

Anévrismes Intracrâniens et Génétique

SFNR 2016 - Paris

Romain Bourcier - Hubert Desal

CHU de Nantes - INSERM - UMR 1087

Plan

- **Qu'est ce qu'une forme familiale d'AIC ?**
- **Pourquoi s'y intéresser ?**
- **Particularités des formes familiales d'AIC**
 - Phénotype
 - Rupture
- **Dépistage des AIC chez les apparentés**
- **Conséquences psychologiques du dépistage**
- **Analyses génétiques**
 - Historique
 - Approche gènes candidats
 - Etudes de liaisons
 - Etudes d'associations
 - Exomes et séquençage haut débit



Formes familiales d'AIC

- Formes familiales AIC = au moins deux apparentés au 1er degré
 - 7 - 12,5% des cas d'AIC
 - Avec pathologie associée :
 - PKAD = pathologie héréditaire associée à la survenue d'AIC et révélé dans 2 à 10% des cas par la rupture.
 - Marfan, Pseudo xanthome elasticum, AOS...
 - Sans maladie associée connue
 - 1^{er} degré : père , mère, enfant, frère et sœur
 - 2^{ème} degré : cousins germains, oncles, tantes, grands parents ...
- Association de facteurs environnementaux + Formes de transmission variables : mendéliennes (AD, AR), non mendéliennes = Concept de Maladie Complexe...

Pourquoi s'y intéresser ?

- Nécessité de déterminer un biomarqueur de la présence d'AIC
 - Qui dépister ?
 - Pas d'intérêt de l'IRM pour les FDR quand **un seul cas** (RRx4):
 - 298 patients pour prévenir 1 décès par HSA
 - 149 patients pour prévenir 1 HAS
 - IRM coûteux et conséquences psy
- Nécessité de progresser dans la compréhension de la physiopathologie des AIC

- Qui traiter ?

Pourquoi s'y intéresser ?

- Analyse médico éco du dépistage IRM ds les familles avec 2 sujets ayant présentés une HSA sur AIC au Pays Bas
- Risque d' AIC, risque de dépendance, coût de l' IRM, coût du coiling ...
- Quelque soit l' intervalle entre deux IRM

→ le dépistage des apparentés est « cost-effectivness »

- Rythme optimal - tous les 7 ans entre 20 et 80 ans.

Stijntje et al. Neurology 2009

Particularités des formes familiales d'AIC

- FIA 2013 : 323 familles
- 4 territoires d' AIC définis: ICA, MCA, ACA ou VB
- Concordance de loc >
 - pour un propositus /apparentés atteints
 - VS comparaisons aléatoires (1001 simulations)

surtout pour MCA, mais aussi ICA et VB mais pas pour ACA.

→ Prédisposition héréditaire au AIC ds une famille sur un territoire donné

Mackey et al. Stroke , 2013

Particularités des formes familiales d'AIC

- FIA : 511 AIC > 2mm , non rompu avant inclusion
- ISUIA : 2419 AIC > 2mm, sans ATCD familiaux, non rompus avant inclusion.
- **FIA comparé à ISUIA →**

- **Femme**
- **Multiples**
- **MCA**
- **HTA**
- **Ancien fumeur**

Baseline characteristics of patients with IAs*

Characteristic	FIA Cohort	ISUIA Cohort	P Value
no. of pts	511	2419	
no. w/ history of hypertension (%)	252 (49.3)	1022 (42.3)	0.004
cigarette smoking (%)			0.001
never smoked	103 (20.2)	598 (24.7)	
former smoker	217 (42.5)	814 (33.7)	
current smoker	191 (37.4)	997 (41.2)	
unknown	0 (0.0)	10 (0.4)	

Mackey et al 2012 – J. Neurosurg.

Particularités des formes familiales d'AIC

- Suède: étude basée sur code CIM 10 HSA ... (trauma, fistules?)

Table I Risk ratio of SAH according to number and type of affected relatives

	SAH patients <i>n</i> = 5282	Controls <i>n</i> = 26 402	Odds ratio	95% CI
Number of relatives with SAH				
No affected relative	5116 (96.86%)	26 030 (98.59%)	1	Reference
1 relative	156 (2.95%)	371 (1.41%)	2.15	1.77–2.59
≥ 2 relatives	10 (0.19%)	1 (0.00%)	51.0	8.56–1117*
Affected relative				
No affected relative	5116 (96.86%)	26 030 (98.59%)	1	Reference
Child	92 (1.74%)	181 (0.69%)	2.02	1.31–3.10
Sibling	46 (0.87%)	104 (0.39%)	2.40	1.72–3.34
Parent	27 (0.51%)	64 (0.24%)	2.35	1.82–3.03

- Si 0.7% HSA ds la vie ds pop générale sans ATCD,
- ➔ si 2 ATCD familiaux HSA ==> ¼ chance d' HSA dans sa vie
- ➔ RR HSA x 51 si 2 ATCD de HSA au 1^{er} degré

Bor et al., Brain 2009

Dépistage des apparentés

- FIA en 2008 :
- Screening de 303 apparentés 1^{er} degré
- **> 30 ans - tabac ou HTA**
- Découverte de 58 positifs → Rendement du dépistage = 20 %

24% chez femmes -11% chez hommes

Brown et al. 2008 – J. Neurosurg.

