

**UNIVERSITÉ DE NANTES**

---

**FACULTÉ DE MÉDECINE**

---

Année : 2020

N°

**THÈSE**

pour le

**DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

**DIPLOME D'ÉTUDES SPECIALISÉES DE GÉNÉTIQUE MÉDICALE**

par

Wallid DEB

Né le 16 octobre 1991 à Mâcon

---

Présentée et soutenue publiquement le 12 octobre 2020

---

**Déficiences intellectuelles syndromiques liées au gène *CUL4B* : description  
phénotypique d'une série de patients et exploration de mécanismes  
physiopathologiques**

---

Président : Monsieur le Professeur Stéphane BÉZIEAU

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Bertrand ISIDOR

# REMERCIEMENTS

---

**À Monsieur le Professeur Stéphane Bézieau**, pour son encadrement et sa disponibilité tout au long de mon cursus hospitalier et universitaire, et pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury. Merci également pour cette capacité à faciliter l'intégration de l'ensemble des internes de génétique médicale dans le cadre diagnostic, recherche, et plus globalement dans l'équipe de génétique médicale nantaise.

**À Monsieur le Docteur Bertrand Isidor**, pour son accueil et ses conseils lors des semestres de génétique clinique. Merci pour ce souci du détail, cette expérience et cet intérêt pour la génétique sous tous ses aspects, partagés en consultation comme en dehors. Merci pour l'intérêt porté à ce travail, et pour avoir accepté de diriger cette thèse.

**À Monsieur le Docteur Sébastien Küry**, qui a su très tôt éveiller en moi l'intérêt pour la recherche fondamentale, avec toujours comme objectif final de servir et soigner les patients. Pour votre bienveillance et votre disponibilité, et pour avoir accepté d'être membre de ce jury.

**À Monsieur le Professeur Cyril Flamant**, qui m'a accueilli comme tout autre interne de pédiatrie lors de mes semestres en néonatalogie. Merci de m'avoir fait confiance, de m'avoir inclus dans le service, et d'avoir accepté d'être membre de ce jury.

**À Monsieur le Professeur Frédéric Ebstein**, pour son hospitalité, sa bienveillance, et sa pédagogie. Merci également pour votre disponibilité malgré la distance, la charge de travail, l'enseignement... Pour cette certitude de recevoir une réponse claire et bienveillante à chacune de mes questions, comme pour avoir accepté d'être membre de ce jury.

**À Monsieur le Docteur Benjamin Cogné**, pour qui la vie vient de prendre une encore plus heureuse tournure. Merci pour ta clarté, tes conseils, et ta bonne humeur. Merci pour cette expérience en biologie moléculaire que tu partages avec l'ensemble de tes collègues.

**À Monsieur le Docteur Thomas Besnard**, dont la patience et l'optimisme m'impressionnent. Merci de prendre le temps même quand tu ne l'as pas, d'essayer même lorsque tu ne l'as jamais fait avant, et d'avoir toujours une solution pour sortir de l'impasse. L'année 2020 n'aura même pas eu raison de ta bonne humeur !

**À Madame la Professeur Sandra Mercier**, pour s'être préoccupée de la formation des internes de génétique de la France entière pendant de nombreuses années. Merci pour tout, et de la part de tous.

**Aux Docteurs Bénêteau, Nizon et Vincent**. Merci pour votre dévouement aux patients, votre compassion et vos capacités à toujours trouver les mots adaptés aux patients et à leurs familles.

**Aux Docteurs Sébastien Schmitt, Kamran Moradkhani**, qui parviennent à jongler entre différentes activités, et trouvent tout de même le temps de nous transmettre leurs savoirs.

**À Marie-Line et Laura**, qui partagent avec les internes leurs expériences, drôles comme sérieuses, et qui témoignent au quotidien leur importance dans la prise en charge des patients en génétique médicale.

**À l'ensemble du service de génétique médicale du CHU de Nantes :** ingénieur(e)s, technicien(ne)s, secrétaires médicales, psychologues... La pluridisciplinarité étant la règle dans notre domaine, la richesse de vos expériences variées et votre cohésion est inspirante.

**À ma famille :**

**Mes parents,** qui ne cessent de croire en moi. Merci d'avoir fait, et de continuer à faire de moi ce que je suis aujourd'hui. Malgré la distance qui nous sépare, je pense à vos enseignements avant chaque décision que je prends, et cela m'a mené exactement où je dois être. Vos valeurs sont irréprochables, et je continuerai de les suivre même dans ce monde qui perd les siennes ! J'essaierai toujours de vous rendre ce que vous m'avez donné, même si cela semble impossible... Merci pour tout.

**À mes sœurs,** dont je suis extrêmement fier. Si être une femme, qui plus est d'origine étrangère, est considéré comme un handicap par certains, vous n'avez jamais trébuché. Vous réalisez des carrières et des vies qui sont un modèle de réussite, et j'estime avoir de la chance d'avoir grandi à vos côtés.

**À Emma,** que je ne pourrai jamais assez remercier pour son soutien inconditionnel. Tu es la personne qui me comprend le mieux, et qui réussit à transformer mes moments de doutes en opportunités... Ta passion pour la psychomotricité fait de toi une professionnelle remarquable, mais tu es une personne exceptionnelle en plus de cela. Je ne sais même pas qui remercier pour notre rencontre qui a changé, et changera à jamais qui je suis. Mes accomplissements sont aussi les tiens...

**À Florence et Daniel.** Parce que vous êtes la définition même de l'ouverture d'esprit, je vous remercie. Vous avez élevé vos enfants dans un des foyers les plus chaleureux que je connaisse, et avez engendré de merveilleux êtres humains, tout aussi précieux que vous.

**À Agathe et Ben.** La famille par extension, on ne la choisit pas, et pourtant si j'avais eu à le faire c'est quand même vous que j'aurai pris. Vous voir heureux ensemble montre que l'on se construit ses propres changements et son propre avenir, comme vous avez choisi d'aider à façonner celui des autres par vos professions. Merci !

**À Zhora, Philippe, Joris et Iliana,** merci pour votre hospitalité à toute épreuve. Même si on ne se voit qu'une fois par an, on sait qu'on est à la maison. Vous êtes les bienvenus à Nantes !

**À ma deuxième famille :**

**Marwan**, avec qui tout prend une dimension plus sereine. Ta quiétude et ton soutien dans toutes les situations sont un havre de paix salvateur. Peintre, pianiste, trader, médecin, pourquoi choisir quand on a toute une vie pour expérimenter. Merci de montrer qu'on peut réussir tout ce que l'on entreprend.

**Moran**, que je n'ai pas vu depuis bien trop longtemps. J'espère avoir été là suffisamment dans les moments difficiles, parce que pour les bons des années de souvenirs me le confirment ! A très bientôt je l'espère, on a du temps à rattraper.

**Tristan**. J'ai vu tous les stades de ton évolution, et crois-moi peu de personnes parviennent à se bonifier autant avec l'âge. Ça doit être tes racines bordelaises ! Merci pour ses années de fiabilité et de support, ton téléphone est un de ceux qui décrochent toujours, peu importe l'urgence.

**À tous les trois, je vous souhaite le meilleur, je sais qu'on continuera d'être aussi proches toute notre vie. Ma porte est toujours ouverte, mes frères.**

**À Beber, Louis et Basile !** Sacrée dream-team rencontrée pendant cet internat ! Merci pour les week-ends de cruising, à réitérer dès que possible !

**À Adeline, Samuel, Solène, Clovis, Leïla, Elise, Silvestre, Claire, Valentin, Raphaël, Flora, Sylvain, Alex, Jessica, Jules et Marie...**et tant d'autres. Vous participez tous à rendre le monde meilleur, mais aussi les gens autour de vous. Je vous remercie pour tous vos conseils, votre aide au CHU et en dehors. Merci pour avoir partagé vos heures et vos rires avec Emma et moi-même. Et surtout merci de continuer !

## LISTE DES ABBREVIATIONS

---

**ACPA/aCGH** : Analyse Chromosomique par Puce à ADN/array-Comparative Genomic Hybridization

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**CRLs** : Cullin-RING ligases

**DI** : Déficience Intellectuelle

**DILX** : Déficience Intellectuelle Liée à l'X

**E2** : Ubiquitine-conjugase

**E3** : Ubiquitine-ligase

**IMC** : Indice de Masse Corporelle

**p** : Percentile (paramètres morphologiques)

**PC** : Périmètre Crânien

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**PND** : Pathologies Neurodéveloppementales

**RCIU** : Retard de Croissance Intra-Utérin

**RPM** : Retard du Développement Psychomoteur

**SD/DS** : Déviation Standard

**SHD** : Séquençage Haut Débit

**SNP** : Single Nucleotide Polymorphism

**SNV** : Single Nucleotide Variant

**TDA(H)** : Trouble du Déficit de l'Attention, avec ou sans Hyperactivité

**TND** : Troubles Neuro-Développementaux

**TSA** : Troubles du Spectre Autistique

**UPS** : Ubiquitin-Proteasome System : système Ubiquitine-Protéasome

**WES** : Whole Exome Sequencing

**WGS** : Whole Genome Sequencing

# TABLE DES MATIÈRES

---

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| REMERCIEMENTS .....                                                       | 1  |
| LISTE DES ABBREVIATIONS .....                                             | 4  |
| TABLE DES MATIÈRES.....                                                   | 5  |
| TABLE DES FIGURES .....                                                   | 7  |
| AVANT-PROPOS.....                                                         | 8  |
| I. INTRODUCTION .....                                                     | 9  |
| A. DEFICIENCE INTELLECTUELLE (DI) .....                                   | 10 |
| 1. <i>Définition</i> .....                                                | 10 |
| 2. <i>Particularités de la déficience intellectuelle liée à l’X</i> ..... | 11 |
| B. SEQUENÇAGE HAUT DEBIT.....                                             | 12 |
| C. LE SYNDROME DE CABEZAS ( <i>MIM 300354</i> ).....                      | 13 |
| D. ASPECT MOLECULAIRE.....                                                | 15 |
| E. LE SYSTEME UBIQUITINE-PROTEASOME .....                                 | 18 |
| F. OBJECTIF .....                                                         | 20 |
| II. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....                                             | 21 |
| A. RECRUTEMENT DE LA COHORTE .....                                        | 21 |
| B. PHOTOGRAPHIES ET DONNEES CLINIQUES.....                                | 22 |
| C. ÉCHANTILLONS BIOLOGIQUES.....                                          | 23 |
| 1. <i>Lysats cellulaires et extraction protéique</i> .....                | 23 |
| 2. <i>Etudes protéiques par Western Blot (WB)</i> .....                   | 23 |
| 3. <i>Évaluation de l’activité protéasomale</i> .....                     | 24 |

|             |                                                       |           |
|-------------|-------------------------------------------------------|-----------|
| <b>III.</b> | <b>RÉSULTATS .....</b>                                | <b>25</b> |
| A.          | DESCRIPTION PHENOTYPIQUE DE LA COHORTE .....          | 25        |
| 1.          | <i>Naissance et développement initial.....</i>        | <i>25</i> |
| 2.          | <i>Examen physique .....</i>                          | <i>27</i> |
| 3.          | <i>Dysmorphie faciale .....</i>                       | <i>30</i> |
| 4.          | <i>Phénotype neurologique et comportemental .....</i> | <i>32</i> |
| B.          | DESCRIPTION MOLECULAIRE DES VARIANTS.....             | 36        |
| C.          | PATIENTE 22 .....                                     | 40        |
| D.          | DELETIONS.....                                        | 41        |
| E.          | EXPLORATIONS BIOLOGIQUES INITIALES .....              | 42        |
| 1.          | <i>Expression de CUL4B .....</i>                      | <i>42</i> |
| 2.          | <i>Activité protéasomale .....</i>                    | <i>43</i> |
| <b>IV.</b>  | <b>DISCUSSION .....</b>                               | <b>44</b> |
| <b>V.</b>   | <b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>                            | <b>50</b> |

## TABLE DES FIGURES

---

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figure 1.</b> Étapes clés du Séquençage Haut Débit. ....                                                                                  | 12 |
| <b>Figure 2.</b> Syndrome de Cabezas (5).....                                                                                                | 13 |
| <b>Figure 3.</b> Description par Isidor et al. d'un patient présentant une délétion de 60kb emportant une partie du gène <i>CUL4B</i> . .... | 14 |
| <b>Figure 4.</b> Représentation schématique d'une Culline (14). ....                                                                         | 16 |
| <b>Figure 5.</b> Représentation schématique d'interactions entre CUL4B et des acteurs du neurodéveloppement.....                             | 17 |
| <b>Figure 6.</b> Schéma de l'UPS.....                                                                                                        | 18 |
| <b>Figure 7.</b> Photographie de patients porteurs de variants <i>CUL4B</i> .....                                                            | 30 |
| <b>Figure 8.</b> Fréquence des signes cliniques principaux. ....                                                                             | 35 |
| <b>Figure 9.</b> Répartitions des signes cliniques principaux dans la cohorte en comparaison avec les descriptions antérieures. ....         | 35 |
| <b>Figure 10.</b> Représentation schématique des variants <i>CUL4B</i> sur le transcrit. ....                                                | 38 |
| <b>Figure 11.</b> Western Blot pour la Cullin-4b chez les patients porteurs de variants tronquants.....                                      | 42 |
| <b>Figure 12.</b> Quantification de l'activité protéasomale chez 3 patients.....                                                             | 43 |

## AVANT-PROPOS

---

La génétique a connu ces dernières décennies un essor sans précédent. Grâce à une connaissance accrue et grandissante des mécanismes régissant la biologie cellulaire, la médecine aspire désormais à une prise en charge personnalisée, adaptée au bagage génétique de chacun. Guidée par une évolution technologique à grande vitesse, la perspective de traitements de précision par modification génique se fait de plus en plus palpable. L'ensemble de la communauté médicale et scientifique prend toutefois conscience de la nécessité d'encadrer ce progrès, aussi prometteur soit-il. Comme la prise en charge des patients nous le rappelle constamment, nous sommes en effet des êtres sociaux, évoluant dans des environnements variés et caractérisés par une diversité culturelle, ethnique ou encore linguistique, qui ne saurait se résumer aux variations du code génétique.

Notre quête de la modernité ne doit pas nous faire perdre de vue l'objectif de la science médicale, qui vise à soigner les maux et non à corriger les imperfections. La richesse des phénotypes et génotypes, qui fait partie intégrante de notre évolution, reste encore largement un mystère.

La génétique médicale a très tôt contribué à l'identification de pathologies rares, notamment neurodéveloppementales avec déficience intellectuelle. Un des meilleurs exemples est l'identification de la cause des patients atteints du syndrome de Down en 1956 par Marthe Gauthier (1,2).

La collaboration entre les cliniciens et les biologistes permet l'identification de nouveaux mécanismes physiopathologiques, avançant la compréhension nécessaire à l'ouverture de perspectives thérapeutiques.

## I. INTRODUCTION

---

L'utilisation du Séquençage Haut-Débit (SHD) à partir des années 2000 a permis l'identification de nombreux gènes en pathologie humaine, et plus particulièrement dans les pathologies neurodéveloppementales avec déficience intellectuelle (DI).

Au sein du service de génétique médicale du CHU de Nantes, la prise en charge des patients atteints de déficience intellectuelle est une activité de première ligne, qui a permis le recrutement des patients initiaux de cette étude. L'activité clinique et moléculaire est en grande partie consacrée à l'identification des causes de retard de développement et/ou de déficience intellectuelle, syndromique ou non.

Les patients rencontrés en consultation de génétique clinique dans cette indication sont en majorité des enfants, qui peuvent bénéficier d'analyses ciblées et/ou pangénomiques en fonction des orientations diagnostiques cliniques, paracliniques et biologiques.

À Nantes, le séquençage de l'exome est pratiqué en routine lorsque la déficience intellectuelle est sévère et/ou qu'un conseil génétique est fortement demandé. L'utilisation de cette technique permet l'identification d'une cause des troubles dans environ 40% des cas (3). L'unité de biologie moléculaire analyse les données de SHD dans le cadre diagnostic et la poursuite des investigations dans le cadre recherche est courante chez les patients pour lesquels une cause moléculaire connue n'est pas retrouvée.

C'est d'ailleurs par le biais du SHD et de l'exome qu'ont été identifiés les premiers patients porteurs de variants *CUL4B* inclus dans la cohorte.

Dans une démarche d'identification des causes moléculaires de DI, l'intérêt de l'équipe du CHU de Nantes a été plus particulièrement porté sur les gènes du système Ubiquitine-Protéasome (*UPS*), sur lequel nous reviendrons brièvement, avant de préciser l'implication potentielle des variants *CUL4B* dans le système UPS.

## A. Déficience Intellectuelle (DI)

### 1. Définition

La déficience intellectuelle fait partie des troubles neurodéveloppementaux (TND), introduits dans le DSM (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*), manuel de référence en psychiatrie.

Dans la dernière définition (*selon le DSM-5, février 2015*), la déficience intellectuelle est une affection débutant pendant la **période développementale** (enfance) et caractérisée par des difficultés affectant les domaines suivants :

- Les **fonctions intellectuelles** telles que le raisonnement, la résolution de problèmes, la planification, la pensée abstraite, le jugement, l'apprentissage académique et l'apprentissage par expérience.
- Le **fonctionnement adaptatif** dont les déficits intervenant chez les enfants les rendent incapables de répondre aux exigences développementales et socioculturelles d'indépendance personnelle et de responsabilité sociale. Sans soutien, les déficits d'adaptation limitent le fonctionnement dans un ou plusieurs domaines de la vie quotidienne, tels que la communication, la participation sociale, les habiletés de vie autonome dans divers environnements, à domicile, dans le milieu scolaire, au travail ou dans la communauté.

Classiquement, la sévérité de la DI était évaluée en utilisant les résultats des tests standardisés du Quotient Intellectuel (QI). Bien que le DSM-5 accorde une importance moins grande à ces tests, ils restent utilisés en pratique et permettent une prise en charge adaptée aux déficits présentés dans chaque domaine de compétence, même indépendamment du résultat global. On retrouve ainsi la classification suivante :

- DI légère :  $50 \leq \text{QI} \leq 70$
- DI modérée :  $35 \leq \text{QI} \leq 50$
- DI sévère :  $20 \leq \text{QI} \leq 35$
- DI profonde :  $\text{QI} \leq 20$

Lors de l'évaluation clinique d'une déficience intellectuelle, il est important d'établir si celle-ci est isolée ou non. Dans le cas où le patient présente des symptômes non

secondaires aux troubles neurodéveloppementaux, tels qu'un retard staturo-pondéral, des malformations viscérales et/ou orthopédiques, une dysmorphie faciale, ou encore une épilepsie, alors la déficience intellectuelle est considérée syndromique.

