

Achropuce  
29 novembre 2023

# Anomalies chromosomiques identifiées par séquençage de génome en foetopathologie Bilan SeqOIA

Tania ATTIE-BITACH  
**Hôpital Necker-Enfants Malades**  
**AP-HP. Centre**  
**Paris, France**



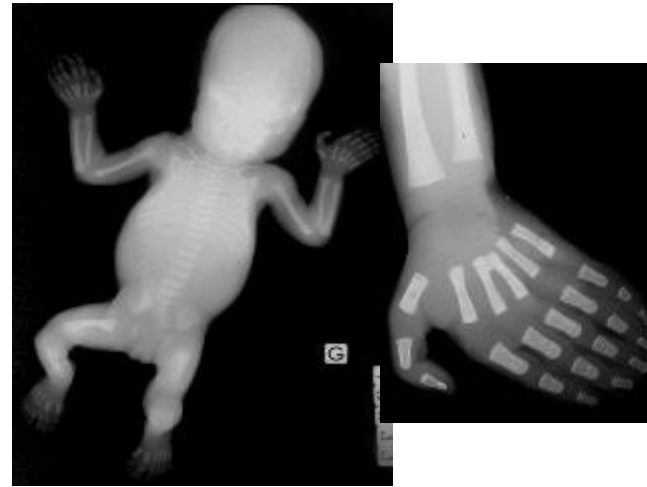
# Examen foetopathologique

- Décès foetal /neonatal J28
- Interruption médicale de grossesse

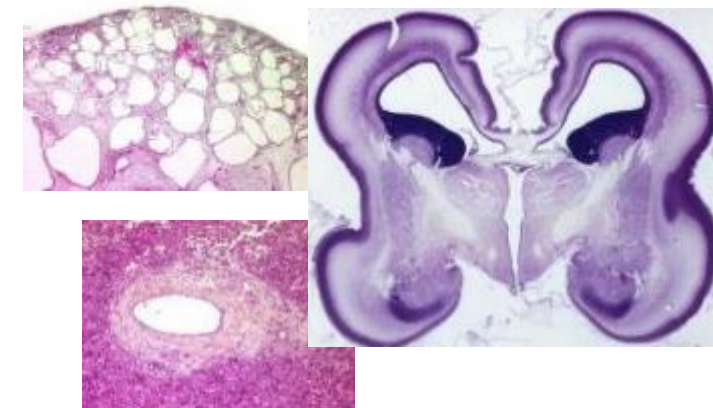
## Examen clinique



## Radios



## Histologie



**Protocole spécifique (HAS)  
Diagnostic retrospectif +++**

**Guide les explorations complémentaires**

L'examen foetopathologique (Vfr) - YouTube



La Société Française de **Fœtopathologie**, avec le soutien de la filière de santé AnDDI-Rares et l'ERN ITHACA, présente une vidéo sur l'examen ...

YouTube · Filière de santé AnDDI-Rares · 21 juil. 2021

[https://www.youtube.com/watch?v=Jy2y0B\\_ULIM](https://www.youtube.com/watch?v=Jy2y0B_ULIM)



SoFFœt  
Société Française de Fœtopathologie



AnDDI-Rares  
Fédération Française de Fœtopathologie

Thèse de Spécialité – Agnese Feresin

## Citères d'inclusion :

- ✓ Après examen foetopathologique: IMG, MFIU, FCS, nés jusqu'à J28
- ✓ ACPA réalisée
- ✓ Association de **plusieurs anomalies** ou **récidive (37)**
- ✓ Après conseil génétique, histoire familiale, consentements



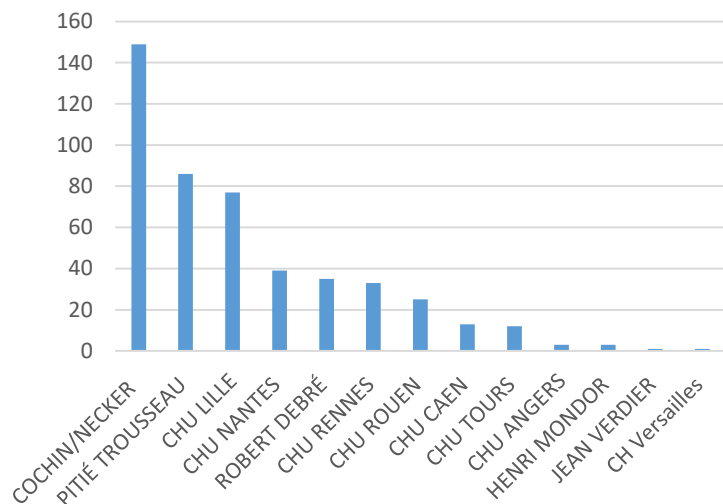
## Objectifs:

- Décrire l'apport du SG en foetopathologie
  - Taux diagnostic: analyse conclusive / non conclusive avec VSI / non conclusive
- Spectre mutationnel
- Comparaison à l'approche ACPA + exome prénatal

# Centres



## Centres prescripteurs



### NECKER

Tania ATTIE-BITACH  
Caroline MICHOT  
Laurence HEIDET  
Jeanne AMIEL  
Geneviève BAUJAT  
Julie STEFFANN

### COCHIN

Sarah GROTTA

Thèse : Agnese Feresin

### PITIÉ SALPÊTRIÈRE / TROUSSEAU

Alexandra AFENJAR  
Solveig HEIDE  
Delphine HERON  
Daphné LEHALLE  
Linda MOUTHON  
Sandra WHALEN

### CHU LILLE

Odile BOUTE  
Cindy COLSON  
Catherine DELORME  
Anne DIEUX  
Florence PETIT  
Clémence VANLERBERGHE

### CHU NANTES

Claire BENETEAU  
Bertrand ISIDOR  
Leila GHESH  
Mathilde NIZON  
Marie VINCENT

### ROBERT DEBRÉ

Yline CAPRI  
Lyse RUAUD  
Laurence PERRIN-SABOURIN  
Louise GOUJON

### CHU RENNES

Mélanie FRADIN  
Morel GODELIEVE  
Alinoé LAVILLAUREIX  
Sylvie ODENT  
Laurent PASQUIER  
Chloé QUELIN

