.
117. Oliveira D, Morales-Vicente DA, Amaral MS, Luz L, Sertié AL, Leite FS, et al. Different gene expression profiles in iPSC-derived motor neurons from ALS8 patients with variable clinical courses suggest mitigating pathways for neurodegeneration. *Hum Mol Genet*. 3 juin 2020;29(9):1465-75.

118. Olsen CG, Busk ØL, Aanjesen TN, Alstadhaug KB, Bjørnå IK, Braathen GJ, et al. Genetic Epidemiology of Amyotrophic Lateral Sclerosis in Norway: A 2-Year Population-Based Study. *Neuroepidemiology*. 2022;56(4):271-82.
119. Olsen CG, Busk ØL, Holla ØL, Tveten K, Holmøy T, Tysnes OB, et al. Genetic overlap between ALS and other neurodegenerative or neuromuscular disorders. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. févr 2024;25(1-2):177-87.
120. Osmanovic A, Förster A, Widjaja M, Auber B, Das AM, Christians A, et al. A SUMO4 initiator codon variant in amyotrophic lateral sclerosis reduces SUMO4 expression and alters stress granule dynamics. *J Neurol*. sept 2022;269(9):4863-71.
121. Osmanovic A, Gogol I, Martens H, Widjaja M, Müller K, Schreiber-Katz O, et al. Heterozygous DHTKD1 Variants in Two European Cohorts of Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients. *Genes (Basel)*. 29 déc 2021;13(1):84.
122. Osmanovic A, Rangnau I, Kosfeld A, Abdulla S, Janssen C, Auber B, et al. FIG4 variants in central European patients with amyotrophic lateral sclerosis: a whole-exome and targeted sequencing study. *Eur J Hum Genet*. févr 2017;25(3):324-31.
123. Rademakers R, van Blitterswijk M. Excess of rare damaging TUBA4A variants suggests cytoskeletal defects in ALS. *Neuron*. 22 oct 2014;84(2):241-3.
124. Roggenbuck J, Quick A, Kolb SJ. Genetic testing and genetic counseling for amyotrophic lateral sclerosis: an update for clinicians. *Genet Med*. mars 2017;19(3):267-74.
125. Russell KL, Downie JM, Gibson SB, Tsetsou S, Keefe MD, Duran JA, et al. Pathogenic Effect of TP73 Gene Variants in People With Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology*. 19 juill 2021;97(3):e225-35.
126. Shen D, Yang X, He D, Zhang K, Liu S, Sun X, et al. Clinical and genetic characteristics of 1672 cases of amyotrophic lateral sclerosis in China: a single-center retrospective study. *J Neurol*. 19 juin 2024;
127. Smith BN, Ticozzi N, Fallini C, Gkazi AS, Topp S, Kenna KP, et al. Exome-wide rare variant analysis identifies TUBA4A mutations associated with familial ALS. *Neuron*. 22 oct 2014;84(2):324-31.
128. Spataro R, Kousi M, Farhan SMK, Willer JR, Ross JP, Dion PA, et al. Mutations in ATP13A2 (PARK9) are associated with an amyotrophic lateral sclerosis-like phenotype, implicating this locus in further phenotypic expansion. *Hum Genomics*. 16 avr 2019;13(1):19.
129. Steinberg KM, Yu B, Koboldt DC, Mardis ER, Pamphlett R. Exome sequencing of case-unaffected-parents trios reveals recessive and de novo genetic variants in sporadic ALS. *Sci Rep*. 16 mars 2015;5:9124.