## 2. Particularités de la déficience intellectuelle liée à l'X

Devant la prévalence plus élevée de la déficience intellectuelle chez les garçons, l'intérêt de la communauté médicale et scientifique s'est porté vers les gènes portés par les chromosomes sexuels et, plus particulièrement par le chromosome X.

L'interprétation des variants survenant sur le chromosome X est plus difficile, et il est souvent nécessaire d'accumuler de nombreux arguments clinico-biologiques afin de classer un variant comme bénin ou au contraire pathogène. Plusieurs situations requièrent ainsi des précautions supplémentaires.

Se pose également la question de la pathogénicité d'un variant lorsque celui-ci est hérité d'une mère saine et que ses caractéristiques moléculaires ne permettent pas de trancher de manière claire. Le cas de figure où une patiente porteuse d'une forme légère de DI transmet un variant de signification inconnue peut également se présenter et rendre difficile l'interprétation de ce variant.

Le processus d'inactivation de l'X ayant lieu dans les cellules portant deux chromosomes X peut également être biaisé et entraîner l'apparition de symptômes quasi-similaires à ceux trouvés chez les garçons chez une patiente.

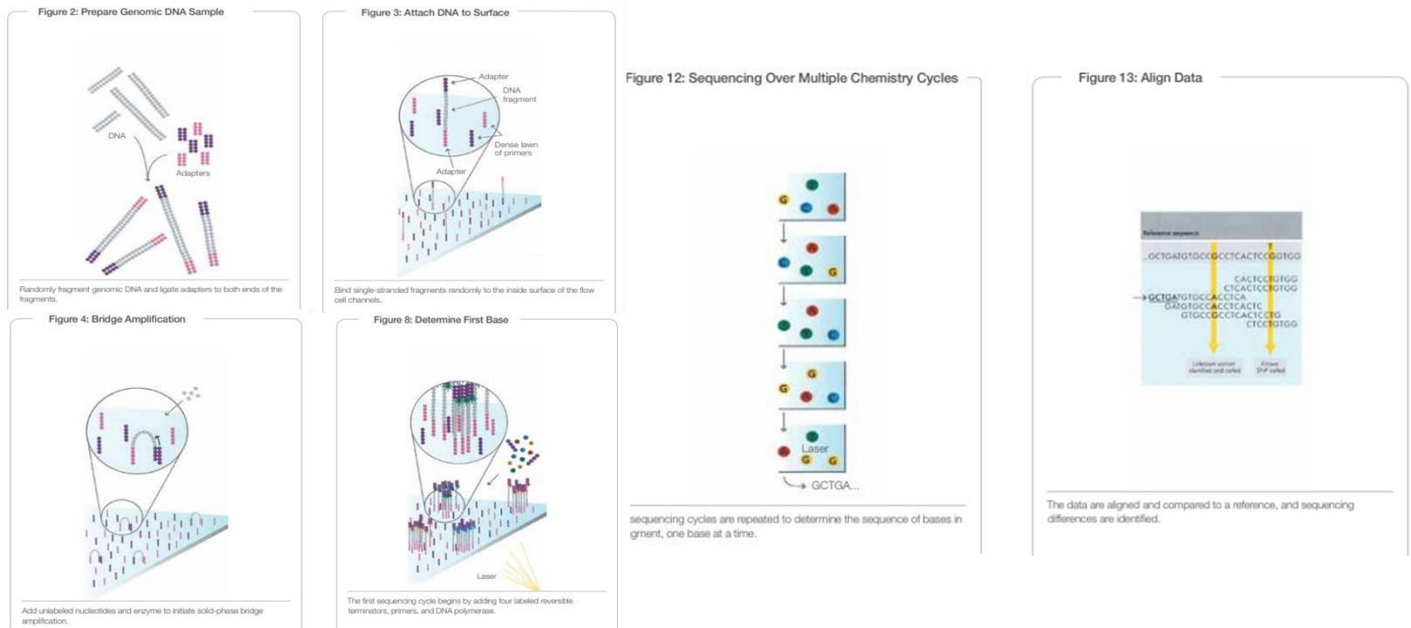
Tout comme la DI liée à des gènes présents sur les autosomes, la DI liée à l'X (DILX) peut être syndromique ou isolée, et actuellement la plus grande partie des causes identifiées entraînent une DILX isolée (4).

Cependant, les gènes incriminés dans la DI syndromique peuvent être identifiés chez des patients présentant des formes beaucoup moins évocatrices sur le plan extra-neurologique. L'expansion phénotypique de pathologies cliniquement caractérisées (syndromes) est en effet de plus en plus fréquente depuis l'utilisation du SHD en pathologie humaine.

Parmi les pathologies responsables de DI liée à l'X, figure notamment le syndrome de Cabezas, dont la cause a été identifiée récemment grâce au SHD.

## B. Séquençage Haut Débit

L'arrivée sur le marché de la biologie moléculaire au début des années 2000 du séquençage de nouvelle génération (NGS en anglais, pour *Next Generation Sequencing*) ou SHD est une étape cruciale qui a suscité la réduction drastique des coûts et du temps nécessaire au séquençage du génome humain.



**Figure 1.** Étapes clés du Séquençage Haut Débit.

L'amplification des fragments sur la puce permettra ensuite un séquençage massif en parallèle des fragments sélectionnés. Après la lecture de l'ensemble des bases incorporées par clusters, pour chaque brin d'ADN, la séquence résultante est reconstituée en bioinformatique en alignant les reads à la séquence connue. *Illumina Sequencing Technology*

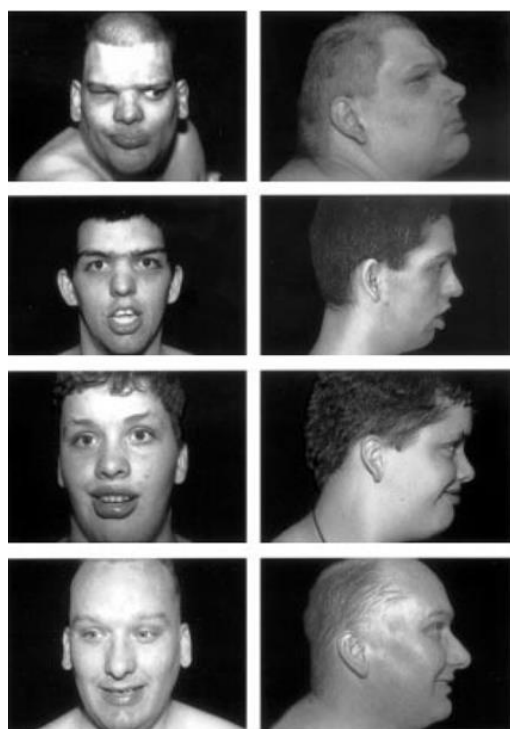
C'est l'application des techniques de SHD en laboratoire de routine qui va permettre à la génétique médicale un développement sans précédent. La création des panels de gènes, le séquençage de l'exome et du génome, qui sont actuellement les outils les plus utilisés en pathologie humaine, en découlent directement. L'étude génétique des patients ne se fait plus « gène à gène » mais de manière plus large.

### C. Le syndrome de Cabezas (*MIM 300354*)

Cette entité est de description assez récente, puisque les premiers patients présentant des caractéristiques cliniques communes ont été publiés en 2000. L'équipe du Dr Cabezas a rapporté sept individus issus d'une seule et même famille, avec des symptômes communs parfois retrouvés *a minima* chez les mères, alors suspectes d'être transmettrices (5).

Le syndrome de Cabezas regroupe les manifestations cliniques principales suivantes : déficience intellectuelle avec retard de langage, petite taille, hypogonadisme, tremblement et troubles de la marche avec ataxie. Une dysmorphie faciale variable est également souvent retrouvée, elle associe :

- Un visage aux traits un peu épais, un grand front, une prognathie.
- Des fentes palpébrales courtes et orientées en bas et en dehors.
- Un nez avec une racine plate et une pointe large bulbeuse.
- Une macrostomie avec une lèvre inférieure éversée.
- Des oreilles avec une implantation basse, en rotation postérieure.



| Clinical findings                              | Totals |
|------------------------------------------------|--------|
| Low IQ (range 29–54)*                          | 3/3    |
| Normal head circumference and eye measurements | 5/5    |
| Short stature (<10th centile)                  | 5/5    |
| Truncal obesity                                | 4/5    |
| Prominent lower lip                            | 4/5    |
| High palate                                    | 3/5    |
| Testes (<10th centile)                         | 4/5    |
| Small feet (adult shoe sizes 6–7)              | 5/5    |
| Gap between 1 & 2 toes                         | 3/5    |
| Hyperextensible joints                         | 5/5    |
| Kyphosis                                       | 4/5    |
| Fine tremor                                    | 4/6    |
| Muscle wasting lower leg                       | 5/5    |
| Wide based gait†                               | 3/3    |
| Decreased fine motor coordination              | 5/5    |
| Impaired or absent speech                      | 4/5    |
| Decreased attention span                       | 5/5    |
| Hyperactivity                                  | 5/5    |
| Mood swings                                    | 5/5    |
| Aggressive behaviour                           | 3/5    |

Figure 2. Syndrome de Cabezas (5)

Dysmorphie faciale des patients de l'article princeps : on note les traits épais, le front haut et large, la pointe du nez bulbeuse, les oreilles proéminentes, les fentes palpébrales en bas en dehors (patient 2 et 3), le menton proéminent. Les caractéristiques cliniques rapportées à droite sont issues des individus d'une seule famille.

Par la suite, d'autres auteurs ont décrit des patients présentant une clinique compatible avec le syndrome de Cabezas, enrichissant la littérature scientifique de manifestations associées au syndrome (6,7).

Des anomalies morphologiques cérébrales ont notamment été recherchées en 2015 et observées chez dix patients porteurs de variants pathogènes dans le gène *CUL4B* (8). Les signes principaux alors rapportés étaient une ventriculomégalie parfois sévère, des anomalies de la gyration avec un cortex montrant des circonvolutions simplifiées ainsi qu'une dysplasie corticale asymétrique. Des anomalies plus légères étaient également visibles : un corps calleux fin, une atrophie cérébrale avec augmentation des espaces liquidiens péri-cérébraux, et des anomalies de signal de la substance blanche.

|                                  | Tarpey et al. [2007] | Zou et al. [2007] | Our patient | Total |
|----------------------------------|----------------------|-------------------|-------------|-------|
| Motor delay                      | 5/5                  | 6/6               | +           | 12/12 |
| Speech delay                     | 18/18                | 6/6               | +           | 25/25 |
| Short stature                    | 7/11                 | 6/6               | +           | 14/18 |
| Macrocephaly                     | 8/11                 | 0/6               | —           | 8/18  |
| Mental retardation               | 22/22                | 6/6               | +           | 29/29 |
| Aggressive outbursts             | 12/15                | 0/6               | +           | 13/22 |
| Tremors                          | 11/13                | 1/5               | +           | 13/19 |
| Seizures                         | 8/11                 | 4/5               | —           | 12/17 |
| Obesity                          | 15/19                | 0/5               | —           | 15/25 |
| Pes cavus                        | 7/8                  | 0/5               | +           | 8/14  |
| Small testes                     | 10/15                | 1/5               | +           | 12/20 |
| Prominent lower lip              | 6/17                 | 5/5               | +           | 12/23 |
| Gait ataxia                      | 6/12                 | 6/6               | +           | 13/19 |
| Kyphosis                         | 3/18                 | NR                | +           | 4/19  |
| Abnormal toes, with wide 1–2 gap | 11/13                | NR                | +           | 11/14 |

**Figure 3.** Description par Isidor *et al.* d'un patient présentant une délétion de 60kb emportant une partie du gène *CUL4B*.

En comparaison, les études précédentes (6)

Les variants tronquants/perte de fonction dans le gène *CUL4B* ont été identifiés comme cause du syndrome de Cabezas en 2007 (18). La découverte de l'étiologie de ce syndrome sur le plan moléculaire a permis de mettre en lumière de nombreuses caractéristiques liées au gène *CUL4B*. Nous allons revenir sur certaines d'entre elles.

## D. Aspect moléculaire

*CUL4B* est localisé sur le chromosome X (Xq24), et code pour une protéine chaperonne, la Culline-4B (ou CUL4B, 914 acides aminés, UniProtKB : Q13620). Le transcrit principal NM\_003588.3 est fortement exprimé au niveau cérébral chez l'homme, et est composé de 22 exons, dont le premier n'est pas traduit.

*CUL4B* est, en 2007, le premier gène codant pour une protéine à activité ubiquitine-ligase identifié comme responsable de DILX (9).

En effectuant une étude de liaison dans une famille avec sept individus sur trois générations présentant les caractéristiques cliniques du syndrome décrit plus haut (5), l'équipe du Dr Cabezas a établi un lien entre la région chromosomique Xq24 et la déficience intellectuelle syndromique des patients. C'est quelques années plus tard que les variants de *CUL4B* sont formellement associés au syndrome de Cabezas (9).

Par la suite, c'est grâce à l'étude d'un de ses substrats - retrouvés de manière anormalement élevée chez les patients - qu'a été identifié le principal mécanisme de perte de fonction pathogène de *CUL4B* (10). En effet, CUL4B régule la dégradation de protéines impliquées dans différents processus, dont les principaux identifiés ce jour sont : les cassures et la réplication de l'ADN, ainsi que le développement neuronal via son implication dans la voie Wnt/ $\beta$ -Catenin, comme il a été montré chez la souris (10,11). Un rôle de stimulateur du signal *Bone Morphogenetic Protein* a également été mis en évidence, montrant son importance dans l'embryogenèse (12).

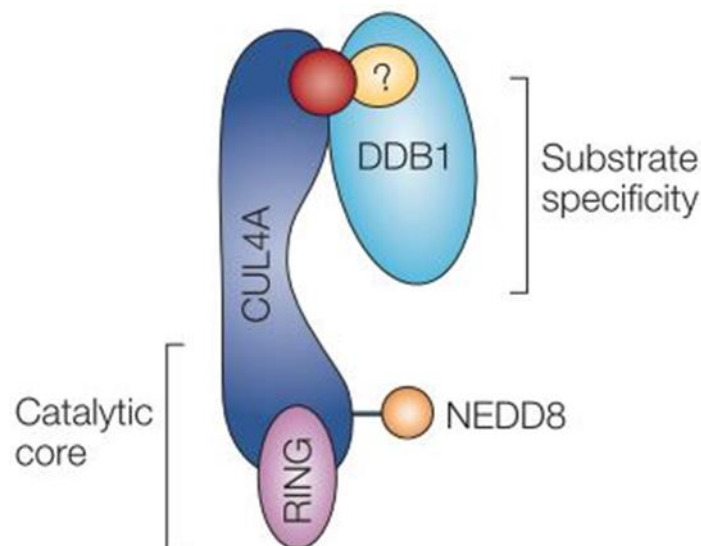
La majeure partie des variants rapportés responsables de déficience intellectuelle syndromique liée à *CUL4B* entraînent une perte de fonction. Il s'agit de variants non-sens (apparition d'un codon stop prématuré), d'insertions-délétions de petite taille (avec décalage du cadre de lecture ou *frameshift*, et apparition d'un codon stop prématuré) ou bien de délétions qui engendrent *in fine* une perte d'expression protéique fonctionnelle.

Quelques variations faux-sens ont été publiées, mais leur interprétation reste délicate en l'absence d'un phénotype clinique typique et/ou de tests fonctionnels aidant à l'interpréter l'impact du variant.

La famille protéique des cullines, à laquelle appartient CUL4B, a été décrite pour la première fois en 1997 et compte sept membres chez l'Homme. Associées à d'autres partenaires protéiques, elles ont un rôle d'organisateur de complexe protéique à activité Ubiquitine-ligase : les cullin-RING Ligases (CRLs) (13). Ces complexes vont ubiquitinyler des cibles protéiques, ayant pour conséquence principale leur adressage au protéasome pour dégradation, expliquant les observations antérieurement citées. D'autres rôles de modulation de l'activité et de l'adressage cellulaire via les CRLs sont également connus mais l'ensemble des cibles des cullines reste à identifier (14).

La protéine Culline-4B est composée de cinq domaines retrouvés également chez les autres cullines :

- **N-terminal** : liaison aux protéines partenaires de reconnaissance du substrat, donnant la spécificité au complexe ;
- Domaine de **répétition de motif culline (Cullin-repeat)**, impliqué dans la conformation tridimensionnelle de la culline ;
- **C-Terminal** : domaine d'**homologie des cullines (Cullin-homology)**, sur lequel des protéines de la famille RING viennent se fixer (liaison aux E2) ;
- Domaine de **Neddylation** : situé proche du domaine précédent, et contenant un résidu Lysine sur lequel la protéine NEDD8 vient se fixer pour moduler l'activation de la Culline (14).