### CHU ROUEN

Anne-Claire BREHIN  
Anne-Marie GUERROT  
Alice GOLDENBERG  
Gabriella VERA

### CHU TOURS

Méderic Jeanne  
Stéphanie ARPIN

### CHU CAEN

Arnaud MOLIN  
Manon GODIN

### CH Versailles

B Simon-Bouy

### CHI CRÉTEIL

Rakia BHOURI

### CH VANNES

Florence DEMURGER

### CHU ANGERS

Estelle COLIN  
Radka STOEVA

### CHU BREST

Severine AUDEBERT

### HENRI MONDOR

Ariane LUNATI-ROZIE  
Benoit FUNALOT

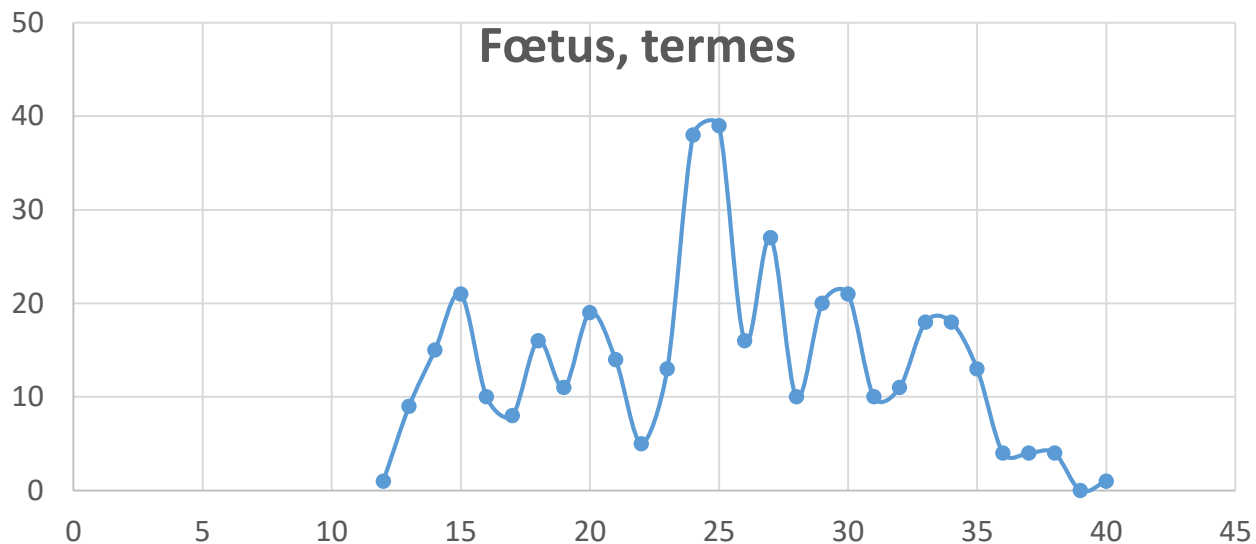
### JEAN VERDIER

Andrée DELAHAYE-DURIEZ

## INTERPRETATEURS

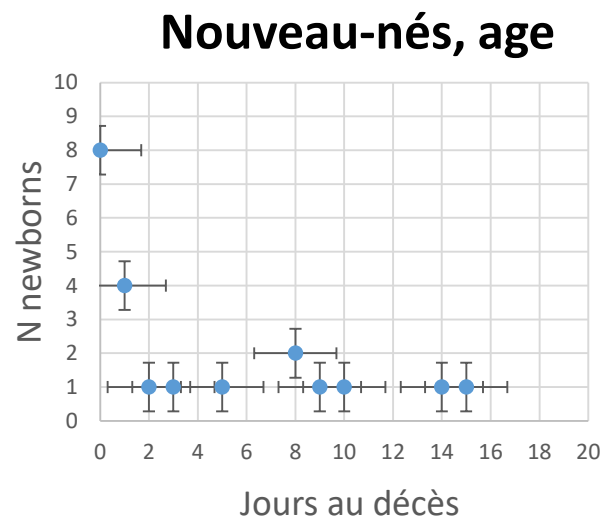
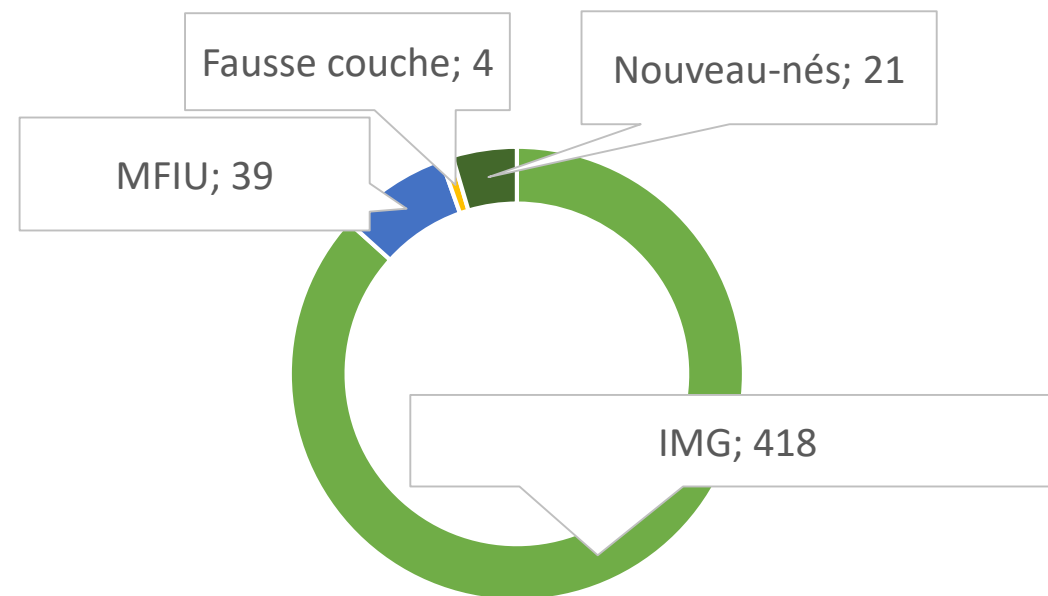
Tania ATTIE-BITACH  
Boris KEREN  
Thomas SMOL  
Benjamin COGNE  
Christel DUBOURG  
Pierre BLANC  
Jonathan LEVY  
Paul GUEGUEN  
Melania RAMA  
Sophie RONDEAU  
Corinne COLLET  
Laurence HEIDET  
Lydie BURGLEN  
Severine DRUNAT  
Fabienne ESCANDE  
Lucile BOUTAUD  
Pascale SAUGIER  
Audrey BRIAND  
Andrée DELAHAYE-DURIEZ  
Marie FAOUCHER  
Nathalie COUQUE  
Yoann VIAL  
Andrée DELAHAYE-DURIEZ  
Adeline Alice BONNARD  
Agnès GUICHET  
Flavie ADER  
Guillaume JEDRASZAK  
Jean-Madeleine DE SAINTE AGATHE  
Arnaud MOLIN  
Laila EL KHATTABI  
Olivier GRUNEWALD  
Severine BACROT  
Caroline THAMBO