- Série néerlandaise : dépistage tous les 5 ans sur 20 ans
- Rendement du dépistage reste >5%
- Importance de la pénétrance incomplète

Bor et al . Lancet 2014

Dépistage des apparentés

- Hypothèse : formes d' HTA héréditaires chez les femmes
- Ds famille AIC : risque pour une femme atteinte d' avoir une autre femme atteinte d' AIC dans sa famille comparée au risque d' avoir un homme atteint
- 148 propositus dont 107 femmes = 72% → RR = 1.2

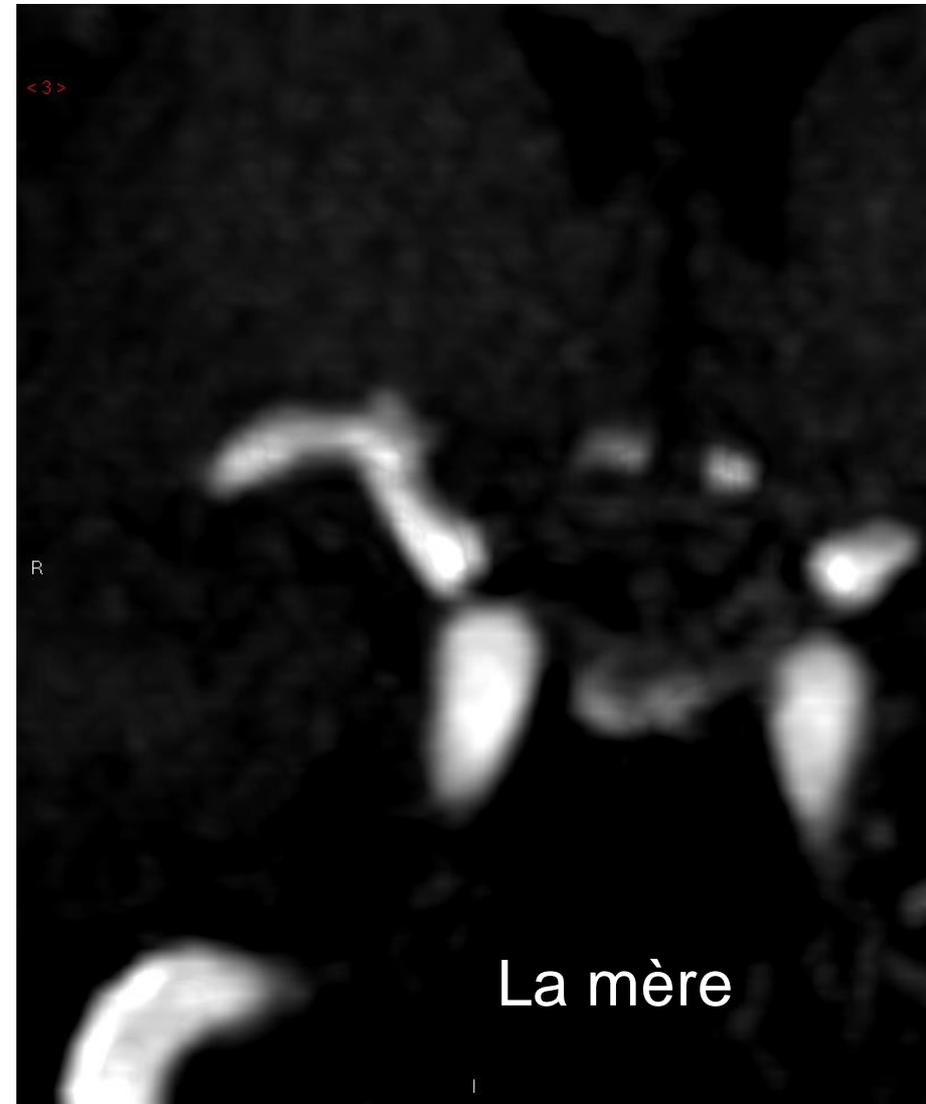
Sijtsma et al. Stroke , 2015



Conséquences psychologiques du dépistage

- Evaluation à distance 3 ans après le dernier dépistage
- 2/3 des positifs → changements émotionnels et sociaux VS 17% des négatifs
- 6% des positifs VS 1% des négatifs regrettent d' avoir été contacté
- **Les négatifs ont globalement un meilleur « Health-related Quality of life » que la pop. Générale**
- > 50% des positifs changements vers mode de vie plus sain VS < 10% des négatifs

Wermer et al. Stroke 2005



Et rupture à 11 ans chez la fille...