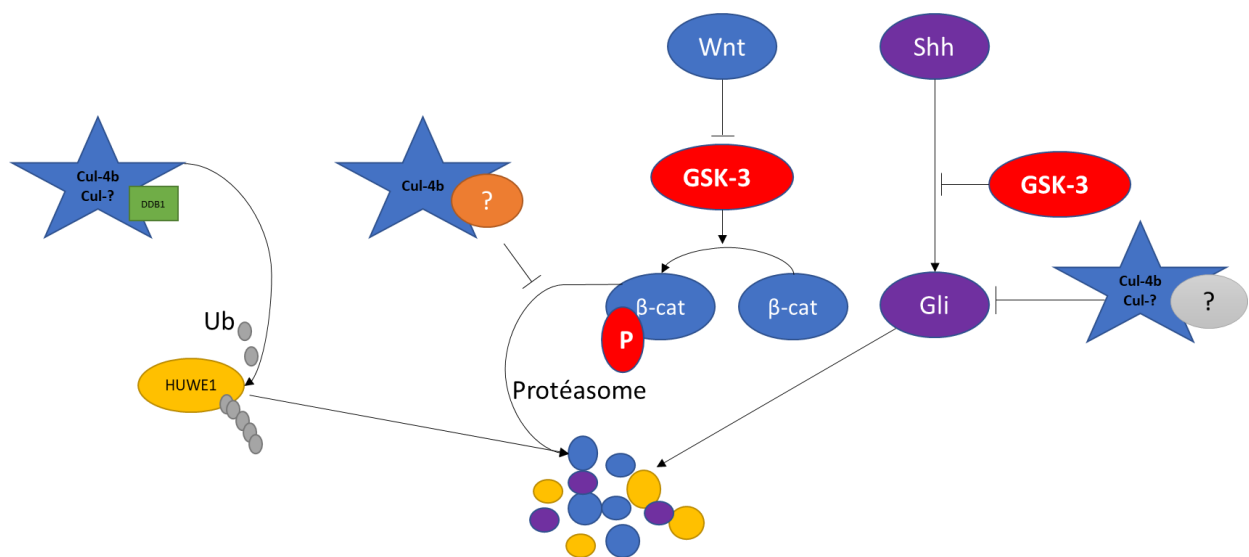


**Figure 4.** Représentation schématique d'une Culline (14).

Le domaine Cullin-homology et de Neddylation constituent le domaine effecteur du complexe, tandis que le domaine N-terminal se liera avec d'autres protéines reconnaissant le substrat à ubiquitinyler. Ici complexe Cul-4a/4b-ROC-DDB1 où CUL4B ou CUL4A peut s'associer avec les mêmes partenaires.

Il est à noter que le domaine de Neddylation revêt une importance de premier ordre pour les Cullines. En effet, en l'absence de NEDD8, les cullines vont pouvoir être associées à des protéines différentes, ayant pour but de bloquer toute interaction. Cette réaction de Neddylation est donc un modulateur important du devenir des cullines au sein de la cellule, en permettant l'association aux protéines visant à former un complexe ubiquitine-ligase.

CUL4B a donc un rôle au sein du système ubiquitine-protéasome (UPS) tout comme l'ensemble des cullines. Par ailleurs, sa fonction dans la régulation d'acteurs de la réparation de l'ADN, supposée expliquer une partie des symptômes des patients, semble partielle devant le nombre très important de cibles identifiées des cullines, notamment au sein des voies neurodéveloppementales. Il existe notamment un lien direct entre le complexe CUL4B-ROC-DBB1 et la dérégulation de *HUWE1*, autre gène de DILX codant pour une ubiquitine-ligase (Figure 4 et 5, (15)).



**Figure 5.** Représentation schématique d'interactions entre CUL4B et des acteurs du neurodéveloppement

Les voies Wnt et Shh sont essentielles au développement précoce du tube neural, et de la mise en place des structures qui formeront plus tard le SNC.

Une grande partie des cibles identifiées comme substrat des cullines étant dégradée via le protéasome, nous nous posons la question d'un potentiel impact sur le système ubiquitine-protéasome chez nos patients. Nous allons donc brièvement décrire ce système et son fonctionnement.

## E. Le système Ubiquitine-Protéasome

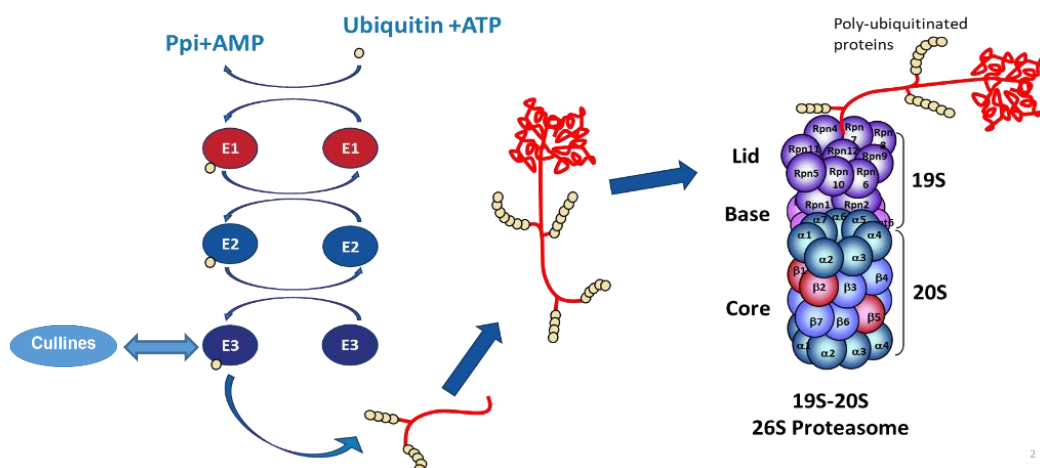
Décrit pour la première fois en 1978 par Hershko et Ciechanover, le protéasome est désormais un des sujets fondamentaux des enseignements de biologie cellulaire. Il aura valu à ces équipes le prix Nobel de Chimie en 2004, « pour leurs travaux sur la dégradation des protéines contrôlée par l'ubiquitine » (16).

Cette chaîne protéique complexe est responsable d'une grande partie du catabolisme protéique chez les eucaryotes. Son activité enzymatique permet de renouveler le stock d'acides aminés en « recyclant » les protéines marquées par l'Ubiquitine, dont la fonction et/ou structure n'est plus assurée. En plus de cette fonction de dégradation, le protéasome peut également aider à la remise en fonction de protéines dont l'intégrité est compromise (maturation incomplète, altération dans la structure tridimensionnelle par exemple)(17).

La chaîne d'ubiquitylation se fait en amont de la dégradation de ces substrats marqués par l'intermédiaire de trois acteurs majeurs :

- L'ubiquitine-activase (E1)
- Les ubiquitine-conjugases (E2)
- Les ubiquitine-ligases (E3), groupe de complexes protéiques, dont CUL4B fait partie.

Après marquage spécifique des cibles, celles-ci pourront être adressées au protéasome pour dégradation (17).



**Figure 6.** Schéma de l'UPS.

Les sous-unités 20S (catalytique) et 19S (régulatrice) forment le protéasome 26S, entité la plus représentée chez l'homme. Les cullines interviennent en amont du protéasome, en marquant les substrats à dégrader.

L'implication de gènes de l'UPS dans l'apparition de pathologies neurodéveloppementales avec déficience intellectuelle est connue depuis de nombreuses années, comme le montre l'implication d'Ubiquitine-ligases dans le syndrome d'Angelman avec *UBE3A* (MIM 105830) ou encore *HUWE1* dans la déficience intellectuelle liée à l'X de type Turner (MIM 244450). Plus récemment, le gène *PSMD12*, codant pour une sous-unité régulatrice du protéasome 19S, a été impliqué dans une déficience intellectuelle syndromique (18).

L'association de gènes codant pour des sous unités du protéasome (*PSMB4*, *PSMB8*, *PSMB9*) à des pathologies auto-inflammatoires avec manifestations cutanées aiguës mais également développementales a confirmé l'importance d'un protéasome fonctionnel dans l'ensemble des tissus durant le développement et tout au long de la vie. Son dysfonctionnement peut donc avoir des conséquences développementales sur l'ensemble des systèmes du corps humain.

Les descriptions récentes de pathologies avec déficience intellectuelle liées aux dysfonctions de l'UPS, ainsi que le rôle de *CUL4B* au sein de ce système, nous ont amené à explorer un potentiel impact des variants de *CUL4B* sur l'activité protéasomale.

## **F. Objectif**

**L'objectif principal de ce travail est de décrire le phénotype et le génotype présenté par les patients porteurs d'un variant (probablement) pathogène dans le gène *CUL4B*.**

- Dans un premier temps, nous rapporterons les caractéristiques cliniques présentées par les patients, en prenant en compte les descriptions antérieures des patients avec un variant pathogène *CUL4B*
- Nous décrirons par la suite brièvement les caractéristiques moléculaires des variants.

Pour se faire nous décrirons trente-trois patients, issus de trente familles sans lien de parenté, et non rapportés à ce jour.

- Enfin, nous exposerons les résultats obtenus (dont certains encore au stade préliminaire) quant aux explorations sur de potentiels mécanismes physiopathologiques liés au protéasome chez les patients porteurs de variants dans *CUL4B*.

## II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

---

### A. Recrutement de la cohorte

Le critère de sélection des trente-trois patients inclus était la présence d'une anomalie génétique probablement pathogène ou pathogène dans le gène *CUL4B*. Le diagnostic moléculaire des variants était obtenu de différente manière : génome entier pour le patient 1, et séquençage de l'exome pour 21/33 patients. Nous n'avons pas pu obtenir l'information à ce jour pour les patients restants (8 patients). L'ensemble de ces individus a bénéficié d'une ACPA (CGH-array) sans anomalie délétère retrouvée, ainsi que d'une recherche du syndrome de l'X fragile négative.

Différentes stratégies diagnostiques ont pu être utilisées pour les patients inclus : séquençage de l'exome complet (ou whole exome sequencing, WES) en trio dans un cadre diagnostic, WES trio dans un cadre recherche, ou WES en solo (cas-index uniquement) puis vérification de la ségrégation familiale du variant par séquençage Sanger après identification du variant candidat dans le gène *CUL4B*.

Trois individus porteurs de délétion impliquant *CUL4B* seront également décrits (patients 31 à 33), diagnostiqués par ACPA ou SNP-array indiquée devant le retard de développement syndromique.

Le recrutement des patients, après identification des variants *CUL4B* des patients rencontrés au CHU de Nantes, a été effectué via :

- la plateforme Genematcher (19).
- les associations de patients consacrées aux patients atteints de déficience intellectuelle liée au gène *CUL4B* : "Sourire avec Hadrien" en France (<https://sourire-avec-hadrien.fr>)
- ainsi qu'à l'international via la page Facebook du syndrome de Cabezas.

## **B. Photographies et données cliniques**

L'ensemble des patients a bénéficié d'une consultation avec un généticien clinique/pédiatre. Les consentements éclairés signés par les parents/tuteurs légaux/patients ont été obtenus pour les explorations génétiques initiales, et adaptés à la stratégie (diagnostic et/ou recherche). Un consentement pour publication de photographie et partage des données cliniques dédié aux travaux scientifiques a été obtenu (Annexe3). Il s'agit du consentement type international recommandé par l'ACMG pour l'ensemble des données et médias destinés aux publications scientifiques.

Nous avons regroupé les informations cliniques pour trente-trois patients issus de trente familles non apparentées. Le motif de consultation pour l'ensemble des patients était un retard psychomoteur/déficiência intellectuelle syndromique. En nous basant sur cette cohorte, nous décrivons l'ensemble des manifestations cliniques rapportées durant les consultations avec le médecin généticien/pédiatre suivant les individus.

De 0 à 2 ans, les courbes anthropométriques standardisées utilisées sont celles de l'Organisation Mondiale de la Santé ; après 2 ans, les courbes de références sont celles utilisées majoritairement pour les populations caucasiennes/nord-américaines dans l'ensemble des publications scientifiques, mises à jour par le CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*).

## C. Échantillons biologiques

Les patients pour lesquels nous avons reçu un ou des prélèvements (cas-index et un ou les deux parents) ont fait part d'un consentement recherche écrit éclairé, conforme et approuvé par les établissements de soins d'origine pour chaque ville.

Lorsque nous avons pu obtenir des tubes de sang sur tube EDTA, nous avons isolé les cellules mononuclées du sang (abréviation PBMCs pour *Peripheral Blood Mononucleated Cells*) que nous avons mises en culture sur lymphocytes irradiés (« feeders ») afin d'obtenir des lymphocytes T de patients facilement entretenus et multipliés. Cette amplification permet d'avoir à disposition des cellules de patients ainsi que du matériel génétique en quantité suffisante et, si nécessaire, de remettre en culture les cellules.

### 1. Lysats cellulaires et extraction protéique

Une fois amplifiées, les cellules de patients ont été culotées à différents temps de l'amplification. Pour l'étude des protéines, la lyse a été effectuée avec un tampon RIPA, classiquement utilisé pour les études de Western-Blot.

### 2. Etudes protéiques par Western Blot (WB)

Des explorations sont actuellement en cours pour évaluer l'impact des variants *CUL4B* sur l'expression de protéines d'intérêts chez les patients. Les résultats, dont nous ferons part dans ce travail, ne sont que les prémices d'explorations plus poussées à venir.

#### a) WB non natif ou SDS-Page

Après extraction des protéines sur culot cellulaire, nous avons préparé les extraits protéiques pour migration à 2µg/µl pour chaque culot, après dosage BCA (BiCinchoninic acid Assay).

Migration : Ces extraits protéiques ont ensuite été chargés sur des gels Invitrogen BisTris NuPAGE (3-12,5%) et ont migré durant au moins une heure entre 70 et 110V, en utilisant les tampons de migration recommandés (Invitrogen NuPAGE®).

Transfert : les protéines ont ensuite été transférées sur membrane PVDF en condition sèche, toujours en suivant les recommandations du manuel utilisateur Invitrogen NuPAGE®.

Incubation : les anticorps utilisés ont été dilués dans une solution saturante standard (TBST/BSA 3% ou TBST/5% lait reconstitué). Les dilutions d'anticorps ont été déterminées après lecture des concentrations recommandées par le fabricant et validation technique.

Révélation : Après incubation avec un révélateur HRP (ECL ClarityMax) les membranes ont été lues sur un appareil dédié BioRAD® ChemiDoc MP. Le temps d'exposition a varié en fonction de l'intensité de signal obtenue.

#### *b) Native-PAGE WB*

Des tests en conditions natives, préservant les liaisons non covalentes interprotéiques, sont en cours de réalisation, en utilisant les mêmes protocoles cités ci-dessus. Les tampons de lyse, migration et transfert sont adaptés aux conditions particulières de l'extraction native de protéine.

### 3. Évaluation de l'activité protéasomale

Nous avons mesuré l'activité chymotrypsin-like du protéasome sur extrait protéique des lysats cellulaires, en utilisant le kit Biovision : Proteasome Activity Fluorometric Assay Kit et en respectant les instructions du fabricant. Les tests ont été effectués en duplicats.

### III. RÉSULTATS

---

#### A. Description phénotypique de la cohorte

##### 1. Naissance et développement initial

###### Mensurations de naissance

Comme décrit dans la littérature, nous avons retrouvé une fréquence élevée de poids de naissance inférieur au 10<sup>ème</sup> percentile (p.) avec 10/26 patients présentant ce signe, soit 40% des patients pour lesquels nous avons pu récupérer le terme et poids de naissance exact.

Ce petit poids pour l'âge gestationnel était englobé dans un Retard de Croissance Intra-Utérin (RCIU) harmonieux pour le patient 12, dont la taille et le périmètre crânien (PC) à 40SA étaient respectivement de 48,5cm (12p) et de 32cm (2p).

Les patients 6 et 24 présentaient quant à eux un RCIU avec PC conservé (34cm, soit 47p pour le patient 6 à 38+2SA, et 34cm soit 19p pour le patient 24 à 40+3SA).

De manière générale, la taille de naissance était inférieure au 20p chez 7/17 patients soit 41% de la cohorte.

Concernant le PC, trois patients uniquement avaient un PC  $\geq 97p$  à la naissance, (patient 2, 9 et 33) et seul le patient 9 avait gardé une macrocéphalie à la mesure du dernier examen. Le patient ayant présenté un RCIU avec PC au 2<sup>ème</sup> percentile n'a quant à lui pas gardé de microcéphalie par la suite, et était donc le seul patient présentant une microcéphalie à la naissance.

## Développement psychomoteur initial

La majorité des patients présentait une hypotonie néonatale (28/29 individus soit 96%), avec un retard d'acquisition de la marche. La moyenne calculée sur 22 patients pour l'acquisition de la marche est de 31 mois. 7 patients n'avaient pas acquis la marche au moment du dernier examen, le plus âgé ayant 4 ans (patient 5).

Des difficultés alimentaires majeures avec nécessité de mise en place d'une sonde naso-gastrique pour l'alimentation entérale étaient observées chez quatre patients.

Un retard de langage majeur était retrouvé chez 30/31 patients, avec uniquement une fille atteinte capable d'une expression verbale avec phrases complètes (patiente 22). Les individus de la cohorte dans son ensemble montraient un retard de langage expressif, avec un vocabulaire contenant moins de 30 mots pour les patients verbaux. Le patient le plus âgé s'exprimait avec un vocabulaire de 20 mots à l'âge de 66 ans (patient 17), tandis que 7 patients n'avaient pas acquis de langage oral au moment de la dernière consultation (soit 45% des patients évalués, le plus âgé ayant 9 ans).

De la même manière, l'âge des premiers mots est affecté avec une moyenne à 39 mois, contre une valeur physiologique d'un an.

**Pour résumer, les signes développementaux initiaux retrouvés avec une fréquence relativement élevée étaient un petit poids pour l'âge gestationnel, une hypotonie néonatale ainsi qu'un retard moteur associé à un retard de langage majeur.**

## 2. Examen physique

### Croissance

Le retard de croissance statural post-natal est un des signes cardinaux du syndrome de Cabezas (5,6,8). Nous avons retrouvé ce signe avec une sévérité variable chez 10/31 de nos patients, représentant près d'un tiers de la cohorte (32,3%). La déviation standard (DS) médiane chez les patients présentant une petite taille était de  $-2,87$  DS. Aucun des patients ne présentait une taille  $> 1$  DS quel que soit l'âge, témoignant d'une tendance plutôt normale basse de la taille des patients porteurs d'un variant *CUL4B*.

Nous n'avons pas observé de retard de croissance pondéral. La taille des patients était plus affectée que le poids, engendrant une hausse de l'Indice de Masse Corporelle (IMC). Un surpoids était présent chez 10/25 patients dont 6/25 avec un IMC les plaçant en obésité. 40% de la cohorte était donc surveillée sur le plan pondéral pour un surpoids nécessitant une adaptation nutritionnelle.

Une macrocéphalie a été mesurée chez 9/32 patients, allant de  $+2$  à  $+4$  DS. En dehors du patient 9, l'ensemble des individus ayant présenté une macrocéphalie postnatale avait un PC normal à la naissance. Ceci est en accord avec les descriptions précédentes rapportant une macrocéphalie progressive postnatale lorsque celle-ci est objectivée. De plus, si l'on compare le PC à la taille des individus, une tendance se dégage : on constate une macrocéphalie relative (PC en accord avec l'âge, taille normale basse ou basse). A l'inverse, aucune microcéphalie n'était retrouvée.