130. Synofzik M, Otto M, Ludolph A, Weishaupt JH. [Genetic architecture of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia : Overlap and differences]. *Nervenarzt*. juill 2017;88(7):728-35.
131. Tábuas-Pereira M, Santana I, Gibbons E, Paquette K, Almeida MR, Baldeiras I, et al. Exome Sequencing of a Portuguese Cohort of Frontotemporal Dementia Patients: Looking Into the ALS-FTD Continuum. *Front Neurol*. 7 juill 2022;13:886379.
132. Tarr IS, McCann EP, Benyamin B, Peters TJ, Twine NA, Zhang KY, et al. Monozygotic twins and triplets discordant for amyotrophic lateral sclerosis display differential methylation and gene expression. *Sci Rep*. 4 juin 2019;9(1):8254.
133. Teyssou E, Muratet F, Amador MDM, Ferrien M, Lautrette G, Machat S, et al. Genetic screening of ANXA11 revealed novel mutations linked to amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*. mars 2021;99:102.e11-102.e20.
134. Teyssou E, Vandenberghe N, Moigneu C, Boillée S, Couratier P, Meininger V, et al. Genetic analysis of SS18L1 in French amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*. mai 2014;35(5):1213.e9-1213.e12.
135. Udine E, Jain A, van Blitterswijk M. Advances in sequencing technologies for amyotrophic lateral sclerosis research. *Mol Neurodegener*. 13 janv 2023;18(1):4.
136. van der Zee J, Dillen L, Baradaran-Heravi Y, Gossye H, Koçoğlu C, Cuyt I, et al. Family-based exome sequencing identifies RBM45 as a possible candidate gene for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis*. août 2021;156:105421.
137. van Doormaal PTC, Ticozzi N, Weishaupt JH, Kenna K, Diekstra FP, Verde F, et al. The role of de novo mutations in the development of amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mutat*. nov 2017;38(11):1534-41.
138. Vinciguerra C, Di Fonzo A, Monfrini E, Ronchi D, Cuoco S, Piscosquito G, et al. Case report: Asp194Ala variant in MFN2 is associated with ALS-FTD in an Italian family. *Front Genet*. 2023;14:1235887.
139. White MA, Sreedharan J. Amyotrophic lateral sclerosis: recent genetic highlights. *Curr Opin Neurol*. oct 2016;29(5):557-64.
140. Williams KL, Topp S, Yang S, Smith B, Fifita JA, Warraich ST, et al. CCNF mutations in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *Nat Commun*. 15 avr 2016;7:11253.
141. Williams KL, Warraich ST, Yang S, Solski JA, Fernando R, Rouleau GA, et al. UBQLN2/ubiquilin 2 mutation and pathology in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Aging*. oct 2012;33(10):2527.e3-10.

142. Wu CH, Fallini C, Ticozzi N, Keagle PJ, Sapp PC, Piotrowska K, et al. Mutations in the profilin 1 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*. 23 août 2012;488(7412):499-503.
143. Yilmaz R, Müller K, Brenner D, Volk AE, Borck G, Hermann A, et al. SQSTM1/p62 variants in 486 patients with familial ALS from Germany and Sweden. *Neurobiol Aging*. mars 2020;87:139.e9-139.e15.
144. Yilmaz R, Weishaupt K, Valkadinov I, Knehr A, Brenner D, Weishaupt JH. Quadruple genetic variants in a sporadic ALS patient. *Mol Genet Genomic Med*. juill 2022;10(7):e1953.
145. Zhang X, Gao J, Chi C, Zhao Z, Chan P, Ma J. An atypical ALS with PSP-like symptoms caused by ANXA11 p.D40G mutation: A case report and literature review. *Front Neurol*. 2023;14:1086264.
146. Zhong J, Wang C, Zhang D, Yao X, Zhao Q, Huang X, et al. PCDHA9 as a candidate gene for amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Commun*. 11 mars 2024;15(1):2189.
147. Zou ZY, Chen SD, Feng SY, Liu CY, Cui M, Chen SF, et al. Familial flail leg ALS caused by PFN1 mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. févr 2020;91(2):223-4.
148. Taylor JP, Brown RH Jr, Cleveland DW. Decoding ALS: from genes to mechanism. *Nat Rev Neurol*. 2016;12(11):711–723.
149. Chia R, Chiò A, Traynor BJ. Novel genes associated with amyotrophic lateral sclerosis: diagnostic and clinical implications. *Lancet Neurol*. 2018;17(1):94–102.
150. Saccon RA, Bunton-Stasyshyn RK, Fisher EM, Fratta P. Is SOD1 loss of function involved in amyotrophic lateral sclerosis?. *Brain*. 2013;136(8):2342–2358.
151. Wang Q, Johnson JL, Agar NYR, Agar JN. Protein aggregation and neurodegeneration in ALS: SOD1 A4V mutation. *Antioxidants*. 2022;11(4):614.
152. Andersen PM et al. Phenotypic heterogeneity in ALS associated with mutations in SOD1. *PNAS*. 1995;92(10):4120–4124.
153. DeJesus-Hernandez M, et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes ALS and FTD. *Neuron*. 2011;72(2):245–256.
154. Dobson-Stone C, Hallupp M, Bartley L, Shepherd CE, Halliday GM, Schofield PR, Hodges JR, Kwok JB. C9ORF72 repeat expansion in clinical and neuropathologic frontotemporal dementia cohorts. *Neurology*. 2012 Sep 4;79(10):995-1001.
155. Grassano M, Brodini G, De Marco G, Casale F, Fuda G, Salamone P, Brunetti M, Sbaiz L, Gallone S, Cugnasco P, Bombaci A, Vasta R, Manera U, Canosa A, Moglia C, Calvo A, Traynor BJ, Chio A. Phenotype Analysis of Fused in Sarcoma Mutations in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurol Genet*. 2022 Sep 12;8(5):e200011.