Historique des analyses génétiques

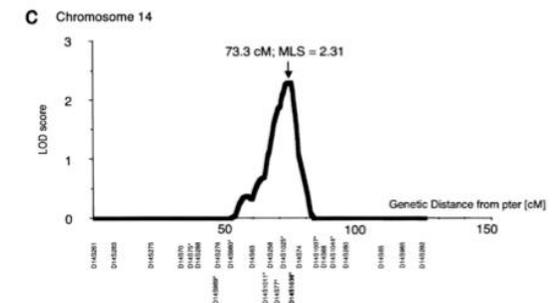
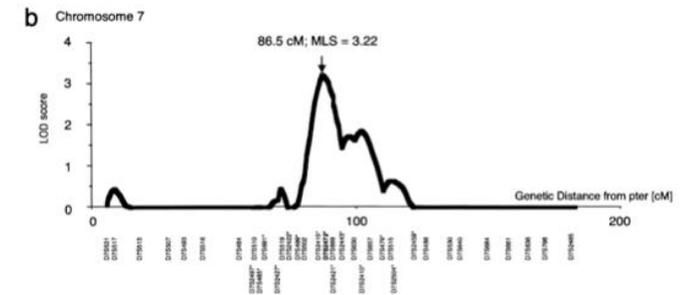
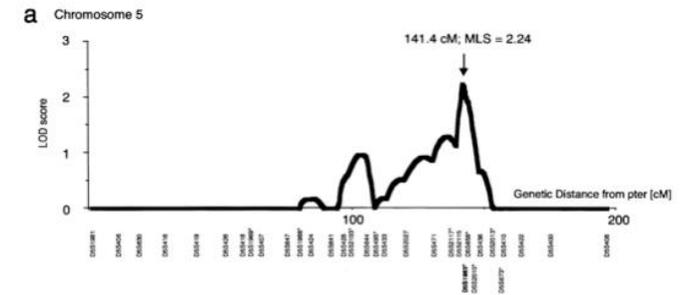
- Années 1960 : reports de premiers cas familiaux
- Années 1970 – 1980:
 - 1er démarche de dépistage dans ces familles
 - description des cas d'AIC avec PKAD
- Années 1990 :
 - 10% de formes familiales chez les finlandais
 - RR x4 dans familles pour les sujets aux premiers degrés

Approche gènes candidats

- Un gène est candidat par sa fonction connue, supposée dans la physiopathologie = fonctionnel
- Peut devenir candidat par sa position dans une zone en DL avec le phénotype (liaison) ou par sa position autour d'un SNP partagé par les cas (association) = positionnel
- Ex : ED type IV causé par mutation du Col3A1 situé sur 2q –
 - **De Paepe et al. 1988** : hyp - les AIC familiaux entrent dans le cadre des ED IV avec peu de signes
 - **Kuivaniemi et al. 1993** : séquençage Col3A1 - exclusion de cette mutation chez patients AIC

Fin 1990

- Paramétrique → hypothèse AD, AR, liée à l'X...
- Grâce aux SNP connus du génome humain
- Repère des loci, qui "ségrégent en DL"
- Force de l'association exprimée en LOD score
- Dans cette zone en DL, recherche de gènes d'intérêts





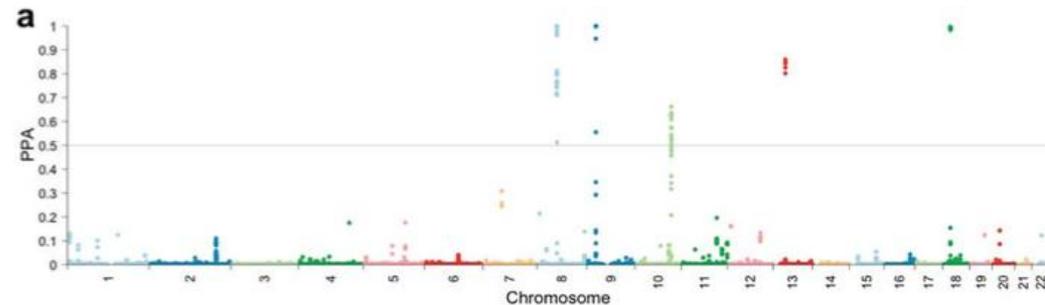
Etudes de Liaison

- **Onda H et al. Am J Hum Genet. 2001** : 7q11 lod score 3,22
 - Gène de l'Elastine
 - 14 SNP identifiés
 - Aucun n'a montré d'association allélique avec AIC
- **Farnham et al. 2004** : répliquent un DL sur 7q11 dans une pop. Utah
- Une dizaine de loci mis en évidence ...

Etudes d'Associations

Fin 2000

- Approche pas nécessairement familiale
- Nécessité de grands échantillons
- Comparaison cas/témoins ==> OR
- Vérification de marqueurs de polymorphismes:
 - Dans gènes candidats fonctionnels (donc quelques SNP)
 - Par le plus possible de SNP (600000) = GWAS, pour trouver de nouveaux gènes candidats.
- Recherche des différences génomiques partagées par les cas comparés aux témoins