**Sur le plan de la croissance postnatale, on retrouve chez les patients une petite taille, un surpoids fréquent voire une obésité, ainsi qu'une tendance à la macrocéphalie (relative ou vraie).**

## Examen orthopédique

A l'examen néonatal, il a été noté une fontanelle antérieure large chez deux patients (13 et 23). De manière variable, les anomalies congénitales retrouvées sont : des extrémités courtes avec brachydactylie, une clinodactylie du 5<sup>ème</sup> doigt, un élargissement des phalanges distales intéressant principalement les premiers orteils, des ongles d'orteils hypoplasiques. Des anomalies orthopédiques plus sévères ont également été trouvées de manière ponctuelle : pieds *valgus* bilatéraux ou pouce *adductus* notamment.

La cyphose est un signe connu chez les patients décrits avec un syndrome de Cabezas. Elle est présente chez quatre patients dans notre étude, et associée à une scoliose pour deux d'entre eux. Un patient supplémentaire est porteur d'une scoliose isolée (patient 30). Le patient le plus jeune avait 3 ans au moment du dernier examen physique objectivant la cyphoscoliose.

9/29 des individus n'avaient cependant aucune anomalie à l'examen squelettique, le plus âgé étant le patient 28 (16 ans).

Un autre signe fréquemment rapporté dans les descriptions précédentes de patients avec déficience intellectuelle liée au gène *CUL4B* est un élargissement de l'espace entre le premier et second orteil. Cette particularité n'a pas été recherchée spécifiquement lors des derniers examens pour les patients ayant bénéficié d'une consultation pédiatrique/orthopédique, et pour lesquels nous avons des informations cliniques.

De la même manière, nous n'avons retrouvé que deux patients présentant un *pes cavus* (pied « creux »), signe volontiers associé aux description antérieures (9)

Une hyperlaxité articulaire, précédemment constatées (9) a été retrouvée chez 6/29 patients de l'étude.

**Nous avons pu retrouver de nombreuses anomalies squelettiques chez nos patients, avec une variabilité inter-individuelle importante. La cyphose et/ou scoliose concernent 17% des patients (5/30).**

## **Anomalies urogénitales**

On retrouve un nombre relativement important d'individus avec malformations et/ou troubles urogénitaux : 11/28 soit 40% de la cohorte. Parmi eux, six garçons avec une hypoplasie des testicules, signe quasi-constamment constaté dans le syndrome de Cabezas. Les autres signes retrouvés chez les garçons étaient une cryptorchidie uni- ou bilatérale (5/26), une ou plusieurs hernies inguinales (5/26). Un micropénis a également été observé chez deux individus, et un hypospade a également été constaté à la naissance chez le patient 26.

## **Autres anomalies cliniques**

D'autres anomalies diverses ont pu être mises en évidence. Les atteintes détaillées pour chaque patient sont disponibles dans l'Annexe 1.

L'hypogonadisme associée classiquement au syndrome de Cabezas n'a ici été diagnostiqué que chez le patient 28.

Nous avons observé un individu portant des tâches hypo/dépigmentées (patient 15), ainsi que d'autres patients présentant des lésions hyperpigmentées (acanthosis nigricans chez le patient 3 et tâches café-au-lait chez la patiente 31). Le patient 19 présentait quant à lui les deux types de lésions. Des pathologies inflammatoires dermatologiques étaient également vues avec de l'eczéma chez les patients 16 et 23, et une kératose pileaire diagnostiquée chez le patient 21.

Sur le plan digestif, une constipation était repérée chez 7/32 patients.

Une cardiomyopathie dilatée a été retrouvée chez le patient 5.

### 3. Dysmorphie faciale

Les variants dans le gène *CUL4B* ont été initialement associés à un ensemble de particularités faciales définissant le syndrome de Cabezas : un front haut, des traits du visage grossiers, une prognathie, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, etc. (cf. Introduction).

Dans notre groupe, 27/32 patients (84%) ont été décrits comme dysmorphiques par les cliniciens qui les suivaient. La *figure 24* ci-dessous illustre les différentes caractéristiques dysmorphiques retrouvées chez une majorité des patients. Parmi les cinq patients restant, le patient 19 ne présentait qu'un synophris isolé, et aucune anomalie morphologique faciale n'a été retenue pour les autres.



**Figure 7.** Photographie de patients porteurs de variants *CUL4B*.

(A) Patient 4, âge >6 ans ; (B) Patient 8 ; (C) Patient 9 ; (D) Patient 14 ; (E) Patient 10 en période néonatale, puis âgé de quelques mois de face et de profil, puis à 1 et 4 ans ; (F) Patient 18 à 9 ans ; (G) Patient 11 en période néonatale, puis à 1 et 3 ans ; (H) Patient 7 âgé de quelques mois puis à 3 ans ; (I) (J) Patient 15 et 16 à la dernière consultation (respectivement 19 et 13 ans)

Les patients de la *figure 24* présentent des caractéristiques typiques du syndrome de Cabezas. Les signes les plus fréquemment retrouvés sont : un front large et haut, particulièrement marqué sur les photos des individus A à H. Des bosses frontales sont visibles distinctement sur les photos C, E et G (profil). Les fentes palpébrales orientées en bas et en dehors sont facilement constatées chez la quasi-totalité des patients. Elles sont également très étroites. Une racine du nez large et plate est visible et souvent associée à un hypertélorisme. La pointe du nez est bulbeuse chez certains des patients. Une lèvre inférieure éversée est également notée chez les patients. Une macrostomie est visible pour une partie des individus (A, D, G et H). On constate que les oreilles ont parfois une branche montante hypoplasique, avec une implantation basse, et en rotation postérieure. Les sujets montrés sur les photos A, C, G, H et J ont également des oreilles proéminentes et décollées. La prognathie est également visible chez certains individus (photos de profil en A, I et J notamment).

Les photographies des patients 15 et 16 à l'adolescence ou à l'âge adulte montrent des extrémités courtes (gros orteils en I et pouces en J) ainsi qu'une syndactylie 2-3 des orteils en I.

L'ensemble des photos, et particulièrement la série de photos E et G, semble montrer des caractéristiques morphologiques faciales s'accroissant avec l'âge, de manière plus nette durant la période néonatale et infantile précoce.

La dysmorphie faciale est variable, comme le démontre les patients en F et H, pour lesquels il peut être moins évident d'évoquer le syndrome de Cabezas sur les photographies. On peut distinguer une macrostomie, une lèvre inférieure éversée chez les deux, ainsi qu'un front haut et large. En revanche, l'orientation des fentes palpébrales paraît plus difficile à objectiver (sur ces clichés tout du moins), et le nez avec une pointe bulbeuse et racine effacée semble moins évident que sur les séries de photos B, E et G.

Par ailleurs, on remarque que l'ensemble des patients a des piliers du philtrum peu marqués. Les sourcils des patients en A à H paraissent peu fournis et arqués (moins évident en F et H).

#### 4. Phénotype neurologique et comportemental

Sur le plan cognitif, l'ensemble des patients consultait pour un retard de développement psychomoteur et/ou une déficience intellectuelle. Sur les 26 patients ayant eu une évaluation clinique ou neuropsychologique de la sévérité des troubles neurodéveloppementaux, on retrouve une DI sévère chez une majorité d'individus avec 80,8% (21/26), une DI modérée chez 15,4% (4/26) d'entre eux, et un seul cas de DI légère (patiente 22) objectivée par un test WISC-V donnant un QIt de 58.

Le tremblement est un des symptômes initialement associé de manière assez spécifique au syndrome de Cabezas (5,20). Ce signe était présent dans 68% des cas dans la revue la plus récente de la pathologie (6). Il a été moins fréquemment observé lors de l'examen neurologique dans notre étude puisque nous ne l'avons retrouvé que chez un tiers des patients.

Une démarche ataxique est également fréquemment associée au syndrome de Cabezas chez les patients ayant acquis la marche. Dans cette étude, seuls deux cas ont été affirmés après examen clinique. Il convient de nuancer cette observation, étant donnée la grande proportion d'individus n'ayant pas acquis la marche dans notre groupe.

Dans ce travail, nous avons pu mettre en évidence d'autres particularités non rapportées dans la littérature. Notamment, et bien que le phénotype soit variable, des troubles du comportement étaient rapportés par les parents et/ou les médecins chez 71,4% des patients. Ces troubles du comportement semblent plus variés que l'agressivité décrite initialement et également présente dans notre cohorte, bien qu'à un taux moindre que rapporté dans la littérature (9/32 patients avaient des accès de colère et/ou une intolérance à la frustration). Nous avons retrouvé des troubles de l'attention +/- hyperactivité chez 7/32 individus. Des troubles du spectre autistique et troubles des interactions sociales ont été documentés pour 8/32 patients, soit un quart de la cohorte.

Concernant l'épilepsie, également décrite dans les études antérieures, nous avons retrouvé la notion de convulsions chez près de la moitié des individus (45%). Trois patients présentaient des crises partielles, et le type d'épilepsie observé dans le reste de la cohorte est assez variable. La patiente 22 a eu une épilepsie déclenchée après un traumatisme crânien avec hématome sous-dural à l'âge de 2 mois. La réévaluation ultérieure de ses signes cliniques permettra de préciser l'étiologie et la pertinence de ces crises convulsives.

La présence de crises convulsives n'est pas systématiquement associée à des malformations cérébrales chez les patients.

### **Anomalies morphologiques cérébrales**

Une imagerie cérébrale (IRM ou Scanner) a été réalisée chez 27 des sujets inclus dans l'étude ; 12 étaient considérées comme normales. En revanche, on retrouve de nombreuses anomalies rapportées auparavant dans une étude dédiées aux anomalies cérébrales chez les patients porteurs de variants *CUL4B* (8). Parmi les plus fréquentes, se dégagent des anomalies de signal de la substance blanche (5/15 patients avec anomalies), un retard de myélinisation, une dilatation ventriculaire (4/15). Cinq patients portaient également des anomalies du corps calleux (fin voire absent). Dans la série, deux garçons présentaient une polymicrogyrie, tandis qu'un autre patient avait une atrophie corticale cérébrale globale. Ces dernières anomalies sont en accord avec les principales malformations rapportées (8).

### **Autres anomalies neurosensorielles**

Sur le plan neurologique, nous avons remarqué une récurrence de troubles du sommeil chez les patients (5/30, 17%), dont l'étiologie varie d'un individu à l'autre.

Sur le plan comportemental, en l'absence de trouble des interactions sociales, il semble se dégager une tendance à l'hypersociabilité, avec une personnalité joviale. Une anxiété a pu être retrouvée chez un nombre relativement important de patients. De manière générale, il a été observé une labilité thymique chez les patients.

Sur 32 patients évalués, trois présentaient une surdité de perception, légère pour un et non précisée pour les autres. Un patient avait une surdité de transmission légère.

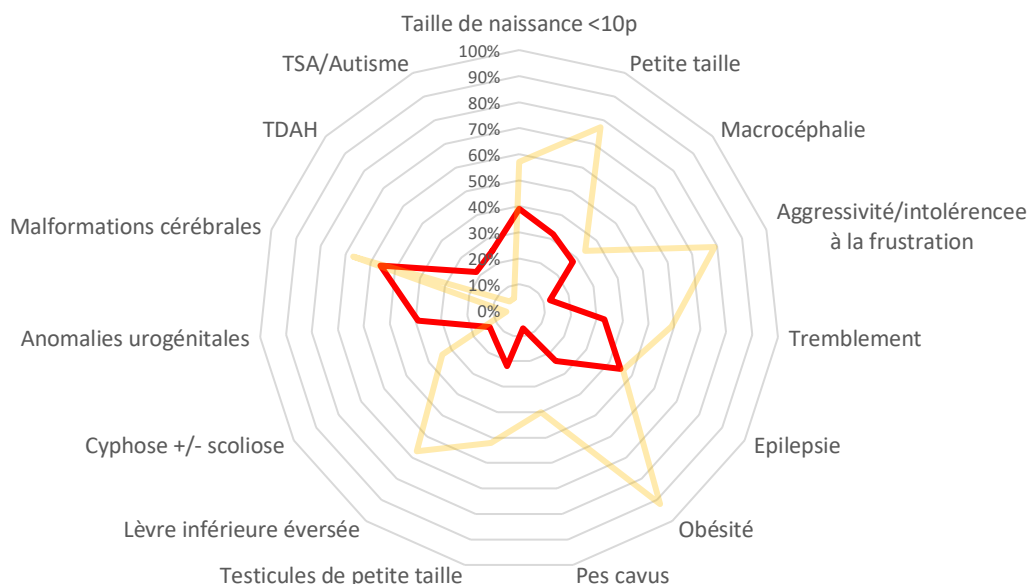
Les diagnostics ophtalmologiques correspondent aux descriptions antérieures : strabisme et amblyopie (6/26 patients soit 23%) (8,9). L'acuité visuelle du patient 2 était affectée par un colobome chorioretinien impliquant la macula et le disque optique. Un syndrome de Brown était diagnostiqué chez le patient 21, en faisant le second cas rapporté à ce jour (8).

| Signes Cliniques                          | Tarpey et al. (2007) | Zou et al. (2007) | Isidor et al. (2009) | Ravn et al. (2012) | Vulto-van Silfhout et al. (2015) | Etude actuelle | Total |
|-------------------------------------------|----------------------|-------------------|----------------------|--------------------|----------------------------------|----------------|-------|
| Retard moteur                             | 5/5                  | 6/6               | 1/1                  | 2/2                | 100%                             | 100%           | 100%  |
| Retard de langage                         | 18/18                | 6/6               | 1/1                  | 2/2                | 100%                             | 100%           | 100%  |
| Taille de naissance <10p                  | 11/15                | NR                | NR                   | NR                 | 57%                              | 39%            | 48%   |
| Petite taille                             | 7/11                 | 6/6               | 1/1                  | 2/2                | 77%                              | 32%            | 54,5% |
| Macrocéphalie                             | 8/11                 | 0/6               | 0/1                  | 2/2                | 34%                              | 28%            | 31%   |
| DI/RPM                                    | 22/22                | 6/6               | 1/1                  | 2/2                | 100%                             | 100%           | 100%  |
| Aggressivité/intolérance à la frustration | 12/15                | 0/6               | 1/1                  | 1/2                | 79%                              | 12,50%         | 45,8% |
| Tremblement                               | 11/13                | 1/5               | 1/1                  | 2/2                | 59%                              | 33%            | 46%   |
| Epilepsie                                 | 8/11                 | 4/5               | 0/1                  | 2/2                | 46%                              | 45%            | 25,1% |
| Obésité                                   | 15/19                | 0/5               | 0/1                  | 2/2                | NR                               | 24%            | 42%   |
| Pes cavus                                 | 8/11                 | 0/5               | 1/1                  | 2/2                | 40%                              | 7%             | 23,5% |
| Testicules de petite taille               | 10/15                | 1/5               | 1/1                  | 0/2                | NR                               | 22%            | 40%   |
| Lèvre inférieure éversée                  | 6/17                 | 5/5               | 1/1                  | 2/2                | 67%                              | 15%            | 41%   |
| Démarche ataxique                         | 6/12                 | 6/6               | 1/1                  | 2/2                | 60%                              | NR             | 60%   |
| Cyphose +/- scoliose                      | 3/18                 | NR                | 1/1                  | 2/2                | 34%                              | 13%            | 23,5% |
| Espace interdigital orteil 1-2            | 11/13                | NR                | 1/1                  | NR                 | NR                               | NR             | 86%   |
| Anomalies urogénitales                    | NR                   | NR                | NR                   | NR                 | NR                               | 39%            | 39%   |
| Malformations cérébrales                  | NR                   | NR                | NR                   | NR                 | 67%                              | 56%            | 61,5% |
| TDAH                                      | NR                   | NR                | NR                   | NR                 | NR                               | 22%            | 22%   |
| TSA/Autisme                               | NR                   | NR                | NR                   | NR                 | NR                               | 25%            | 25%   |

**Figure 8.** Fréquence des signes cliniques principaux.

En 2015, van Silfhout *et al.* ont repris l'ensemble des cas précédents ainsi que de nouveaux cas non publiés.

En résumé, nous retrouvons les manifestations déjà rapportées, dans des proportions beaucoup plus variables, hormis concernant les paramètres de naissance, malformations cérébrales et l'épilepsie. D'autres signes non retrouvés chez nos patients semblent liés à la constitution de la cohorte, tels que l'ataxie, le tremblement, ou encore l'obésité (nombreux patients en dessous de l'âge de la marche). Nous avons également observé des anomalies rapportées ponctuellement auparavant (notamment les anomalies ophtalmologiques et dermatologiques), confortant leur lien avec la pathologie.



**Figure 9.** Répartitions des signes cliniques principaux dans la cohorte en comparaison avec les descriptions antérieures.

Rouge : étude actuelle, jaune : études antérieures.

## B. Description moléculaire des variants

Nous avons retrouvé 21 variants distincts ainsi que deux délétions intragéniques chez trente-trois individus dont trois paires de frères, issus de trente familles non apparentées.

### Patients de sexe masculin

Les variants hémizygotés retrouvés chez les patients de la cohorte montrent une majorité de variants perte de fonction : sept variants non-sens, dix variants entraînant un décalage du cadre de lecture (*frameshift*). On retrouve également trois faux-sens chez les patients 1, 2, 3 et 19 ; ainsi qu'un variant entraînant la perte d'un codon stop.

Une délétion vue en ACPA arr[hg19] Xq24(119,691,862-119,693,931)x0 et emportant les exons 1 à 4 (transcrit *NM\_003588.3*) est retrouvée chez les patients 32 et 33, issus de la même fratrie. La délétion contient deux autres gènes non impliqués en pathologie humaine neurodéveloppementale et dont l'haploinsuffisance ne semble pas décrite : *MCTS1* et *C1GALT1C1*. Vraisemblablement, une perte de fonction classique de *CUL4B* est causée par délétion.

### Patients de sexe féminin

La patiente 22 est porteuse d'un faux-sens probablement pathogène, et nous reviendrons plus précisément sur ses caractéristiques par la suite, que ce soit sur le plan moléculaire ou clinique.