156. Al-Chalabi A, Hardiman O. The epidemiology of ALS: a conspiracy of genes, environment and time. *Nat Rev Neurol*. 2013;9(11):617–628.
157. Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A, Corr EM, Logroscino G, Robberecht W, Shaw PJ, Simmons Z, van den Berg LH. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Oct 5;3:17071.
158. Turner MR, Bowser R, Bruijn L, Dupuis L, Ludolph A, McGrath M, Manfredi G, Maragakis N, Miller RG, Pullman SL, Rutkove SB, Shaw PJ, Shefner J, Fischbeck KH. Mechanisms, models and biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2013 May;14 Suppl 1(0 1):19-32.
159. Shi P, Gal J, Kwinter DM, Liu X, Zhu H. Mitochondrial dysfunction is a converging point of multiple pathological pathways in amyotrophic lateral sclerosis. *J Alzheimers Dis*. 2010;20 Suppl 2:S311–24.
160. Van Den Bosch L, Van Damme P, Bogaert E, Robberecht W. The role of excitotoxicity in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Nov–Dec;1762(11–12):1068–1082.
161. Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, Bruce J, Schuck T, Grossman M, Clark CM, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 2006;314(5796):130–133.
162. Philips T, Robberecht W. Neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: Role of glial activation in motor neuron disease. *Lancet Neurol*. 2011 Mar;10(3):253–263.
163. Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire (ANPGM). Fiche de prescription – Sclérose latérale amyotrophique (FiLSlan). 2019 [Internet]. Disponible sur: [https://anpgm.fr/media/documents/anpgm\\_134-filslan-sclerose\\_laterale\\_amyotrophique.pdf](https://anpgm.fr/media/documents/anpgm_134-filslan-sclerose_laterale_amyotrophique.pdf)
164. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet*. 2016;17(6):333-351.
165. Illumina. Sequencing Technology. Disponible sur : <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/sequencing-technology.html>
166. Thermo Fisher Scientific. Ion Torrent Next-Generation Sequencing Technology. Available from: <https://www.thermofisher.com/us/en/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing/ion-torrent-next-generation-sequencing-technology.html>
167. Pacific Biosciences. How HiFi Sequencing Works. Available from: <https://www.pacb.com/technology/hifi-sequencing/how-it-works/>