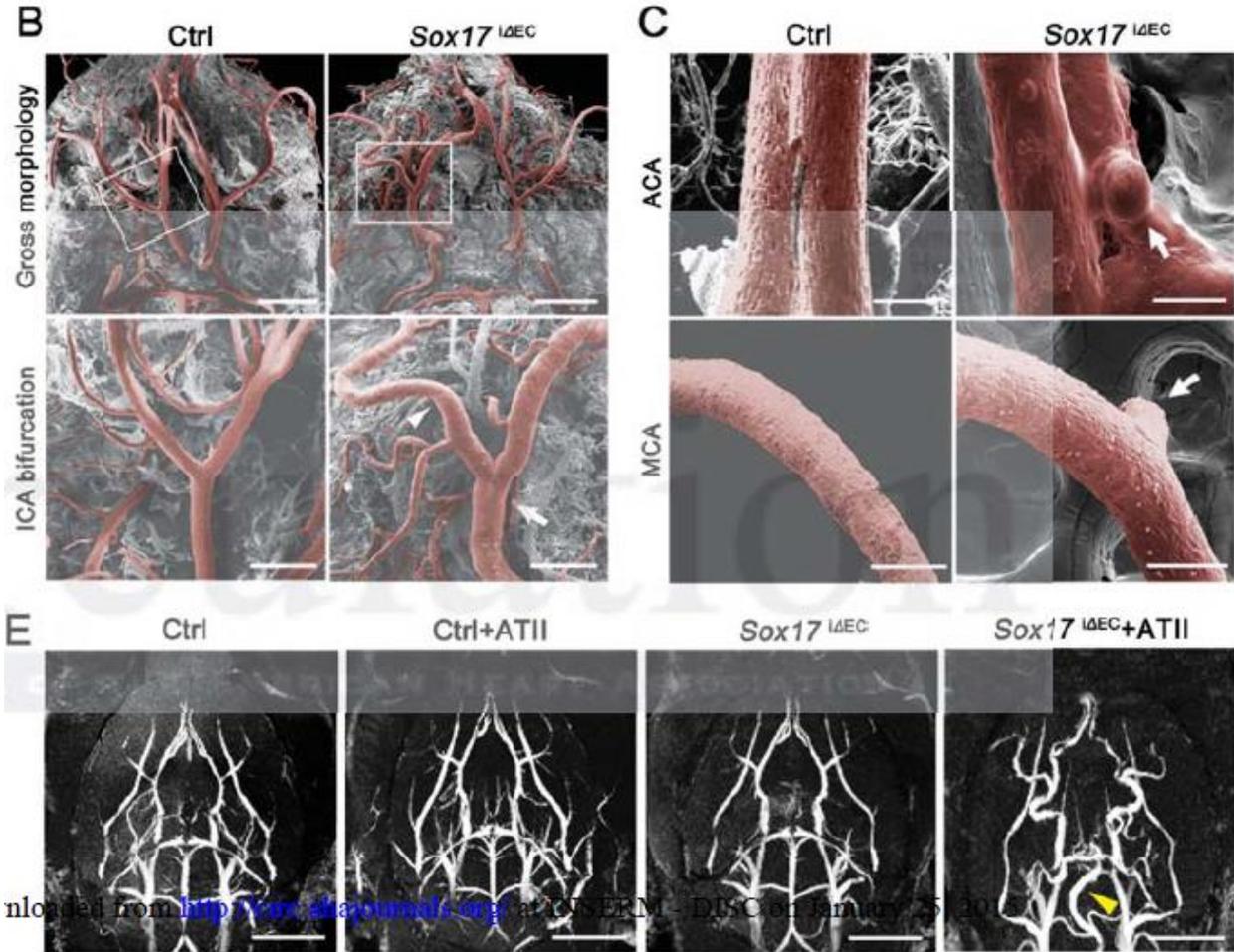
Etudes d'Associations

- **Bilguvar et al. 2008 Nature Genetic**: GWAS 1000 finlandais 1000 contrôles:
 - 9p.
 - 2q. proche de Col3A1
 - 8q.
- **Yasuno et al. 2010 Nature Genetic** : GWAS of 6000 cas et 14000 contrôles (Europe et Japon) :
 - 3 nouveaux loci
 - 18q11.2 proche de RBBP8
 - 10q24.32 proche de CNNM2
 - 13q13.1 proche de STARD13
 - 8q11.23 proche de SOX17
 - 9p21.3 proche de CDKN2A et CDKN2B (avec ANRIL+++)

Qu' est ce qu' un AIC « typique » ?