La seconde fille de notre cohorte (patiente 31) est porteuse d'une délétion hétérozygote dans la région Xq24 emportant les exons 1 et 2 du gène *CUL4B* : arr[hg19] Xq24(119697812-119717234)x1. La survenue *de novo* et une présentation compatible ont fait retenir cette délétion comme probablement pathogène.

*Les caractéristiques des variants sont détaillées dans le Tableau 1 ci-dessous.*

**Tableau 1.** Caractéristiques des variants *CUL4B* chez les 33 patients

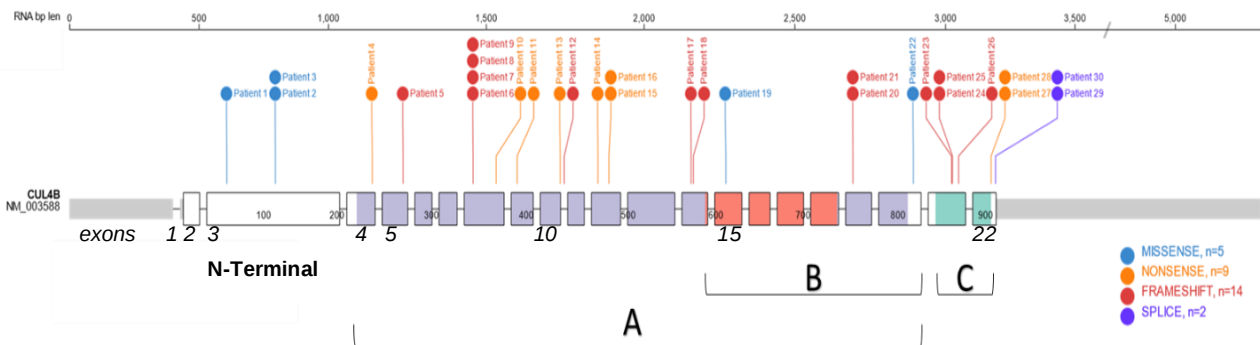
| Patients    | Genre | Variant c., p.                                  | Transmission                    | ACMG | Publication         | Type                                                  | Domaine Protéique             |
|-------------|-------|-------------------------------------------------|---------------------------------|------|---------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Patient 1   | M     | c.149C>T, p.(Pro50Leu)                          | liée à l'X                      | 3    | Oui, PMID: 25385192 | Faux-sens                                             | <b>N-Terminal</b>             |
| Patient 2   | M     | <b>c.348G&gt;T, p.(Gln116His)</b>               | liée à l'X                      | 3    | Non                 | Faux-sens                                             |                               |
| Patient 3   | M     |                                                 | ND                              |      |                     |                                                       |                               |
| Patient 4   | M     | c.715G>T, p.(Glu239*)                           | liée à l'X                      | 5    | Non                 | <b>STOP</b>                                           | <b>Cullin repeat-like</b>     |
| Patient 5   | M     | c.811_812del, p.(Gln271Aspfs*11)                | ND                              | 5    | Oui, PMID: 25167861 | fs*STOP                                               |                               |
| Patient 6   | M     | <b>c.1007_1011del, p.(Ile336Lysfs*2)</b>        | ND                              | 5    | Oui, PMID: 31678776 | fs*STOP                                               |                               |
| Patient 7   | M     |                                                 | de novo                         |      |                     |                                                       |                               |
| Patient 8   | M     |                                                 | de novo                         |      |                     |                                                       |                               |
| Patient 9   | M     |                                                 | de novo                         |      |                     |                                                       |                               |
| Patient 10  | M     | c.1105C> T, p.(Arg369*)                         | ND                              | 5    | Non                 | <b>STOP</b>                                           |                               |
| Patient 11  | M     | c.1162C>T, p.(Arg388*)                          | liée à l'X                      | 5    | Oui, PMID: 17273978 | <b>STOP</b>                                           |                               |
| Patient 12  | M     | c.1303_1310+5del, p.(Thr435Glufs*14)            | de novo                         | 5    | Non                 | Délétion fs                                           |                               |
| Patient 13  | M     | c.1309C>T, p.(Gln437*)                          | liée à l'X                      | 5    | Non                 | <b>STOP</b>                                           |                               |
| Patient 14  | M     | c. 1405C>T, p.(Arg469*)                         | liée à l'X, mosaïque maternelle | 5    | Non                 | <b>STOP</b>                                           |                               |
| Patient 15  | M     | <b>c.1450C&gt;T, p.(Arg484*)</b>                | ND                              | 5    | Non                 | <b>STOP</b>                                           |                               |
| Patient 16  | M     |                                                 | ND                              |      |                     |                                                       |                               |
| Patient 17  | M     | c.1728del, p.(Glu577Lysfs*15)                   | ND                              | 5    | Non                 | fs*STOP                                               |                               |
| Patient 18  | M     | c.1736_1737del, p.(Thr579Argfs*2)               | ND                              | 5    | Non                 | fs*STOP                                               |                               |
| Patient 19  | M     | c.1841 G>T, p.(Arg614Leu)                       | liée à l'X                      | 4    | Non                 | Faux-sens                                             | <b>Cullin homology</b>        |
| Patient 20  | M     | <b>c.2243_2244del, p.(Phe748Sfs*9)</b>          | liée à l'X (frères)             | 5    | Non                 | fs*STOP                                               |                               |
| Patient 21  | M     |                                                 |                                 |      |                     |                                                       |                               |
| Patiente 22 | F     | c.2462T>G, p.(Ile821Arg)                        | de novo                         | 3    | Non                 | Faux-sens                                             | <b>Domaine de Neddylation</b> |
| Patient 23  | M     | c.2586_2589del p.(Lys862fs)                     | de novo                         | 5    | Non                 | fs*STOP                                               |                               |
| Patient 24  | M     | <b>c.2590_2593del, p.(Leu864Alafs*13)</b>       | de novo                         | 5    | Non                 | fs*STOP                                               |                               |
| Patient 25  | M     |                                                 | liée à l'X                      |      |                     |                                                       |                               |
| Patient 26  | M     | c.2618delinsGA, p.(Val873Glyfs*13)              | liée à l'X                      | 5    | Non                 | fs*STOP                                               |                               |
| Patient 27  | M     | <b>c.2722C&gt;T, p.(Gln908*)</b>                | ND                              | 5    | Non                 | <b>STOP</b>                                           |                               |
| Patient 28  | M     |                                                 | liée à l'X                      |      |                     |                                                       |                               |
| Patient 29  | M     | <b>c.2740T&gt;A p.(*914Lysext*18)</b>           | liée à l'X (frères)             | 3    | Non                 | fs*STOPLOSS, Abolition d'un site accepteur d'épissage |                               |
| Patient 30  | M     |                                                 |                                 |      |                     |                                                       |                               |
| Délétions   |       |                                                 |                                 |      |                     |                                                       |                               |
| Patiente 31 | F     | arr[hg19]:Xq24(119697812-119717234)x1           | de novo                         | NA   | Non                 | Délétion emportant les exons 1 et 2                   | <b>N-Terminale</b>            |
| Patient 32  | M     | <b>arr[hg19]Xq24(119,691,862-119,693,931)x0</b> | liée à l'X (frères)             | NA   | Non                 | Délétion emportant les exons 1 à 4                    | <b>Cullin repeat-like</b>     |
| Patient 33  | M     |                                                 |                                 |      |                     |                                                       |                               |

Variantes concernant la séquence du transcrit NM\_003588.3, nomenclature HGVS 2.0. fs : frameshift, décalage du cadre de lecture ; NA : non applicable ; STOP : variant non-sens ou apparition d'un codon STOP ; STOPLOSS : perte du codon STOP consensuel pour ce transcrit.

Nous décrivons ainsi 17 variants non publiés dans le gène *CUL4B*, dont certains sont récurrents : les variants *c.348G>T*, *c.1450C>T* et *c.2590\_2593del* sont retrouvés chacun chez deux patients issus de familles non apparentées. Deux autres variants, *c.2243\_2244del* et *c.2740T>A*, ségrègent quant à eux dans deux familles distinctes et sont retrouvés à chaque fois chez deux frères.

Le variant est apparu *de novo* dans 8/25 cas. 12/20 garçons de la cohorte ont hérité le variant de leur mère (avec un variant en mosaïque à 15% chez la mère du patient 14). Il est à noter que les trois variants faux-sens décrits ont été hérité de la mère. La délétion identifiée chez les patients 32 et 33 est héritée d'une mère saine.

Pour la patiente 22, la survenue *de novo* constitue un argument en faveur d'une pathogénicité, tout comme la délétion chez la patiente 31.



**Figure 10.** Représentation schématique des variants *CUL4B* sur le transcrit.

L'exon 1 en gris n'est pas traduit, puis chaque boîte représente un exon (traduction des exons 2 à 22).

**(A)** Domaine d'homologie de la famille des Cullines (Cullin-Homology)

**(B)** Domaine de répétition de motif (Cullin-repeat like) avec en rouge le domaine de liaison aux protéines cibles

**(C)** Domaine de Neddylation

Les variants ne semblent pas se concentrer en un « *hotspot* » mutationnel, et on retrouve des variants non-sens et *frameshift* dans l'ensemble des domaines protéiques. Ces variants tronquants sont d'ailleurs majoritaires, en accord avec les descriptions précédentes impliquant les variants pathogènes *CUL4B* (9).

La grande majorité des variants identifiés étant constituée de variants tronquants entraînant une très probable perte de fonction de CUL4B, se pose la question de l'impact des variants faux-sens.

Il est intéressant de noter que les variants faux-sens rapportés dans notre cas se situent tous au sein des régions impliquées dans la liaison inter-protéique aux substrats ou partenaires de CUL4B lors de la formation de complexes Ubiquitine-ligase : domaine N-Terminal pour les patients 1 à 3 et domaine de liaison aux protéines RING dans le cas du patient 19 ainsi que la patiente 22. Ces liaisons étant primordiales à l'activité de CUL4B (14), il est tout à fait envisageable que le changement d'acide aminé puisse impacter la coopération avec les protéines partenaires, équivalent par là-même à une perte de fonction.

Le phénotype est compatible pour l'ensemble des patients avec des variants faux-sens, et l'implication de tels variants a déjà été rapportée dans des études antérieures sur le syndrome de Cabezas (8,9). Cet argument, ajouté aux observations clinico-biologiques (dont certaines sont rapportées dans le *tableau 1*), renforce l'hypothèse d'une perte de fonction également pour ces variants faux-sens. C'est la raison pour laquelle ils ont été rendus comme probablement pathogènes (classe 4).

Les variants d'épissage des individus 29 et 30 de la cohorte entraînent théoriquement l'inclusion de 18 acides aminés supplémentaires dans la protéine Cullin-4b. Ils perturbent ainsi probablement le fonctionnement du domaine de Neddylation essentiel à l'activation des complexes CRLs, induisant donc une perte de fonction. Des variants d'épissage ont déjà été décrits comme responsables de DI liée au gène *CUL4B* (9,21), mais l'hypothèse d'un épissage aberrant et de l'absence de protéine avait été privilégiée. Dans notre cas, l'étude des transcrits de ces patients ainsi que de CUL4B pourrait être effectuée pour élucider le mécanisme en cause.

**Pour synthétiser, l'ensemble des variants et délétions rapportés ici sont en faveur d'une perte de fonction comme évènement majeur dans la pathogénicité des variants *CUL4B*, y compris les variants faux-sens qui intéressent dans notre cas les domaines de liaison inter-protéiques majeurs.**

## C. Patiente 22

La patiente 22 constitue un cas particulier dans cette cohorte. En effet, l'impact des variants tronquants entraînant une perte de fonction de *CUL4B* semble être le mécanisme majoritaire à l'origine l'apparition du phénotype (6,9,20,22). Des variations faux-sens ont déjà été incriminées chez des garçons hémizygotes devant l'absence d'autre diagnostic et la compatibilité clinique (8).

Les arguments clinico-biologiques pour cette patiente porteuse d'un faux-sens sont : la survenue *de novo*, l'absence de variants autre pouvant expliquer le phénotype à l'analyse d'exome, la compatibilité clinique malgré une présentation moins sévère, et les caractéristiques moléculaires du variant (absent des bases de données publiques, scores de prédiction en faveur d'une pathogénicité). Il est même logique d'observer une présentation moins sévère chez une patiente porteuse d'un faux-sens, si l'on considère que ce variant puisse entraîner une perte de fonction partielle. Ainsi, cette jeune fille montre une DI légère (WISC-V : 58). Malgré son retard de langage, il s'agit de la seule patiente capable de s'exprimer par des phrases complètes. Le phénotype squelettique, neuroradiologique ainsi que les caractéristiques morphologiques faciales ont fait classer ce variant *CUL4B* comme probablement pathogène (classe ACMG 4). Nous n'avons pas de photographie nous aidant à interpréter sa dysmorphie : front haut et large, oreilles basses implantées, un nez bulbeux et un philtrum peu marqué. Ces signes semblent cependant bien s'intégrer dans l'ensemble des caractéristiques retrouvées chez les autres patients.

Sur le plan moléculaire, le variant touche une région importante de la protéine, comme discuté dans la partie moléculaire des résultats, et concordant avec un mécanisme de perte de fonction partielle ou totale causée par ce variant faux-sens.

## D. Délétions

La seconde patiente de la série est porteuse d'une délétion emportant les exons 1 et 2 du gène *CUL4B*. Cette variation du nombre de copies est très probablement responsable d'une perte de fonction, et par conséquent de la DI. En effet, la survenue *de novo* de cette délétion et la présentation clinique fortement compatible sont des arguments de poids dans l'implication de cette variation chromosomique.

Des cas de délétion de *CUL4B* avec un syndrome de Cabezas ont déjà été rapportés (6,23). La patiente présente certains de ces signes typiques : un retard moteur important, un retard de langage important, une DI sévère ainsi qu'une démarche ataxique. Nous ne disposons malheureusement pas de photographie de cette patiente pour pouvoir discuter de ses particularités morphologiques faciales.

Concernant les deux frères porteurs d'une délétion intéressant *CUL4B* (patient 32 et 33), la perte de fonction du gène est probablement à l'origine de leurs troubles. La clinique de ces deux patients paraît similaire au reste de la cohorte (porteurs de variants perte de fonction classique).

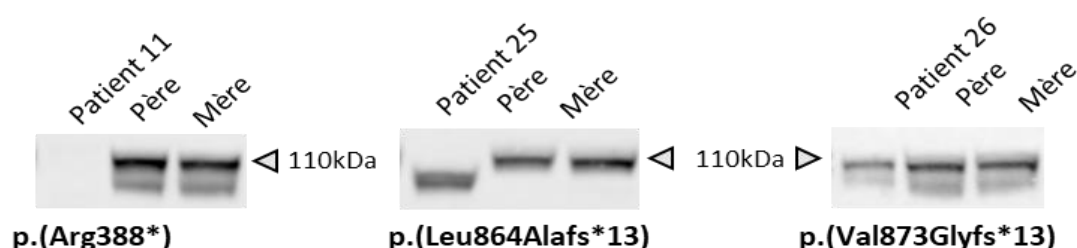
## E. Explorations biologiques initiales

Nous avons pu réaliser des explorations initiales chez les patients 11, 25 et 26, qui seront répliquées à l'ensemble des patients pour lesquels un échantillon sanguin pourra être obtenu facilement, car leurs familles souhaitent continuer les investigations.

Il s'agit de trois garçons hémizygotes tous porteurs d'un variant tronquant dans les trois cas.

### 1. Expression de *CUL4B*

Nous avons souhaité observer l'expression de la protéine CUL4B dans un premier temps, en réalisant des WB en conditions dénaturantes (Figure 11).



**Figure 11.** Western Blot pour la Cullin-4b chez les patients porteurs de variants tronquants.

Pour le patient 11, on observe une absence totale de protéine détectée. Pour les patients suivants, on observe tout de même une expression de Cullin-4b dont l'intensité et/ou la taille diffère toutefois entre les patients et leurs parents qui jouent ici le rôle de contrôles.

La taille de 11kDa correspond à la bande de la protéine Cullin-4b. Les variations observées ont été confrontées aux bandes de protéine de ménage (tubuline) réalisée sur les mêmes membranes.

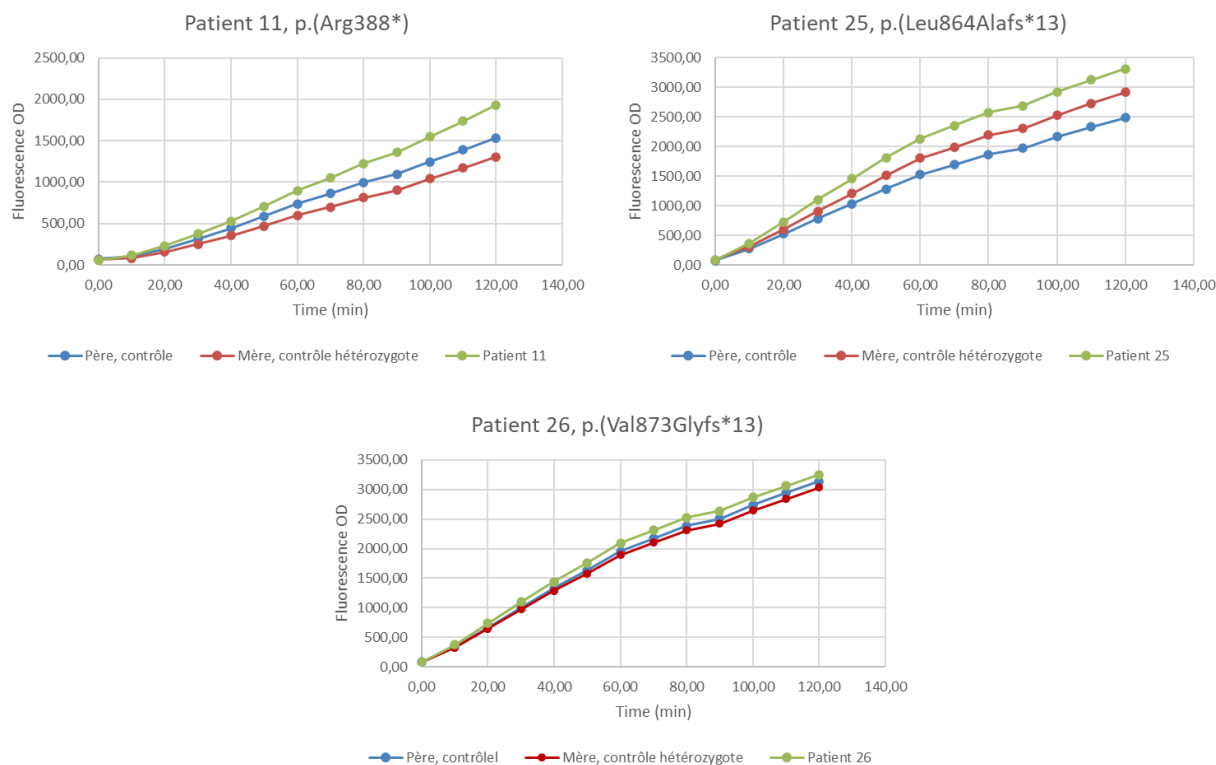
On constate une absence de protéine chez le patient 11, compatible avec la perte de fonction de *CUL4B* décrite auparavant.