168. Oxford Nanopore Technologies. How nanopore sequencing works. Disponible sur : <https://nanoporetech.com/platform/technology>
169. Skrabanek, L. (2020). Analysis of Next Generation Sequencing Data: Alignment of NGS Data. Weill Cornell Medicine. Disponible sur : [https://physiology.med.cornell.edu/faculty/skrabanek/lab/angsd/lecture\\_notes/05\\_lecture.pdf](https://physiology.med.cornell.edu/faculty/skrabanek/lab/angsd/lecture_notes/05_lecture.pdf)
170. Kosugi S, Terao C. Comparative evaluation of SNVs, indels, and structural variations detected with short- and long-read sequencing data. *Hum Genome Var.* 2024 Apr 17;11(1):18.
171. 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.* 2015;17(5):405–24.
172. Xue, Y., Ankala, A., Wilcox, W. et al. Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exome/genome sequencing. *Genet Med* 17, 444–451 (2015).
173. Yaldiz B, Kucuk E, Hampstead J, Hofste T, Pfundt R, Corominas Galbany J, et al. Twist exome capture allows for lower average sequence coverage in clinical exome sequencing. *Hum Genomics.* 2023;17(1):39
174. Büyüköz M, Gültekin M, Öztürk A, et al. Investigation of some variations of superoxide dismutase gene family in Turkish sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients. *Brain Disorders.* 2021;3:100026.
175. He D, He X, Shen D, Liu L, Yang X, Hao M, Wang Y, Li Y, Liu Q, Liu M, Wang J, Zhang X, Cui L. Loss-of-function variants in RNA binding motif protein X-linked induce neuronal defects contributing to amyotrophic lateral sclerosis pathogenesis. *MedComm* (2020). 2024 Sep 10;5(9):e712.
176. Nicaise C, Soyfoo MS, Authelet M, De Decker R, Bataveljic D, Delporte C, Pochet R. Aquaporin-4 overexpression in rat ALS model. *Anat Rec (Hoboken).* 2009 Feb;292(2):207-13.
177. Livneh I, Moshitch-Moshkovitz S, Amariglio N, Rechavi G, Dominissini D. The m(6)A epitranscriptome: transcriptome plasticity in brain and its implications in health and disease. *eNeuro.* 2020;7(5):ENEURO.0125-20.2020.
178. Chang Y, Lee Y, Kim S, et al. The role and regulatory mechanism of m6A methylation in neurological diseases. *Front Genet.* 2022;13:962774.
179. Du Y, Zhang Y, Zhang Y, et al. USP1/UAF1-Stabilized METTL3 Promotes Reactive Astrocytes after Spinal Cord Injury. *J Neurosci.* 2023;43(9):1456-1468.

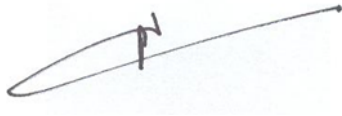
180. Yang J, Wu X, Song Y. Recent advances in novel mutation genes of Parkinson's disease. *J Neurol*. 2023 Aug;270(8):3723-3732.
181. Lin, C.H.; Tsai, P.I.; Lin, H.Y.; Hattori, N.; Funayama, M.; Jeon, B.; Sato, K.; Abe, K.; Mukai, Y.; Takahashi, Y.; et al. Mitochondrial UQCRC1 mutations cause autosomal dominant parkinsonism with polyneuropathy. *Brain* 2020, 143, 3352–3373
182. Cookson MR. Leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) and Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci*. 2017;18(5):297–308.
183. Wszolek ZK, Vieregge P, Uitti RJ, Gasser T, Yasuhara O, McGeer P, Berry K, Calne DB, Vingerhoets FJG, Klein C, Pfeiffer RF (1997) German-Canadian family (family A) with parkinsonism, amyotrophy, and dementia: longitudinal observations. *Parkinsonism Relat Disord* 3:125–139
184. Zimprich A, Biskup S, Leitner P, Lichtner P, Farrer M, Lincoln S, Kachergus J, Hulihan M, Uitti RJ, Calne DB, Stoessl AJ, Pfeiffer RF, Patenge N, Carbajal IC, Vieregge P, Asmus F, Müller-Myhsok B, Dickson DW, Meitinger T, Strom TM, Wszolek ZK, Gasser T. Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron*. 2004 Nov 18;44(4):601–607
185. Naruse H, Ishiura H, Mitsui J, et al. Juvenile amyotrophic lateral sclerosis with complex phenotypes associated with novel SYNE1 mutations. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2020;22(4):576-578.
186. Nadaf SN, et al. SYNE1 ataxia with amyotrophic lateral sclerosis-like presentation: a novel SYNE1 gene deletion mutation from India. *Ann Indian Acad Neurol*. 2019;22(4):445-449.
187. Synofzik M, Smets K, Mallaret M, et al. SYNE1 ataxia is a common recessive ataxia with major non-cerebellar features: a large multi-centre study. *Brain*. 2016;139(10):2816-2830.
188. Cohen BH, Chinnery PF, Copeland WC. POLG-Related Disorders. 2010 Mar 16 [Updated 2024 Feb 29]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2025. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26471/?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26471/?utm_source=chatgpt.com)
189. Scuderi C, Borgione E, Castello F, Lo Giudice M, Santa Paola S, Giambirtone M, Di Blasi FD, Elia M, Amato C, Città S, Gagliano C, Barbarino G, Vitello GA, Musumeci SA. The in cis T251I and P587L POLG1 base changes: description of a new family and literature review. *Neuromuscul Disord*. 2015 Apr;25(4):333-9.
190. Renton AE, Chio A, Traynor BJ. State of play in amyotrophic lateral sclerosis genetics. *Lancet Neurol*. 2014;13(11):1128-1138. doi:10.1016/S1474-4422(14)70189-7.
191. Brown RH, Al-Chalabi A. Amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med*. 2017;377(2):162-172. doi:10.1056/NEJMra1603471.

192. DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron*. 2011;72(2):245-256.
193. Fondation Vaincre Alzheimer. Quelques chiffres sur la maladie d'Alzheimer [Internet]. Paris: FVA; 2020 [cité 2025-09-17]. Disponible sur: <https://www.vaincrealzheimer.org/la-maladie/quelques-chiffres>
194. Santé publique France. Maladie de Parkinson [Internet]. Saint-Maurice: SPF; 2020 [cité 2025-09-17]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-liees-au-travail/maladie-de-parkinson/donnees>
195. Suteau A, Maurel F, Hossu G, Desaphy JF, Nicole A, Labauge P, et al. Epidemiology of myasthenia gravis in France: A nationwide population-based study using the French national health data system (2008–2018). *Rev Neurol (Paris)*. 2024;180(1-2):9-17.
196. Mah JK, Korngut L, Dykeman J, Day L, Pringsheim T, Jette N. A systematic review and meta-analysis on the epidemiology of Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord*. 2014;24(6):482-91.
197. van Es MA, Hardiman O, Chio A, Al-Chalabi A, Pasterkamp RJ, Veldink JH, van den Berg LH. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*. 2017 Nov 4;390(10107):2084-2098.
198. Project MinE ALS Sequencing Consortium. Project MinE: study design and pilot analyses of a large-scale whole-genome sequencing study in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Hum Genet*. 2018 Oct;26(10):1537-1546.
199. Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, Friez MJ, Funke BH, Hegde MR, Lyon E; Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med*. 2013 Sep;15(9):733-47.
200. Couratier P, Lautrette G, Luna JA, Corcia P. Phenotypic variability in amyotrophic lateral sclerosis. *Rev Neurol (Paris)*. 2021 May;177(5):536-543.
201. Kiskinis E, Kralj JM, Zou P, Weinstein EN, Zhang H, Tsioras K, Wiskow O, Ortega JA, Eggan K, Cohen AE. All-Optical Electrophysiology for High-Throughput Functional Characterization of a Human iPSC-Derived Motor Neuron Model of ALS. *Stem Cell Reports*. 2018 Jun 5;10(6):1991-2004
202. Brooks IR, Garrone CM, Kerins C, Kiar CS, Syntaka S, Xu JZ, Spagnoli FM, Watt FM. Functional genomics and the future of iPSCs in disease modeling. *Stem Cell Reports*. 2022 May 10;17(5):1033-1047.

203. Sen I, Nalini A, Joshi NB, Joshi PG. Cerebrospinal fluid from amyotrophic lateral sclerosis patients preferentially elevates intracellular calcium and toxicity in motor neurons via AMPA/kainate receptor. *J Neurol Sci.* 2005 Aug 15;235(1-2):45-54.
204. Regoni M, Cattaneo S, Mercatelli D, Novello S, Passoni A, Bagnati R, Davoli E, Croci L, Consalez GG, Albanese F, Zanetti L, Passafaro M, Serratto GM, Di Fonzo A, Valtorta F, Ciammola A, Taverna S, Morari M, Sassone J. Pharmacological antagonism of kainate receptor rescues dysfunction and loss of dopamine neurons in a mouse model of human parkin-induced toxicity. *Cell Death Dis.* 2020 Nov 10;11(11):963.
205. McAlary L, Chew YL, Lum JS, Geraghty NJ, Yerbury JJ, Cashman NR. Amyotrophic Lateral Sclerosis: Proteins, Proteostasis, Prions, and Promises. *Front Cell Neurosci.* 2020 Nov 4;14:581907.
206. Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science.* 2006 Oct 6;314(5796):130-3.
207. Kirola L, Mukherjee A, Mutsuddi M. Recent Updates on the Genetics of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia. *Mol Neurobiol.* 2022 Sep;59(9):5673-5694.
208. Chen EY, Tan CM, Kou Y, Duan Q, Wang Z, Meirelles GV, Clark NR, Ma'ayan A. Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. *BMC Bioinformatics.* 2013; 128(14).
209. Kuleshov MV, Jones MR, Rouillard AD, Fernandez NF, Duan Q, Wang Z, Koplev S, Jenkins SL, Jagodnik KM, Lachmann A, McDermott MG, Monteiro CD, Gundersen GW, Ma'ayan A. Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update. *Nucleic Acids Research.* 2016; gkw377 .
210. Xie Z, Bailey A, Kuleshov MV, Clarke DJB., Evangelista JE, Jenkins SL, Lachmann A, Wojciechowicz ML, Kropiwnicki E, Jagodnik KM, Jeon M, & Ma'ayan A. Gene set knowledge discovery with Enrichr. *Current Protocols*, 1, e90. 2021.
211. Corcia P, Erazo D, Amador MDM, Beltran S, Bernard E, Blasco H, Boutoleau-Bretonniere C, Bruneteau G, Camdessanche JP, Camu W, Cassereau J, Choumert A, Codron P, Cintas P, De La Cruz E, Danel V, Desnuelle C, Eyraud N, Esselin F, Fauret AL, Lefilliatre M, Fleury MC, Genestet S, Grapperon AM, Guy N, Jacquin-Piques A, Beauvais K, Lautrette G, Le Masson G, Mathis S, Piegay AS, Pittion-Vouyovitch S, Sauleau P, Soriani MH, Vershueren A, Mouzat K, Guissart C, Couratier P, Vourc'h P. Prevalence of SOD1 and C9orf72 Variants Among French ALS Population: The GENIALS Study. *Eur J Neurol.* 2025 Aug;32(8):e70302.
212. Zetterberg H, Jacobsson J, Rosengren L, Blennow K, Andersen PM. Association of APOE with age at onset of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 2008 Oct 15;273(1-2):67-9.