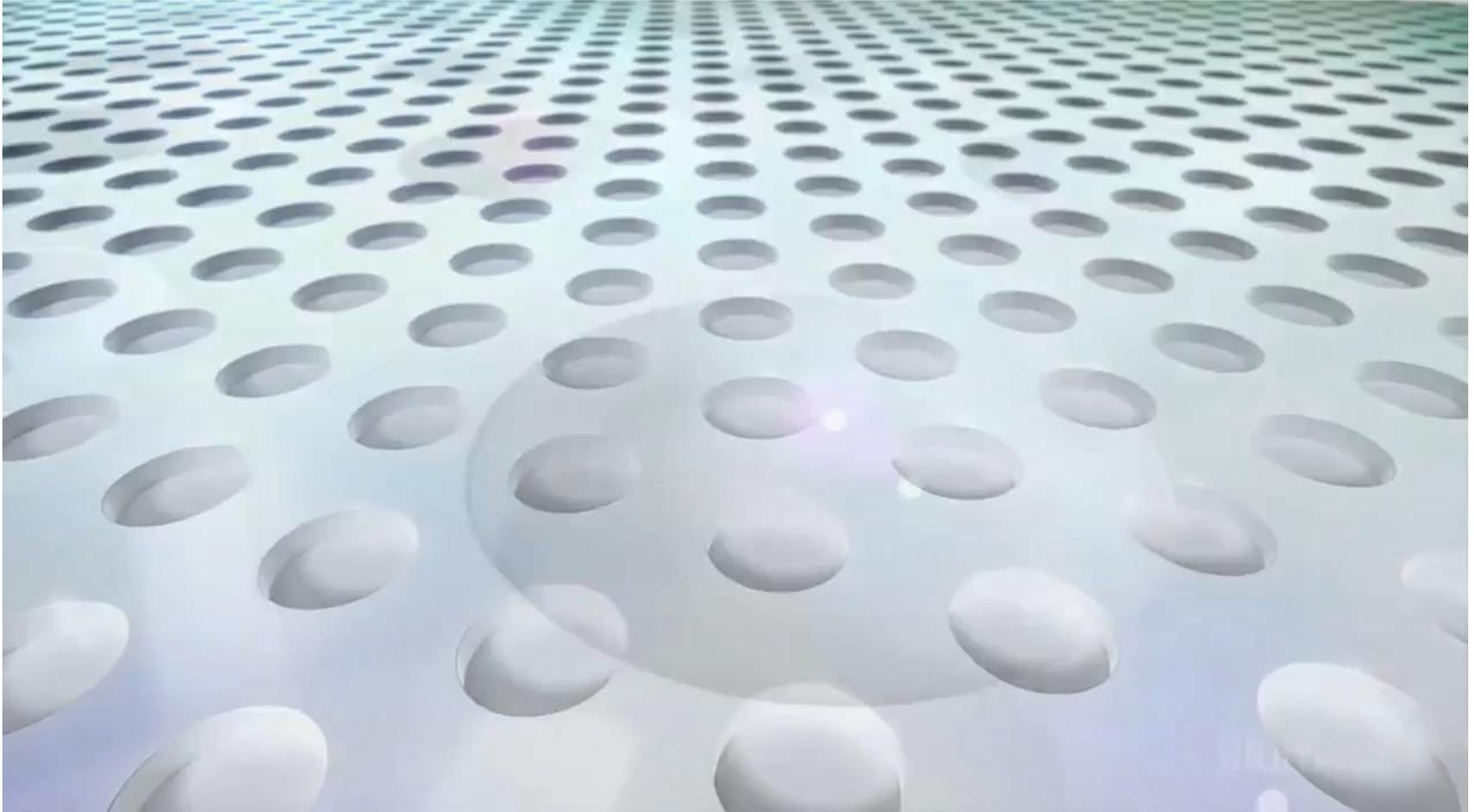
- Hit en 8q 11: SOX 17 régulateur de l'angiogénèse et de la différenciation artérielle, exprimé dès les CE IC

- Sans AT II :
 - 25% AIC chez KO SOX 17
 - 0% chez WT
- Avec AT II :
 - 60% chez KO SOX 17
 - 15% chez WT



Lee et al. Circulation 2015

Next generation sequencing



Traitement Bio-informatique

Exon

```
TAACATCTGAGTGAT          AGTCGCCATAAAATTG
GCTGAGTGATCGGTA          GGCTGAGTCGCCATA
TGGATCGGTAACATCGCCATAAATTGGCTGAGTCG
CGGTAACATCGCCATAAATTGGCTG
ACATCGCCATAATT
```

*

Alignement des « reads »
sur la séquence de référence

= **MAPPING** (BWA algorithm)

Identification des variations

= **CALLING**

(SAMtools / GATK pour SNV)

(SAMtools / GATK pour indel)

=> Génération de **fichiers VCF** (Pierre Lindenbaum)

Contient:

- Toutes **les variations** identifiées

- **Informations** relatives à ces variations



Alignement des « reads »
sur la séquence de référence

= **MAPPING** (BWA algorithm)

Identification des variations

= **CALLING**

(SAMtools / GATK pour SNV)

(SAMtools / GATK pour indel)

=> Génération de **fichiers VCF** (Pierre Lindenbaum)

Contient:

- Toutes les **variations** identifiées

- **Informations** relatives à ces variations

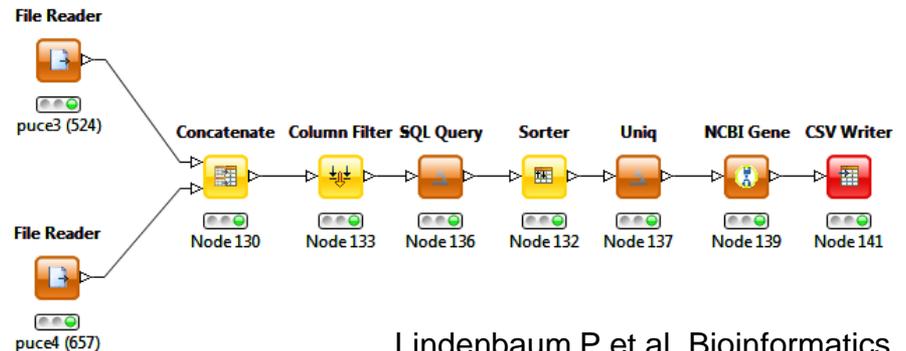
Analyse des fichiers VCF

Pour nos hypothèses:

-recherche de variants **non synonymes**

-recherche de variants **rare**

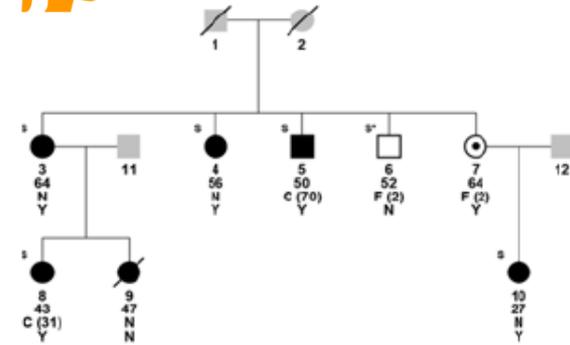
-retrouvés **chez les patients atteints**



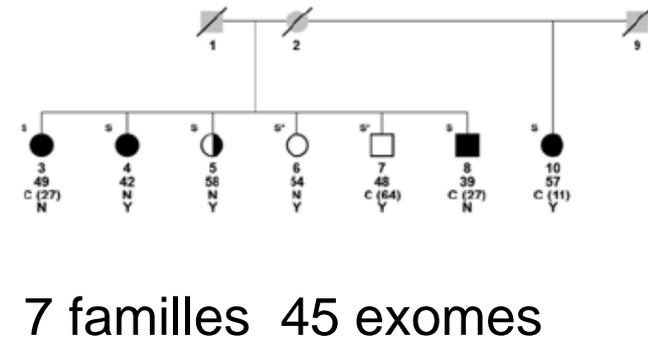
Lindenbaum P et al. Bioinformatics. (2011)



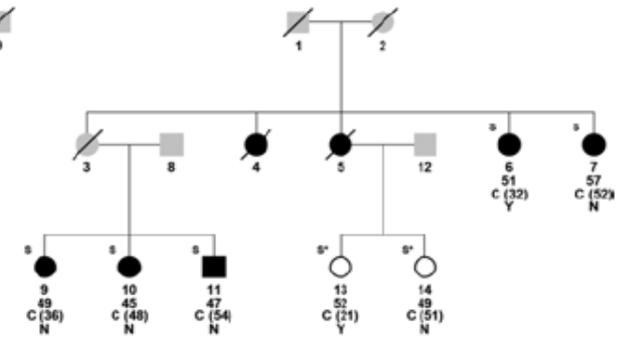
Family A



Family B



Family C



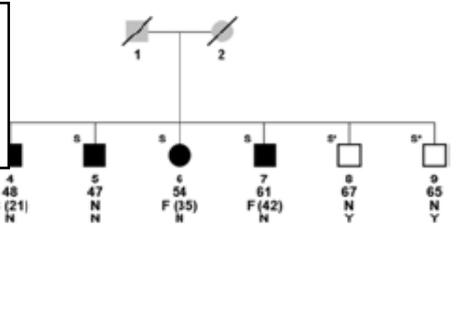
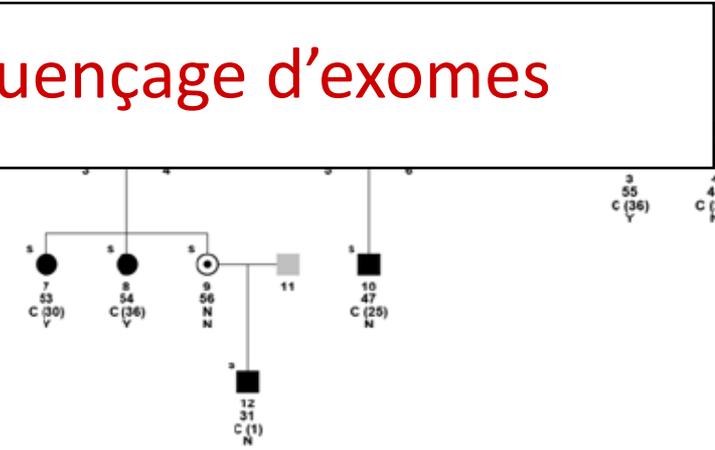
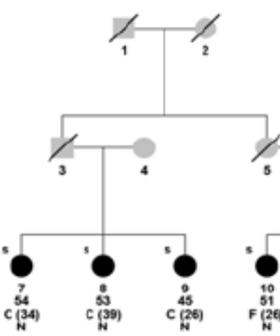
7 familles 45 exomes

Family D Courant 2010

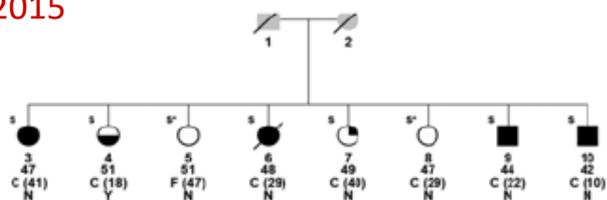
Family E

Family F

Séquençage d'exomes



Family G



- Unaffected
 - Probable IA
 - Sequenced Unaffected
 - Possible IA
 - Definite IA
 - AAA
 - Sequenced Definite IA
- Individual
Age of Onset / Age at MRA
Smoking (pack years)
Hypertension

Farlow. Plos One 2015

Séquençage d'exomes

Filtrage

- Variants autosomaux , Non synonymes, MAF <1%, SIFT-Polyphen 2
- Linkage paramétrique, fenêtre de 10Mb
- RNAseq: 22 rompus/21 non rompus/16 contrôles

Résultat

- *TMEM132B* surexprimé ds AIC VS contrôles
- Variant C3050T = 0.025 EA ds EVS pas retrouvé ds 1000G
- Damaging par SIFT et Polyphen 2
- Absent chez phénotype incertain ...
car AIC de 2 mm (possible)
==> phénocopie ?

 PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Lessons Learned from Whole Exome Sequencing in Multiplex Families Affected by a Complex Genetic Disorder, Intracranial Aneurysm



Séquençage d'exomes

12 familles - 42 exomes
mais 1 seule avec cousins



Filtrage

MAF 5%, présents **au moins** une famille, SIFT Polyphen2, filtre GO

→ 10 variants conservés

Replication → screening du variant

24 familles
sporadiques

426 cas

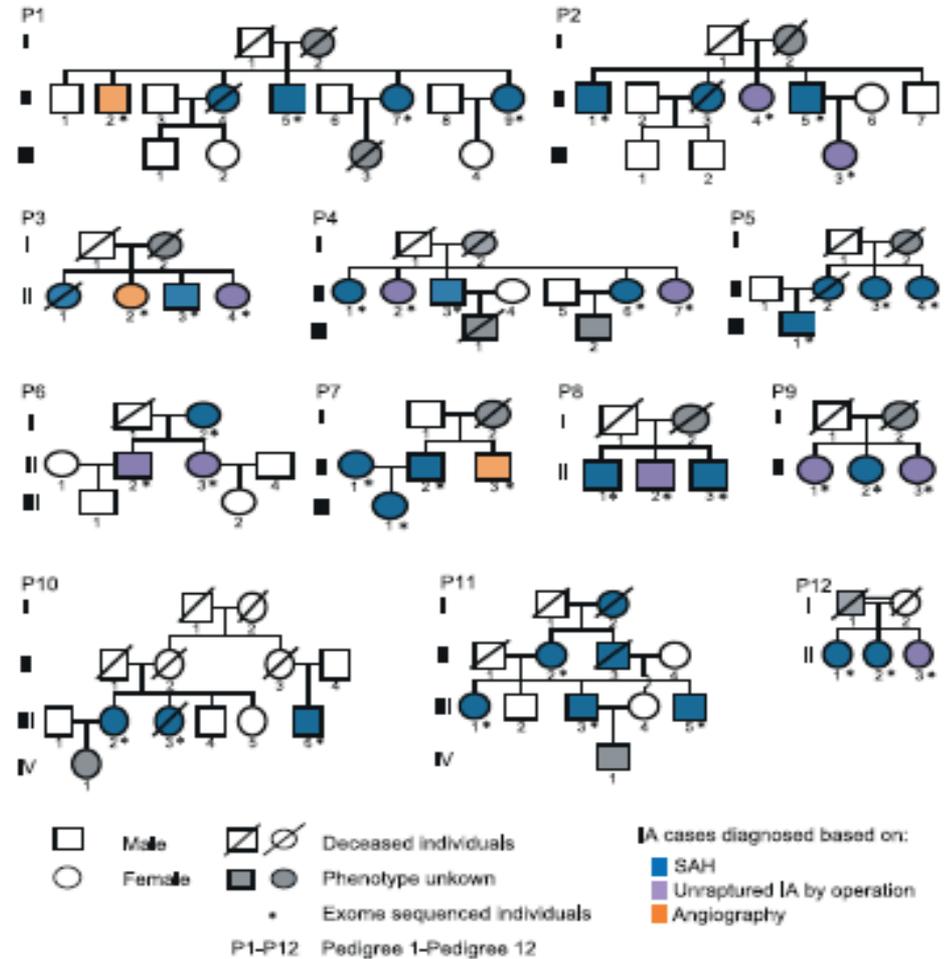


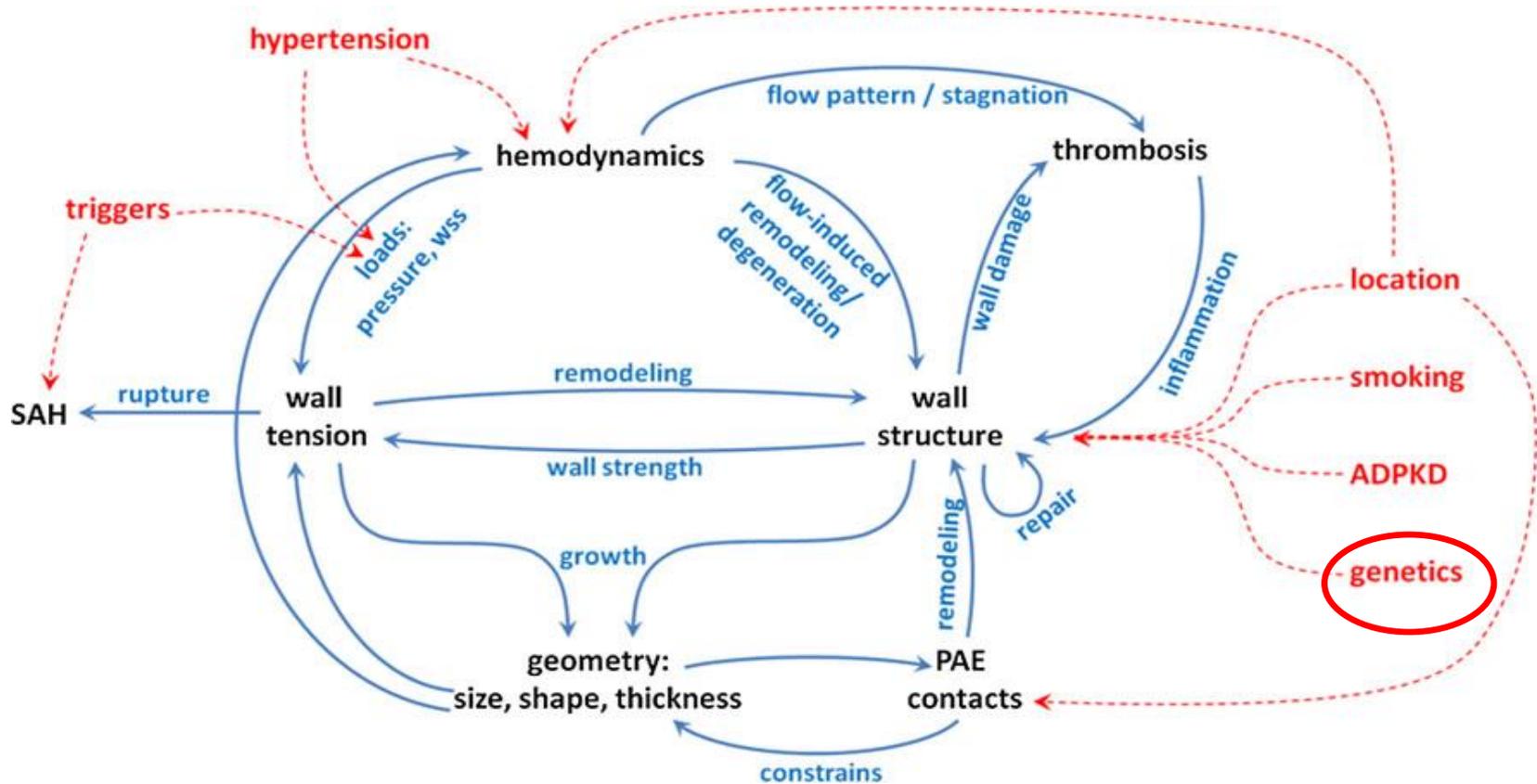
Figure 1. Pedigrees of 12 Japanese intracranial aneurysm (IA) families. SAH indicates subarachnoid hemorrhage.

Yan et al. Stroke 2015



Conclusion

- Génétique = une porte d'entrée dans "La grande question de la formation et la rupture des AIC..."





TRIAL

Understanding the pathophysiology of intracranial aneurysm: The ICAN project

Bourcier R(1-2), Chatel S(2), Bourcereau E(2), Le Marec H(2-3), , Daumas DuportB(1), Sevin-Allouet M(4), Guillon B(4), Roualdes V(5), Riem T(5), Isidor B(6), Lebranchu P(7), Connault J(8), Le Tourneau T(2-3), Gaignard A(2), Redon R(2), Desal H(1-2)

and the ICAN Investigators

- 1-Neuroradiological department, University Hospital of Nantes, France
- 2-INSERM Unit 1087, "L' institut du thorax"
- 3-Cardiology department, University Hospital of Nantes, France
- 4-Neurology department, University Hospital of Nantes, France