Chez les patients 25 et 26, en revanche, on observe une expression de protéine CUL4B. Cette dernière semblerait cependant plus légère et une troncature prématurée apparaît pour le patient 25. Pour le patient 26, l'expression semble légèrement plus faible, bien que la quantité d'extrait protéique par puit soit bien similaire à celle des contrôles (contrôle tubuline). Une différence de taille n'est pas visible aussi clairement dans ce cas.

**La différence de résultats chez ces patients correspond probablement à une prise en charge différente du transcrit par le mécanisme de dégradation des ARNm non-sens ou *Nonsense Mediated Decay* (NMD), qui supprime les transcrits avec un codon stop prématuré et freine leur traduction. Dans le cas des patients 25 et 26, le transcrit échappe vraisemblablement au NMD – les variants sont situés dans l'avant dernier exon - ce qui conduit à la production de la protéine non fonctionnelle.**

## 2. Activité protéasomale

Chez ces mêmes patients, nous avons pu tester l'activité enzymatique du protéasome, dans l'hypothèse d'un lien entre dysfonction de *CUL4B* et système ubiquitine-protéasome.



**Figure 12.** Quantification de l'activité protéasomale chez 3 patients.

Les patients 11, 25 et 26 ont bénéficié de ce test de l'activité protéasomale sur lymphocytes T amplifiés. Les extraits protéiques natifs sont mis en contact avec un substrat nativement dégradé par le protéasome, le Suc-LLVY-AMC. La fluorescence émise est proportionnelle aux capacités de dégradation du protéasome.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence significative entre patients et contrôles lors des expérimentations sur extraits protéiques natifs (Figure 12). Les cellules des patients avec variant *CUL4B* que nous avons testé ont donc une activité protéasomale conservée, et il semble même qu'une tendance semble se dégager, avec une activité chymotrypsin-like plus élevée chez les cas-index.

Ces différents tests restent à répliquer chez l'ensemble des patients, ainsi que des explorations complémentaires sur les partenaires de *CUL4B*.

## IV. DISCUSSION

---

Les descriptions antérieures des patients présentant un syndrome de Cabezas ont posé les signes les plus caractéristiques (5,9). Il semble néanmoins important de souligner que le mode de recrutement principalement utilisé pour ces études est clinique et très peu moléculaire, ce qui entraîne de ce fait une vision partielle du phénotype associé à la maladie. Pour illustrer cette notion, on peut se référer à une étude publiée en 2015, portant sur les malformations cérébrales présentées par les patients porteurs d'un variant *CUL4B*. Alors qu'une partie de la cohorte était incluse selon des critères cliniques et que la seconde l'était selon des critères moléculaires - présence de variants pathogènes *CUL4B* -, les auteurs ont pu observer une grande disparité dans les manifestations cliniques des patients (8).

Dans cette étude, nous avons donc effectué un recrutement basé sur la présence d'un variant pathogène dans le gène *CUL4B*, ceci même en l'absence de suspicion de syndrome de Cabezas à l'issue de la consultation clinique.

Nous avons souhaité décrire les signes cliniques de notre cohorte de trente-trois patients porteurs d'anomalies génétiques pathogènes intéressant *CUL4B*, afin d'évaluer au mieux le spectre des manifestations cliniques potentielles chez de futurs patients.

Sur le plan clinique, nous avons ainsi retrouvé une petite taille de naissance (<10p), des anomalies cérébrales morphologiques, une épilepsie, une macrocéphalie dans des proportions proches des cas publiés. Une dysmorphie était également présente chez la majorité des patients, qui regroupait les éléments typiques du syndrome de Cabezas, même *a minima* chez les patients les moins dysmorphiques.

Nous avons cependant des différences importantes lorsque l'on s'intéresse à la fréquence des signes cliniques retrouvés chez nos patients par rapport aux études antérieures. Ces disparités peuvent être dues à plusieurs éléments.

Le premier, que nous avons déjà évoqué, et qui revêt une importance de premier ordre, est le recrutement. Il a été basé sur la présence moléculaire d'un variant en dehors de toute suspicion clinique établie. Si ces patients n'avaient pas eu accès au SHD, ils n'auraient pas été considérés comme faisant partie du spectre de la DILX liée à *CUL4B*, et une absence de diagnostic aurait pu persister en l'absence de signes cliniques typiques.

Le second élément de disparité est la proportion élevée de patients âgés de 5 ans ou moins (15/33) dans notre étude alors que dans les autres publications, les patients atteints du syndrome de Cabezas sont majoritairement de jeunes adolescents et adultes (5,9).

L'hypogonadisme associé à des testicules de petite taille représente également une de ces anomalies qu'il est plus facile de mettre en évidence cliniquement au moment de la puberté. Il convient donc d'être prudent sur l'examen des caractères sexuels secondaires au cours de cette période. Le retard statural est possiblement causé par cet hypogonadisme avec retard pubertaire, expliquant que nos patients les plus jeunes aient le plus souvent une taille normale.

Concernant le tremblement, la fréquence de 33% (10/30) reste tout de même bien supérieure à celle d'un tremblement isolé constaté dans la population générale, inférieur à 4% en population saine après 40 ans (24). Ce signe doit donc être recherché devant une suspicion de déficience intellectuelle liée au gène *CUL4B*. Ce symptôme peut constituer un argument supplémentaire en cas de clinique ne correspondant pas totalement aux descriptions du syndrome de Cabezas.

Enfin, la démarche ataxique que nous ne retrouvons que très peu dans cette étude, ne peut évidemment être observée que chez des patients en capacité de se déplacer de manière autonome, ce qui n'est pas le cas de la plus grande partie de nos individus.

La sévérité de la DI ou du retard psychomoteur ainsi que le retard de langage majeur concordent avec les descriptions antérieures. La majorité des individus de notre cohorte, y compris les adultes, s'expriment avec moins de trente mots. En revanche, nous avons pu mettre en évidence sur le plan comportemental des Troubles du Spectre Autistique (TSA) et/ou Déficit Attentionnel avec ou sans Hyperactivité (TDAH) non rapportés formellement auparavant. Bien qu'il soit probable que ces troubles aient été rapportés au sein de l'entité « troubles du comportement/agressivité » dans les publications antérieures, il convient de les rechercher chez les patients porteurs de variants *CUL4B* tout comme les troubles du sommeil (17%).

L'apport de la présente description vient également des nombreux signes extra-neurologiques que nous rapportons, et exceptionnellement décrits dans cette pathologie. Sur le plan dermatologique notamment, il semble que les anomalies de la pigmentation soient représentées dans les cohortes précédentes et *a fortiori* dans notre étude.

L'implication de *CUL4B* dans la réparation de l'ADN secondaire aux dommages d'irradiation questionne sur une potentielle susceptibilité cutanée chez les patients (10,15). Le suivi des patients et l'identification de nouveaux individus porteurs de variants *CUL4B* venant enrichir notre connaissance du phénotype, apporteront également des informations à plus long terme sur l'impact clinique des altérations de *CUL4B*.

Il est également intéressant de noter un autre signe plutôt rare, puisque retrouvé une seule fois dans notre cohorte et rapporté chez un autre patient d'une publication antérieure (8). Il s'agit d'un syndrome de Brown. Cette manifestation ophtalmologique est une paralysie oculomotrice due à la rétraction de la gaine tendineuse du muscle oblique supérieur. Ce signe peut d'ailleurs être confondu avec un strabisme, très fréquent dans notre cohorte. Il convient de les distinguer à l'examen neurologique des muscles oculomoteurs. Si sa présence reste anecdotique, ce signe n'est cependant pas toujours évident cliniquement, hors, une prise en charge chirurgicale peut être proposée, levant la limitation du regard et la gêne fonctionnelle chez les patients.

Des anomalies urologiques ont également été retrouvées de manière assez importante dans notre cohorte : 40% des patients étaient concernés par une cryptorchidie, des anomalies d'abouchement de l'urètre et/ou des hernies inguinales.

Les explorations biologiques initiées au cours de ce travail ne sont que très partielles et constituent l'amorce de tests sur la voie des cullines et les mécanismes physiopathologiques en cause. Un des objectifs des tests sur cellules de patient est d'établir un profil biologique type de la pathologie, dans le but de pouvoir tester les variants de signification inconnue, et ainsi aider au rendu des résultats pour les variants difficiles d'interprétation.

Nos observations sur le plan moléculaire supportent le mécanisme de perte de fonction déjà connu. Nous avons en effet observé une majorité de variants non-sens et *frameshift* avec apparition d'un codon stop prématuré, et une délétion emportant les quatre premiers exons, considérés alors comme pathogènes (9). Concernant les variants faux-sens chez les garçons, l'impact sur la fonction de *CUL4B* est vraisemblablement lié à une perturbation de la liaison protéique permettant la formation de complexes CRLs effectifs. L'impact du variant c.2740T>A, p.(\*914Lysext\*18) des patients 29 et 30 semble

affecter la partie C-terminale de la protéine, avec une potentielle perte de fonction liée à l'absence de processus de Neddylation nécessaire à la fonction de CUL4B (14).

Pour la patiente 22 qui porte un variant faux-sens au sein du domaine d'homologie des cullines (Cullin-homology), plusieurs arguments en font un candidat de première ligne : il s'agit d'un faux-sens proche d'une zone de liaison interprotéique aux protéines formant le complexe CRL, absent des bases de données publiques (GnomAD), et situé dans une région où peu de variants faux-sens sont rapportés comme bénins avec un score de pathogénicité prédit haut (CADD phred v1.6 = 27,2). Sa survenue *de novo* et le phénotype compatible confortent cette hypothèse et mettent en avant l'importance de la caractérisation préalable par les généticiens cliniciens dans le rendu des résultats moléculaires.

Nous n'avons pas trouvé de patientes portant de variant faux-sens et présentant une symptomatologie de type Cabezas dans la littérature. En revanche, certaines mères transmettrices d'un variant tronquant ont été considérées comme symptomatiques, avec une forme plus légère que chez leurs garçons, toutefois sans description clinique détaillée fournie par les auteurs des études concernées (8,9). Il faut également prendre en compte la description d'un patient masculin porteur d'un variant faux-sens et ne présentant pas un phénotype de DI syndromique classiquement lié à *CUL4B* en 2017 (25). Pour ce patient, le variant faux-sens a été considéré comme pathogène devant un potentiel effet structurel très spécifique sur les complexes CRLs. De nombreux mécanismes moléculaires peuvent être à l'origine de la défaillance cellulaire liée au variant dans *CUL4B*. Il est par exemple possible que le variant porté par la patiente 22 ait un effet dominant négatif, affectant l'ensemble du pool de protéine CUL4B malgré un allèle normal.

De la même manière, la délétion chez la patiente 31 engendre vraisemblablement une perte de fonction, un second évènement affectant l'allèle sain pouvant expliquer cette présentation classique (biais d'inactivation de l'X par exemple). Nous pourrions par la suite explorer cet aspect sur le plan biologique afin de valider la pathogénicité des variants de manière expérimentale.

Sur un plan plus fondamental, nous ne montrons pas d'impact significatif des variants des patients testés sur la fonction protéasomale. Cela laisse supposer que les symptômes ne soient pas en lien avec la perturbation du système UPS dans sa globalité. En revanche, l'activité chymotrypsin-like mesurée est toujours plus élevée chez les cas-index. L'interprétation de cette différence est délicate : il est montré que l'efficacité et l'activité du protéasome diminuent avec l'âge (17,26,27), et il est nécessaire de comparer les résultats de nos patients avec des sujets sains du même âge. Lors de ces tests, les parents de chacun des individus constituaient un contrôle, diminuant ainsi l'impact du fond génétique sur la variabilité de l'activité protéasomale, et permettant l'interprétation d'une activité enzymatique anormalement diminuée. À l'inverse, une tendance plutôt à la hausse nécessite des investigations plus ciblées. L'exploration des profils d'ubiquitination cellulaires globaux et spécifiques sont actuellement en cours, et permettront potentiellement d'identifier une dysrégulation plus restreinte d'un des acteurs de l'UPS.

L'exploration des voies Wnt-Catenin $\beta$  et Shh pourraient de même apporter des éléments de compréhension dans la physiopathologie de cette déficience intellectuelle liée à l'X.

Les processus liés à la réparation de l'ADN via le complexe CUL4B-DDB1 ont déjà permis d'effectuer un parallèle entre une ataxie spino-cérébelleuse progressive et les patients avec un syndrome de Cabezas, confortant l'hypothèse de la survenue de l'ataxie et du tremblement chez les patients au cours du temps (10). La poursuite des investigations visant à identifier les partenaires des cullines et leurs fonctions permettra certainement de découvrir de nouveaux partenaires impliqués dans le développement de la pathologie.

En conclusion, la description des patients porteurs de variants pathogènes dans le gène *CUL4B* a permis de retrouver une grande partie des signes cliniques observés dans le syndrome de Cabezas.

Le recrutement moléculaire que nous avons choisi n'a pas engendré de résultat complètement discordant avec la description du syndrome typique tel que publié auparavant. Notre cohorte étant composée de patients d'âges hétérogènes (de 12 mois à 66 ans), nous avons observé une grande variabilité de l'expression de cette déficience

intellectuelle syndromique liée à l'X, et avons recueilli de nombreuses anomalies peu, voire non rapportées auparavant.

Nous espérons que cette étude permette de mieux appréhender les manifestations cliniques des patients avec un variant *CUL4B*, au vu de la richesse phénotypique de cette pathologie. Nous avons également décrit deux jeunes filles atteintes, dont une porteuse d'un variant faux-sens et pour qui la présentation clinique semble concorder malgré des troubles cognitifs moins sévères.

A ce jour, l'ensemble des patients décrits, y compris dans ce travail, tendent à confirmer le mécanisme de perte de fonction.

Les explorations moléculaires restent préliminaires, mais ne guident pas notre attention sur la fonction protéasomale en premier plan.

La perspective d'obtention de cellules-souches pluripotentes pour une différenciation future en neurones de patients est quant à elle prometteuse. En effet, nous avons effectué les premières recherches sur lymphocytes sanguins.

L'obtention prochaine de modèles plus pertinents ainsi que la réalisation d'explorations de protéomiques nous permettront d'identifier les partenaires de *CUL4B* potentiellement impliqués en déficience intellectuelle, et ainsi de commencer à comprendre comment les variants à effet perte de fonction de *CUL4B* engendrent cette pathologie neurodéveloppementale.

## V. Bibliographie

---

1. Couturier-Turpin M-H. [The 21 trisomy's (Down syndrome) discovery]. *Rev Prat* [Internet]. 2005;55(12):1385—1389. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/16138607>
2. LEJEUNE J, TURPIN R, GAUTIER M. [Mongolism; a chromosomal disease (trisomy)]. *Bull Acad Natl Med*. 1959 Apr;143(11–12):256–65.
3. Cogne B. Implémentation du haut débit dans l'identification des causes moléculaires de la déficience intellectuelle. Université de Nantes. Unité de recherche : EA de génétique médicale, l'institut du thorax, UMR1087 24/10/2019;
4. Chiurazzi P, Schwartz CE, Gecz J, Neri G. XLMR genes: Update 2007. *Eur J Hum Genet*. 2008;16(4):422–34.
5. Cabezas DA, Slaugh R, Abidi F, Arena JF, Stevenson RE, Schwartz CE, et al. A new X linked mental retardation (XLMR) syndrome with short stature, small testes, muscle wasting, and tremor localises to Xq24-q25. *J Med Genet*. 2000;37(9):663–8.
6. Isidor B, Pichon O, Baron S, David A, Le Caignec C. Deletion of the CUL4B gene in a boy with mental retardation, minor facial anomalies, short stature, hypogonadism, and ataxia. *Am J Med Genet Part A*. 2010;152(1):175–80.
7. Sjögren B, Swaney S, Neubig RR. FBXO44-mediated degradation of RGS2 protein uniquely depends on a cullin 4B/DDB1 complex. *PLoS One*. 2015;10(5):1–18.
8. Vulto-van Silfhout AT, Nakagawa T, Bahi-Buisson N, Haas SA, Hu H, Bienek M, et al. Variants in CUL4B are associated with cerebral malformations. *Hum Mutat*. 2015;36(1):106–17.
9. Tarpey PS, Raymond FL, O'Meara S, Edkins S, Teague J, Butler A, et al. Mutations in CUL4B, which encodes a ubiquitin E3 ligase subunit, cause an X-linked mental retardation syndrome associated with aggressive outbursts, seizures, relative macrocephaly, central obesity, hypogonadism, pes cavus, and tremor. *Am J Hum Genet*. 2007;80(2):345–52.
10. Kerzendorfer C, Whibley A, Carpenter G, Outwin E, Chiang SC, Turner G, et al. Mutations in Cullin 4B result in a human syndrome associated with increased camptothecin-induced topoisomerase I-dependent DNA breaks. *Hum Mol Genet*. 2010;19(7):1324–34.
11. Wang Y, Yue D. CUL4B promotes aggressive phenotypes of HNSCC via the activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Cancer Med*. 2019;8(5):2278–87.
12. He F, Lu D, Jiang B, Wang Y, Liu Q, Liu Q, et al. X-linked intellectual disability gene CUL4B targets Jab1/CSN5 for degradation and regulates bone morphogenetic protein signaling. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2013;1832(5):595–605.
13. Feldman RMR, Correll CC, Kaplan KB, Deshaies RJ. A complex of Cdc4p, Skp1p, and Cdc53p/cullin catalyzes ubiquitination of the phosphorylated CDK inhibitor Sic1p. *Cell*. 1997;91(2):221–30.
14. Petroski MD, Deshaies RJ. Function and regulation of cullin-RING ubiquitin ligases. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005;6(1):9–20.
15. Yi J, Lu G, Li L, Wang X, Cao L, Lin M, et al. DNA damage-induced activation of CUL4B targets HUWE1 for proteasomal degradation. *Nucleic Acids Res*. 2015;43(9):4579–90.
16. Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:425–79.
17. Bhattacharyya S, Yu H, Mim C, Matouschek A. Regulated protein turnover: snapshots of the proteasome in action. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2014;15(2):122–33. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrm3741>
18. Küry S, Besnard T, Ebstein F, Khan TN, Gambin T, Douglas J, et al. De Novo Disruption of the Proteasome Regulatory Subunit PSMD12 Causes a Syndromic Neurodevelopmental Disorder. *Am J Hum Genet*. 2017;100(2):352–63.