Vu, le Directeur de Thèse

Professeur Patrick VOURC'H

A handwritten signature in dark ink, consisting of a stylized, elongated loop followed by a vertical stroke and a small upward tick.

Vu, le Doyen

De la Faculté de Médecine de Tours, l

RICHARD Elodie

136 pages – 2 tableaux – 14 figures – 6 annexes

**Résumé :** La sclérose latérale amyotrophique ou maladie de Charcot est une maladie neurodégénérative caractérisée par une dégénérescence des motoneurones conduisant à une paralysie progressive. Une composante génétique de plus en plus importante est apparue dans cette maladie ces dernières années. Toutefois, chez un nombre significatif de patients, le diagnostic génétique demeure non contributif (absence d'identification d'un variant de classe 3, 4 ou 5 et d'expansion pathologique dans le gène *C9ORF72*), et ce malgré la présence de plusieurs cas familiaux. L'objectif principal de notre travail a été d'étudier par séquençage de l'exome (exons des 22000 gènes du génome) de manière rétrospective un groupe de dix patients atteints de SLA de forme familiale pour lesquels l'approche classique de diagnostic génétique a été négative. Chez les 10 patients étudiés, les séquençages de leurs exomes ont révélé une diversité notable de variants d'intérêt dans les gènes suivants : *SOD3*, *AQP4*, *GPR132*, *UQCRC1*, *LRRK2*, *SYNE1* et *POLG*. Il a été détecté des variants d'intérêt chez 7 patients sur dix. En parallèle de cette approche diagnostique, les variants rares et prédits délétères ont fait l'objet d'une analyse d'enrichissement fonctionnel. Cette analyse par patients, a permis de confirmer la pertinence de variants déjà identifiés et de mettre en évidence de nouveaux variants d'intérêt. L'étude d'enrichissement fonctionnel des variants rares et délétères, réalisée à l'échelle du groupe, a montré que 6 à 7 patients sur dix avaient des variants rares et délétères dans des gènes impliqués dans deux voies biologiques : la modification post traductionnelle des protéines et la réparation de l'ADN. Ainsi, le séquençage de l'exome apparaît comme un outil stratégique très intéressant pour élargir le spectre génétique connu de la SLA, pour affiner le diagnostic des patients, et générer de nouvelles hypothèses physiopathologiques.

**Mots clés :** SLA, exome, motoneurone, variants génétiques

**Jury :**

Président du Jury : Professeur Hélène BLASCO

Directeur de thèse : Professeur Patrick VOUREC'H

Membres du Jury : Professeur Philippe LANOTTE

Docteur Marie-Laure VUILLAUME-WINTER

Docteur Stéphane BELTRAN

Date de soutenance : 27 octobre 2025