- 5-Neurosurgery department, University Hospital of Nantes, France
- 6-Clinical genetics department, University Hospital of Nantes, France
- 7-Ophthalmologic department, University Hospital of Nantes, France
- 8-Vascular medicine department, University Hospital of Nantes, France





Remerciements

Service de Neuroradiologie du CHU de Nantes : Hubert Desal, Benjamin Dumas-Duport, Alina Lintia, Frédérique Toulgoat, Elisabeth Auffray-Calvier, Cédric Lenoble, Vincent Lallinec, Alexis Moles

CIC THORAX Génétique du CHU de Nantes: Emmanuelle Bourcereau, Guenola Coste, Maud Rosso, Aurélie Thollet

DRCI du CHU de Nantes : Léa Ferrand

INSERM UMR 1087/ CNRS UMR 6291, « l' institut du thorax » : Stéphanie Chatel, Richard Redon, Gervaise Loirand, Hervé Le Marec, Stéphanie Bonnaud, Solena Le Scouarnec, Mathilde Karakachoff, Sandrine Heurtebise-Chrétien, Estelle Baron, Gilliane Chadeuf, Christian Dina, Floriane Simonet, Pierre Lindenbaum, Vimla Mayoura, Séverine Abramatic, Antoine Rimbart, Portero Vincent, Xavier Daumy

CERVCO – Anne Joutel

The GAIA Investigators : Garnier-Viarouge MP, Pasco A, Lacour M, Velasco S, Boucebci S, Herbreteau D, Papagiannaki C, Bibi R, Gauvrit JY, Ferre JC, Raoult H, Gallas S, Berge J et Barreau X.

Fondation GENAVIE : Vimla Mayoura

Plateforme génomique : Audrey Donnart, Laetitia Duboscq