19. Sobreira N, Valle D, Hamosh A. an Interest in the Same Gene. 2016;36(10):928–30.
20. Zou Y, Liu Q, Chen B, Zhang X, Guo C, Zhou H, et al. Mutation in CUL4B, which encodes a member of cullin-RING ubiquitin ligase complex, causes X-linked mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2007;80(3):561–6.
21. Londin ER, Adjianto J, Philp N, Novelli A, Vitale E, Perria C, et al. Donor splice-site mutation in CUL4B is likely cause of X-linked intellectual disability. *Am J Med Genet Part A.* 2014;164(9):2294–9.
22. Zou Y, Mi J, Cui J, Lu D, Zhang X, Guo C, et al. Characterization of nuclear localization signal in the N terminus of CUL4B and its essential role in cyclin E degradation and cell cycle progression. *J Biol Chem.* 2009;284(48):33320–32.
23. Ravn K, Lindquist SG, Nielsen K, Dahm TL, Tümer Z. Deletion of CUL4B leads to concordant phenotype in a monozygotic twin pair. *Clin Genet.* 2012;82(3):292–4.
24. Louis ED, Ferreira JJ. How common is the most common adult movement disorder? Update on the worldwide prevalence of essential tremor. *Mov Disord [Internet].* 2010;25(5):534—541. Available from: <https://doi.org/10.1002/mds.23284>
25. Weissbach S, Reinert MC, Altmüller J, Krätzner R, Thiele H, Rosenbaum T, et al. A new CUL4B variant associated with a mild phenotype and an exceptional pattern of leukoencephalopathy. *Am J Med Genet Part A.* 2017;173(10):2803–7.
26. Jiang Y, Beaudet AL. Human disorders of ubiquitination and proteasomal degradation. *Curr Opin Pediatr [Internet].* 2004;16(4). Available from: [https://journals.lww.com/co-pediatrics/Fulltext/2004/08000/Human\\_disorders\\_of\\_ubiquitination\\_and\\_proteasomal.16.aspx](https://journals.lww.com/co-pediatrics/Fulltext/2004/08000/Human_disorders_of_ubiquitination_and_proteasomal.16.aspx)
27. Huang L, Chen C. Proteasome Regulators: Activators and Inhibitors. *Curr Med Chem.* 2009;16(8):931–9.

---

# Annexes

---

Annexe 1 : Tableau des manifestations cliniques détaillées des 33 patients

Annexe 2 : Tableau des caractéristiques complémentaires des variants *CUL4B*

Annexe 3 : Consentement de publication de photographie

Annexe 1 : Tableau 2. Liste complète des informations cliniques, en anglais (publication médicale en cours)

| Case                                                                       | Patient 1                | Patient 2                | Patient 3    | Patient 4               | Patient 5            | Patient 6              | Patient 7                      | Patient 8                       | Patient 9                       | Patient 10              | Patient 11              | Patient 12                      | Patient 13                         | Patient 14                       | Patient 15         | Patient 16               | Patient 17              | Patient 18                   | Patient 19                   | Patient 20                       | Patient 21                          | Patient 22                          | Patient 23               | Patient 24              | Patient 25                         | Patient 26                                            | Patient 27                                                           | Patient 28                                               | Patient 29                                   | Patient 30                         | Patient 31                        | Patient 32       | Patient 33 |    |
|----------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------|-------------------------|----------------------|------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|--------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------|------------|----|
| Age at last investigation                                                  | 8 years                  | 3 years                  | ND           | 6 years                 | 4 years              | 10 years               | 2 years 7 months               | 20 years                        | 12 months                       | 4 years                 | 4 years                 | 9 years                         | 2 years 2 months                   | 5 years                          | 19 years           | 66 years                 | 9 years                 | 5 years                      | 19 months                    | 5 years                          | 13 years                            | 3 years                             | 6 years                  | 14 months               | 7 years 5 months                   | 3 years 8 months                                      | 16 years                                                             | 13 years 10 months                                       |                                              |                                    |                                   |                  |            |    |
| Gestational week                                                           | 40                       | 38+4                     | ND           | 37                      | ND                   | 38+2                   | Full term                      | 40                              | 38+3                            | 38                      | 39                      | 40                              | 39+4                               | full term                        | ND                 | ND                       | ND                      | 40+5                         | 41                           | 36                               | ND                                  | 42 weeks                            | Term                     | 40 + 3                  | full term                          | ND                                                    | 36                                                                   | 42 weeks                                                 | full term                                    |                                    |                                   |                  |            |    |
| Birth weight (kg) or SD on charts (when p not calculable)                  | 3.580 kg (51p)           | 3.37 kg (58p)            | ND           | 2.012kg (<1p)           | 3.64 kg (+0.16 SD)   | 2.180 kg (<1p)         | 2.72 kg (<1p)                  | 2.640kg (<1p)                   | 2.700 kg (15p)                  | 2.700 kg (15p)          | 3.235 kg (39p)          | 2.940kg (8p)                    | 3 kg (14p)                         | ND                               | 2.70 kg (-1.38 SD) | ND                       | ND                      | 3.35 (35p)                   | 2.976kg (4p)                 | 2.27 kg (14p)                    | ND                                  | 2.268kg (<1p)                       | 3.06kg (3p)              | 2.906kg (3p)            | 3.360 kg (18p)                     | 3.34 kg (17p)                                         | 2.83 kg (83p)                                                        | 3140 g (83p)                                             | 2.8kg (<1p)                                  | 3.34kg (19p)                       | 2935g (31p) 2990 (55p) 3100 (44p) |                  |            |    |
| Birth length (p)                                                           | 51 cm (47p)              | 49.5 cm (44p)            | ND           | ND                      | 48 cm (-1 SD)        | 45 (3p)                | ND                             | ND                              | 47 (13p)                        | 48 cm (29p) 49 cm (29p) | 48.5cm (12p)            | 48 cm (11p)                     | ND                                 | ND                               | 47.5 (-1 SD)       | ND                       | ND                      | 48 cm (8p)                   | ND                           | ND                               | ND                                  | 52.1 cm (37p)                       | 47cm (2p)                | 54cm (81p)              | 48 cm (3p)                         | 48.26 cm                                              | 47.5 cm (55p)                                                        | ND                                                       | ND                                           | 47.5cm (22p)                       | 49 (64p)                          | 50 (67p)         |            |    |
| Birth head circumference (p)                                               | 37 cm (97p)              | 37 cm (97p)              | ND           | ND                      | 35 cm (-0.4 SD)      | 34 (47p)               | ND                             | ND                              | 37 (97p)                        | 34cm (52p) 37 cm (96p)  | 32cm (2p)               | 36 cm (80p)                     | ND                                 | 34 cm (-0.83 SD)                 | ND                 | ND                       | 35 cm (48p)             | ND                           | ND                           | ND                               | 35 cm (24p) 34cm (19p)              | 38cm (96p)                          | 36.5 cm (75p)            | ND                      | 36cm (97p)                         | 53cms aged 6 yrs 6 months (80p)                       | 47 cm aged 12 mths (56p)                                             |                                                          |                                              |                                    |                                   |                  |            |    |
| Growth abnormalities                                                       | Yes                      | Yes                      | ND           | No                      | Yes                  | No                     | Yes                            | Yes                             | Yes                             | No                      | No                      | Yes                             | Yes                                | Yes                              | Yes                | Yes                      | Yes                     | no                           | No                           | Yes                              | ND                                  | Yes                                 | Yes                      | h/o failure to thrive   | Yes                                | Yes                                                   | No                                                                   | 67 cm age 38 weeks, 77 cm aged 70 week                   | OPC P>95 from 9 to 70 week of age            | No                                 |                                   |                  | No         | No |
| Height at age last investigation (SD;p)                                    | 132.5 cm (+0.79 SD; 79p) | 88.9 cm (-1.83 SD; 3p)   | ND           | 111 cm (-0.86 SD; 19p)  | ND; mean 1.64 SD; 5p | 128 cm (-1.64 SD; 5p)  | 10p- Normal height at 6 years  | 130.5 cm at 11y 8m (-2.85 SD)   | 100 cm (-0.69 cm <1p; -2.80 SD) | 100 cm (-0.52 SD; 30p)  | 97 cm (-1.24 SD; 11p)   | 120.6 cm (-0.58 SD; 214 SD; 2p) | 84 cm (-1.28 SD; 10p)              | 104 cm at 5y 1mo (-1.06 SD; 14p) | ND; short stature  | ND; short stature        | 175 cm (-0.02 SD; 41p)  | 127 cm (-1.27 cm (-150; 25p) | 112.5 cm (-1.40; 79 SD; 79p) | 71.3 (-3.57 SD; <1p)             | 106.9 cm (-0.44 SD; 34p)            | 128 cm (-0.19 SD; <1p)              | 95 cm (-0.19 SD; 42p)    | 97.8 cm (-1.34 SD; <1p) | 95 cm (-2.31 SD; 48 months)        | 160 cm (-1.44 SD; 8p)                                 | 131.8 cm aged 12 yrs 11 mths (-2.93 SD; <1p)                         | 136 cm aged 10 years 0 months (-1.85 SD; 34p)            | 161 (-1.85)                                  | 150 (-1)                           |                                   |                  |            |    |
| Weight at age last investigation (SD;p)                                    | 39.7 kg (+2.29 SD; 99p)  | 14.25 kg (-0.06 SD; 48p) | ND, Obesity  | 18.3 kg (-1.05 SD; 15p) | ND; mean 1.88 SD; 3p | 24.1 kg (-1.88 SD; 3p) | 10p- low for weight at 6 years | 21.3 kg at 20y (-3.35 SD)       | 15kg (-0.77 SD; 22p)            | 13.9kg (-0.52 SD; 14p)  | 26.5 kg (-0.58 SD; 28p) | 10.7 kg (-1.78 SD; 4p)          | 16.5 kg at 5y 1mo (-1.51 SD; 16p)  | ND; obesity                      | ND; obesity        | 83.5 kg (+0.88 SD; 81p)  | 26.2 kg (-0.53 SD; 81p) | 18 kg (-0.2 SD; 42p)         | 9.17 kg (-0.42 SD; 42p)      | 20.2 kg (-0.17 kg (-2.34 SD; 1p) | 26.9 kg (-0.19 SD; <1p)             | 17.2 kg (-1.49 SD; 93p)             | 16 kg (-2.07 SD; 30; 3p) | 7.85 kg (-1.34 SD; 9p)  | 14 kg (1.34 SD; 9p) at 48 months   | 57 kg (-0.3 SD; 38p) at 16 yrs 11 mths (-1.24 SD; 1p) | 20 kg at 6 yrs 1 mth (-0.3 SD; 38p) at 16 yrs 11 mths (-1.67 SD; 1p) | 28.85 kg (-0.3 SD; 38p) at 16 yrs 11 mths (-1.24 SD; 1p) | 32 kg aged 10 years 0 months (-1.85 SD; 34p) | 72 (+0.12)                         | 70 (+1)                           |                  |            |    |
| Head circumference at age last investigation                               | 51 cm (-0.94 SD; 17p)    | 48 cm (-1.16p)           | Macrocephaly | 52cms (+0.35 SD; 64p)   | ND; macrocephaly     | 51.6 cm (-1.6 cm; 17p) | ND                             | 56 cm at 15y 7m (+0.26 SD; 77p) | 49 (+25D; 98p)                  | 51 cm (+0.38 SD; 65p)   | 50 cm (-0.37 SD; 37p)   | 54.5 (+1.45 SD; 99p)            | 51.5 cm at 4y 7mos (+0.54 SD; 70p) | ND; macrocephaly                 | ND; macrocephaly   | 60.8 cm (+0.88 SD; 81p)  | 53 cm (SD; 50p)         | 50.9 cm (-0.07 SD; 47p)      | 50.9 cm (-0.07 SD; 47p)      | 49 cm (+0.82 SD; 79p)            | 54.3 cm age 9 years (+2.35 SD; 99p) | 52.2 cm age 9 years (+1.54 SD; 95p) | 51.7 cm (+0.14 SD; 56p)  | 45.5 cm (+0.14 SD; 56p) | 53 cm at 48 months (+1.90 SD; 95p) | 52.5 cm (+1.67 SD; 95p)                               | 57.5 cm (+1.54 SD; 95p)                                              | 56.5 cm age 16 yrs (+1.54 SD; 95p)                       | 55.3 cm at 12 yrs 11 mths (+0.82 SD; 79p)    | 53.5 cm age 16 yrs (+0.65 SD; 74p) | 59 (+2.75D; 99p)                  | 57 (+1.50D; 84p) |            |    |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) (p when > 2 years, IOTF if < 2 years, CDC charts) | 22.6 (98p, OBESE)        | 18.1 (94p, overweight)   | ND           | 14.9 (33p)              | ND                   | 14.7 (11p)             | 14.7 at 6 years (25p)          | ND                              | 17.18 (-0.47)                   | 15 (28p)                | 14.8 (21p)              | 18.2 (95p, OBESE)               | 15.2 (13p)                         | 15.3 (44p)                       | ND, OBESE          | 27.3 (adult, overweight) | 16.27                   | 14.2 (12p)                   | 18 (<10T25)                  | 17.7 (93p, overweight)           | 16.4 (16p)                          | 19.1 (98p, OBESE)                   | 16.7 (81p)               | 15.6 (10TF 17-18.5)     | ND                                 | 22.3 (71p)                                            | ND                                                                   | 16.6 (26p)                                               | NA                                           | 26.5 (89p, overweight)             | 31.1 (99p, OBESE)                 |                  |            |    |

| Case                                     | Patient 1 | Patient 2                      | Patient 3                           | Patient 4                                                                                                 | Patient 5                                                 | Patient 6                                    | Patient 7                                              | Patient 8              | Patient 9                                  | Patient 10      | Patient 11         | Patient 12      | Patient 13                              | Patient 14                       | Patient 15                            | Patient 16  | Patient 17      | Patient 18   | Patient 19          | Patient 20                            | Patient 21            | Patient 22                                                      | Patient 23                                           | Patient 24              | Patient 25                    | Patient 26                 | Patient 27       | Patient 28           | Patient 29       | Patient 30                        | Patient 31               | Patient 32          | Patient 33       |
|------------------------------------------|-----------|--------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------------------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|-------------|-----------------|--------------|---------------------|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------|----------------------|------------------|-----------------------------------|--------------------------|---------------------|------------------|
| Degree of developmental delay or ID      |           | severe                         | ND                                  | severe                                                                                                    | severe                                                    | severe                                       | moderate                                               | severe                 | ND                                         | moderate-severe | moderate-severe    | moderate-severe | severe; functioning around 12-18 months | severe                           | severe                                | severe      | moderate-severe | severe       | severe              | severe                                | ND                    | ND                                                              | FSD 58 on WISC-V; mild delay, sitting at age 2 years | moderate                | ND global developmental delay | severe                     | severe           | severe               | moderate-severe  | moderate-severe                   | moderate-severe          | moderate-severe     | moderate-severe  |
| Age of walking (sitting alone 12 months) | 26 months | Not walking                    | ND                                  | 24 months                                                                                                 | Not walking                                               | 23 months                                    | 37 months                                              | 19 months              | No walking at 12 months                    | 2.6 years       | 26 months          | 42 months       | Not walking                             | 24 months                        | 26 months                             | 36 months   | ND              | 3 years      | 16-17 months        | ND                                    | ND                    | 2-3 years                                                       | Not walking at age 3 years                           | 5 years 9 months        | Not walking at 28 months      | 26 months                  | Not walking      | 3 years              | 2.5 years        | 3 years                           | 5 years                  | 18 months           | 20 months        |
| Age of first words                       | 18 months | No words                       | ND                                  | 18m                                                                                                       | ND                                                        | 4 years                                      | 28 months                                              | ND                     | No words                                   | No words        | 24 months          | No words        | No words                                | 4 years                          | ND                                    | ND          | ND              | 5-6y         | No words at 5.5 yrs | No words                              | ND                    | ND                                                              | No words at age 3 years                              | 3 years                 | No words at 28 months         | ND                         | No words         | 4 years              | 5 yrs            | 2 yrs 4 mths                      | 10 yo                    | ND                  | ND               |
| Speech abilities                         | Few words | No words                       | ND                                  | Non verbal                                                                                                | A few words                                               | Few words, high verbal language difficulties | four to five words                                     | few words              | No words                                   | No words        | few words          | No words        | No syllables or words                   | 3 words including "Hi, Bye, Eat" | A few words                           | A few words | Says 20 words   | A few words  | Nonverbal           | says one word "dada" Non specifically | 39 words              | full sentences                                                  | ND                                                   | 6 words                 | No words at 28 months         | A few words                | Nonverbal        | A few words          | 10 words         | 15-20 words                       | few words with intention | few words           | few words        |
| Seizures                                 | No        | ND                             | ND                                  | Yes, at 18 months                                                                                         | No                                                        | No                                           | Yes, tonic-clonic seizure diagnosed at age 6 1/2 years | No                     | No                                         | Yes             | No                 | No              | No                                      | No                               | No                                    | Yes         | Yes             | No           | No                  | ND                                    | ND                    | seizures at 2m in setting of Non-accidental trauma              | None                                                 | Yes, partial            | No                            | Yes, hyperthermic seizures | No               | Yes, partial complex | No               | Yes diagnosed epilepsy aged 2 yrs | Yes                      | No                  | Yes              |
| Tremor                                   | No        | No                             | ND                                  | No                                                                                                        | No                                                        | tremor in fine motoricity                    | hand tremor                                            | Yes intentional tremor | Yes                                        | Yes             | No                 | Yes             | No                                      | No                               | ND                                    | No          | No              | No           | No                  | ND                                    | ND                    | No                                                              | No                                                   | Yes central             | Yes                           | No                         | Yes, axial       | Yes                  | No               | ND                                | No                       | Yes beginning by 2y | No               |
| Hypotonia                                | Yes       | Yes                            | ND                                  | Yes                                                                                                       | ND                                                        | No                                           | Yes                                                    | Yes                    | Yes                                        | Yes             | Yes                | Yes             | Yes                                     | Yes                              | ND                                    | ND          | Yes             | Yes, central | Yes                 | Yes                                   | Yes                   | Yes                                                             | Yes, central                                         | Yes central             | Yes                           | Yes                        | Yes              | Yes                  | Yes              | Yes                               | Yes                      | Yes                 | Yes              |
| Anomalies in brain imaging               | NO        | Absence of the corpus callosum | Displacement of the corpus callosum | Area of hypodensity identified primarily in the left temporal lobe and extending to the left frontal lobe | Left temporal lobe and extending to the left frontal lobe | Hydrocephalus                                | Normal brain MRI                                       | Normal brain MRI       | SAC ring with trabeculae, normal brain MRI | Normal          | Cerebellar atrophy | Normal          | Normal                                  | Normal at 10 months              | Cerebellar atrophy, myelination delay | ND          | ND              | Normal       | Normal brain MRI    | ND                                    | Two Normal brain MRIs | Normal brain MRI                                                | Polycystic degeneration                              | Polycystic degeneration | Normal brain MRI              | Normal brain MRI           | Normal brain MRI | Normal brain MRI     | Normal brain MRI | Normal brain MRI                  | Normal brain MRI         | Normal brain MRI    | Normal brain MRI |
| EEG anomalies                            | ND        |                                | ND                                  | Suggestion of global central dysfunction,                                                                 |                                                           |                                              |                                                        |                        |                                            |                 |                    |                 |                                         |                                  |                                       |             |                 |              |                     |                                       |                       | Suggestive of hyperexcitability of deep spikes in the left side |                                                      |                         |                               |                            | Yes              | ND performed         | EEG at 10 years  | EEG at 10 years                   | EEG at 10 years          | EEG at 10 years     | EEG at 10 years  |

| Case                      | Patient 1                                                                   | Patient 2    | Patient 3                | Patient 4 | Patient 5                | Patient 6                           | Patient 7                                                   | Patient 8                                                                                                                                    | Patient 9         | Patient 10 | Patient 11                              | Patient 12                                                                          | Patient 13                                                                                   | Patient 14                           | Patient 15          | Patient 15               | Patient 16             | Patient 17                                         | Patient 18                                      | Patient 19             | Patient 20 | Patient 21                                                                                                                                                           | Patient 22                                                         | Patient 23   | Patient 24                                                                   | Patient 25                      | Patient 26      | Patient 27 | Patient 28                                | Patient 29                                                                              | Patient 30                                      | Patient 31                        | Patient 32                                      | Patient 33                                      |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------------------|-----------|--------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------------|------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------|------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Behavioural anomalies     | ADHD, anxiety, aggression, outbursts                                        | No           | Autism spectrum disorder | Autism    | Yes, aggressive outburst | agitation, attention deficit, happy | None, curious                                               | Pleasant affect, anxiety, emotional lability, autism, behaviour worsens when tired, tooth-grinding, breathing when younger, hand stereotypes | poor contact      | No         | short attention span, happy disposition | Hyperactivity, manual stereotypes, happy disposition,                               | No                                                                                           | Autism                               | No                  | Yes, aggressive outburst | No                     | Happy affect/low frustration tolerance/hyperactive | Autism, short attention span, easily distracted | NO                     | Autism     | No                                                                                                                                                                   | No                                                                 | None         | Happy affect                                                                 | Breath holding spells, tantrums | Autistic traits | Yes        | Hyperactivity, excessive smiling, anxious | Yes, aggressive, kids, chokes, bites, gets frustrated, very rough on Soma for behaviour | Yes, frustration can have challenging behaviour | Stereotypic movements and bruxism | Yes, frustration can have challenging behaviour | Yes, frustration can have challenging behaviour |
| Eye anomalies             | Chorioretinal colobomas involving macula and optic disc                     | NO           | NO                       | No        | No                       | No                                  | No                                                          | Glaucoma, eyes structurally OK                                                                                                               | Epithelioma       | No         | strabismus                              | divergent strabismus, epicanthic folds                                              | No                                                                                           | amblyopia and L. esotropia           | irids heterochromia | No                       | NO                     | No                                                 | No                                              | NO                     | strabismus | esotropia                                                                                                                                                            | Strabismus                                                         | None         | Not known                                                                    | NO                              | No              | Ephora     | Squint right eye                          | Strabismus                                                                              | No                                              | No                                | No                                              |                                                 |
| Hearing impairment        | No                                                                          | No           | NO                       | No        | No                       | No                                  | No                                                          | No                                                                                                                                           | No                | No         | No                                      | No                                                                                  | No                                                                                           | No                                   | SMHL                | SMHL                     | NO                     | No                                                 | No                                              | No                     | No         | Mild conductive                                                                                                                                                      | No                                                                 | No           | No                                                                           | No                              | No              | NO         | No                                        | No                                                                                      | Hedgommets                                      | No                                | No                                              | No                                              |
| Skeletal anomalies        | Kyphoscoliosis, valgus feet, genu valgum, right thumb, chest wall asymmetry | NO           | NO                       | No        | NO                       | No                                  | None, normal bone growth, tendons repaired stuff at 6 years | Tight Achilles                                                                                                                               | Brachydactyly     | No         | No                                      | Brachydactyly, 5th finger clinodactyly, bilateral, short distal phalange thickening | coracoclavicular palsy, 5th finger clinodactyly, bilateral, short distal phalange thickening | No                                   | No                  | Kyphosis                 | Kyphosis and scoliosis | Broad great toes, broad 1st metatarsal             | Winging of scapulae, mild pes planus            | Normal skeletal survey | NO         | Clinodactyly, triphalangal thumb on the L. thumb hypoplasia bilaterally, 2,3 toe syndactyly on the R, 4,5 syndactyly bilaterally, pectus excavatum, accessory nipple | Shoe status, small feet, 5th finger clinodactyly, broad great toes | No           | Right lower limb and foot shorter than the left toes, short toes and fingers | No                              | No              | No         | No                                        | Added thumbs at birth                                                                   | Brachydactyly                                   | Brachydactyly                     |                                                 |                                                 |
| Pis causus                | No                                                                          | NO           | NO                       | No        | No                       | No                                  | Yes, Right foot is mild, anus, feet very small              | No                                                                                                                                           | No                | NO         | No                                      | No                                                                                  | No                                                                                           | No                                   | No                  | No                       | No                     | NO                                                 | No                                              | No                     | No         | No                                                                                                                                                                   | Scapular left SHL                                                  | No           | yes                                                                          | No                              | No              | No         | No                                        | No                                                                                      | No                                              | No                                | No                                              | No                                              |
| Gastrointestinal problems | No                                                                          | constipation | NO                       | No        | No                       | No                                  | Constipation - severe                                       | Constipation - severe                                                                                                                        | Failure to thrive | No         | No                                      | constipation                                                                        | constipation                                                                                 | hs of g-tube, currently on GAPS diet | No                  | No                       | constipation           | No                                                 | No                                              | No                     | No         | No                                                                                                                                                                   | constipation, oral aversion to G-tube                              | Constipation | Constipation                                                                 | No                              | No              | No         | No                                        | Failure to thrive early on, stools soft, no change on feeds                             | No                                              | No                                | No                                              | No                                              |

| Case               | Patient 1                                                      | Patient 2                                                                    | Patient 3              | Patient 4                                                                      | Patient 5                                                                                    | Patient 6                                                                                                         | Patient 7                                                                                       | Patient 8                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Patient 9                                                                                                                       | Patient 10 | Patient 11                                                                                                                  | Patient 12                                                                                               | Patient 13                                                      | Patient 14                                                      | Patient 15                                                      | Patient 16                                                      | Patient 17                                                                                                                      | Patient 18                                       | Patient 19                    | Patient 20                    | Patient 21                    | Patient 22                    | Patient 23                    | Patient 24                    | Patient 25                    | Patient 26                    | Patient 27                    | Patient 28                    | Patient 29                    | Patient 30                    | Patient 31                    | Patient 32                    | Patient 33                    |
|--------------------|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Facial dysmorphism | Hypertelorism, broad nasal bridge, epicanthic, sparse eyebrows | Low set ears, hypertelorism, broad nasal bridge, epicanthic, sparse eyebrows | No                     | Down slanting palpebral fissures, elongated hypertelorism                      | Large forehead, low set ears, hypertelorism, broad nasal bridge, epicanthic, sparse eyebrows | Short forehead, epicanthic, short ears, mouth                                                                     | Described as sunken, epicanthic, short ears, mouth                                              | High forehead, triangular face, rounded nasal tip, deep set eyes, prominent chin, bridge with wide upper nose, epicanthic folds                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | High forehead, triangular face, rounded nasal tip, deep set eyes, prominent chin, bridge with wide upper nose, epicanthic folds | NO         | Hypertelorism, epicanthic, broad nasal bridge, low set ears, hypertelorism, broad nasal bridge, epicanthic, sparse eyebrows | Square jaw, prominent chin, deep set eyes, prominent chin, bridge with wide upper nose, epicanthic folds | Frontal bossing, triangular face, epicanthic, short ears, mouth | Frontal bossing, triangular face, epicanthic, short ears, mouth | Frontal bossing, triangular face, epicanthic, short ears, mouth | Frontal bossing, triangular face, epicanthic, short ears, mouth | High forehead, triangular face, rounded nasal tip, deep set eyes, prominent chin, bridge with wide upper nose, epicanthic folds | Vertical forehead, epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth | Epicanthic, short ears, mouth |
|                    | Other anomalies or problems                                    | Small testes, micropenis, irregular, train sleep apnea                       | Small forehead, Autism | Hand mouthing, feeding difficulties, interaction with surroundings, low verbal | Small testes, micropenis, torticollis                                                        | Neonatal irregular breathing, recurrent respiratory infections, low muscle tone, low muscle tone, low muscle tone | Hydrocephalus in infancy, recurrent seizures, low muscle tone, low muscle tone, low muscle tone | Sacral dysplasia, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Spina bifida, mild Sp |                                                                                                                                 |            |                                                                                                                             |                                                                                                          |                                                                 |                                                                 |                                                                 |                                                                 |                                                                                                                                 |                                                  |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |                               |

**Tableau 2. (Suite) ND: not determined; SD: standard deviation. Use the WHO growth standards to monitor growth for infants and children ages 0 to 2 years of age in the U.S. Use the CDC growth charts for children age 2 years and older in the U.S. BMI and the corresponding BMI-for-age percentile based on the CDC growth charts for children and teens (ages 2 through 19 years)**

**Annexe 2 :** Tableau 3. Caractéristiques complémentaires des variants *CUL4B*, Transcrit NM\_003588.3

| Patient (New names)          | Patient 1                         | Patient 2            | Patient 3            | Patient 4 | Patient 5                       | Patient 6                                                           | Patient 7                                                           | Patient 8                                                           | Patient 9                                                           | Patient 10 | Patient 11                                                                                           | Patient 12 | Patient 13 | Patient 14          | Patient 15 | Patient 16 |
|------------------------------|-----------------------------------|----------------------|----------------------|-----------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|---------------------|------------|------------|
| Gender                       | Male                              | Male                 | Male                 | Male      | Male                            | Male                                                                | Male                                                                | Male                                                                | Male                                                                | Male       | Male                                                                                                 | Male       | Male       | Male                | Male       | Male       |
| Public Database              | OMIM, pathogenic, literature only | ClinVar, UV, Invitae | ClinVar, UV, Invitae | x         | ClinVar, Pathogenic, Strasbourg | ClinVar 1: GeneDxpatho et ClinVar 2: Dijon, patho de novo, Decipher | ClinVar 1: GeneDxpatho et ClinVar 2: Dijon, patho de novo, Decipher | ClinVar 1: GeneDxpatho et ClinVar 2: Dijon, patho de novo, Decipher | ClinVar 1: GeneDxpatho et ClinVar 2: Dijon, patho de novo, Decipher | x          | OMIM literature only; Centre for Mendelian Genomics, University Medical Centre Ljubljana, Pathogenic | x          | x          | ClinVar GeneDxpatho | x          | x          |
| Method of mutation detection | WGS                               | WES                  | ND                   | WES       | ND                              | ND                                                                  | WES                                                                 | WES                                                                 | WES                                                                 | WES        | WES                                                                                                  | WES        | trio-WES   | WES                 | ND         | ND         |

| Patient (New names)          | Patient 17 | Patient 18                 | Patient 19                  | Patient 20          | Patient 21          | Patient 22 | Patient 23 | Patient 24                        | Patient 25                        | Patient 26 | Patient 27                        | Patient 28                        | Patient 29 | Patient 30 | Patient 31 | Patient 32 | Patient 33 |
|------------------------------|------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------|---------------------|------------|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Gender                       | Male       | Male                       | Male                        | Male                | Male                | Female     | Male       | Male                              | Male                              | Male       | Male                              | Male                              | Male       | Male       | Female     | Male       | Male       |
| Public Database              | x          | ClinVar, Pathogenic, Lille | ClinVar, GeneDxlikely patho | ClinVar GeneDxpatho | ClinVar GeneDxpatho | x          | x          | ClinVar likely pathogenic, Nantes | ClinVar likely pathogenic, Nantes | x          | ClinVar likely pathogenic, Nantes | ClinVar likely pathogenic, Nantes | x          | x          | x          | x          | x          |
| Method of mutation detection | WES        | ND                         | WES                         | ND                  | ND                  | WES        | WES        | WES                               | WES                               | WES        | WES                               | WES                               | WES        | WES        | SNParray   | cgh-array  | cgh-array  |

### Consentement à l'utilisation de photographies médicales

Nom du patient : \_\_\_\_\_ Date : \_\_\_\_\_

☐ Cocher ici si personne mineure ou dans l'incapacité de donner son consentement

Je consens à ce que des photographies médicales soient faites de moi ou de mon enfant (ou de la personne dont je suis le tuteur légal). Je comprends que l'information peut être utilisée dans mon dossier médical, à des fins d'enseignement médical, ou pour une publication dans des manuels médicaux ou des revues ainsi que je l'ai stipulé ci-dessous. En consentant à ces photographies médicales, je comprends que je ne vais recevoir aucune rémunération d'aucune partie que ce soit. Mon refus d'autoriser des photographies n'affectera en aucune manière les soins médicaux que je vais recevoir. Si, à l'avenir, j'ai des questions ou je désire retirer mon consentement, je peux contacter :

En signant le document présent, je confirme que ce formulaire de consentement m'a été expliqué en termes compréhensibles.

1. Je consens à ce que ces photographies soient utilisées dans des publications médicales, incluant les revues médicales, les manuels et les publications électroniques. Je comprends que ces images peuvent être vues par des individus du grand public, en plus des chercheurs scientifiques et médicaux qui utilisent régulièrement ces publications dans leur formation professionnelle. Même si ces photographies seront utilisées sans informations d'identification personnelles telles que mon nom, je comprends qu'il est possible que quelqu'un me reconnaisse. Je suis également d'accord pour que ces images servent à des fins d'enseignement et soient intégrées dans mon dossier médical.

\_\_\_\_\_ (Signature) \_\_\_\_\_ (Témoin)

2. Je suis d'accord pour que mon image soit montrée dans un but d'enseignement ET soit utilisée pour mon dossier médical mais PAS POUR des publications médicales :

\_\_\_\_\_ (Signature) \_\_\_\_\_ (Témoin)

3. Je consens à l'utilisation de mon image dans mon dossier médical **UNIQUEMENT** :

\_\_\_\_\_ (Signature) \_\_\_\_\_ (Témoin)

Pour les patients âgés de 7 à 18 ans, la signature ci-dessous indique que les informations contenues dans ce formulaire de consentement m'ont été expliquées et que je consens à l'utilisation de mes images comme indiqué ci-dessus :

\_\_\_\_\_  
(Signature du patient) (Témoin)

NOM : DEB

PRENOM : Wallid

**Titre de Thèse :** Déficience intellectuelle syndromique liée au gène *CUL4B* : description phénotypique d'une série de patients et exploration de mécanismes physiopathologiques

---

## RÉSUMÉ

**Introduction.** *CUL4B*, un élément clé de la dégradation protéique par le système ubiquitine-protéasome, a été identifié comme le gène d'une forme de déficience intellectuelle liée à l'X, le syndrome de Cabezas (MIM#300354). L'objectif de cette étude était de décrire les caractéristiques phénotypiques et génotypiques de patients présentant un variant (probablement) pathogène dans le gène *CUL4B*.

**Matériel et Méthodes.** Nous avons recueilli les données de 33 individus porteurs d'un variant *CUL4B*. Des explorations préliminaires sur lymphocytes sanguins des patients ont été effectuées, cherchant un impact des variants sur le système ubiquitine protéasome.

**Résultats.** Nous retrouvons les signes du syndrome de Cabezas, avec une plus grande variabilité. D'autres symptômes étendent le spectre phénotypique. Les variants semblent causer une perte de fonction. Les résultats biologiques ne sont pas en faveur d'une dysfonction protéasomale au premier plan.

**Discussion.** Notre cohorte, recrutée *via* la biologie moléculaire, montre une variabilité clinique plus grande que les descriptions précédentes. La constitution plus hétérogène mais aussi plus jeune de notre groupe de patients explique une grande partie cette variabilité. Des explorations complémentaires sur des substrats spécifiques de *CUL4B* permettront de cibler les anomalies moléculaires à rechercher chez les patients.

---

## MOTS-CLES

DEFICIENCE INTELLECTUELLE - LIE A L'X - SYNDROME DE CABEZAS – PHENOTYPE - SYSTEME  
UBIQUITINE-PROTEASOME