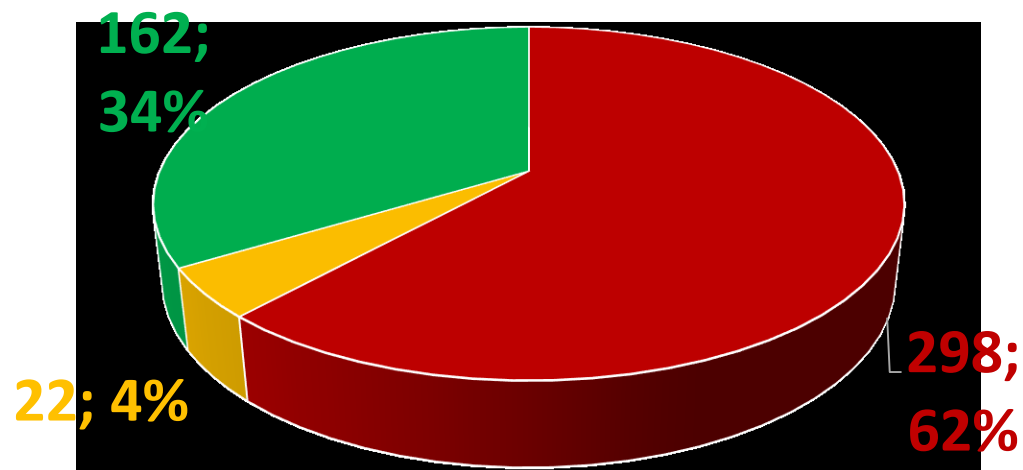


# 482 CI

248 M et 234 F



## Total (482 CI)



### CNV (13)

- Autosomique dominant (7)
- Autosomique récessif (6)
  - homozygotes (4)
  - Hétérozygotes composites (2)

## Anomalie chromosomique (5)

### ➤ Déséquilibres

- Mosaïque foetale (3)

- Trisomie 8 (1)
- Tetrasomie 12p (1)
- Trisomie 10p (1)

- Homogènes ? (1)

- Délétion chromosome 7 de 10 Mb

### ➤ Inversion équilibrée 7q 4.3 Mb

## Causes monogéniques (157)

- Autosomique dominant (87)

- de novo (77)
- Hérité (10 -3 mosaïques parentales)

- Autosomique récessif (53)

- Hétérozygotes composites (36)
- Homozygotes (17)

- Lié à l'X (17)

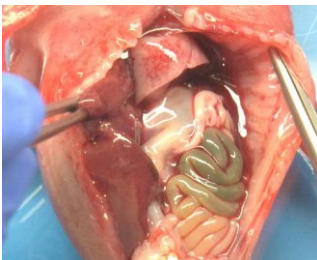
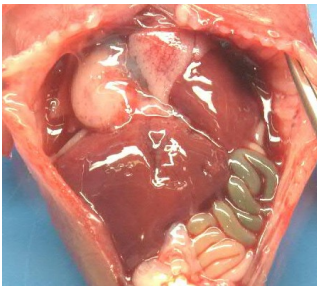
- Filles (3)
- Garçons (14)

# Mosaïque foetale (1)

IMG à 15SA pour hernie de coupole diaphragmatique

Echo T1: HCD

ACPA sur villosités normale

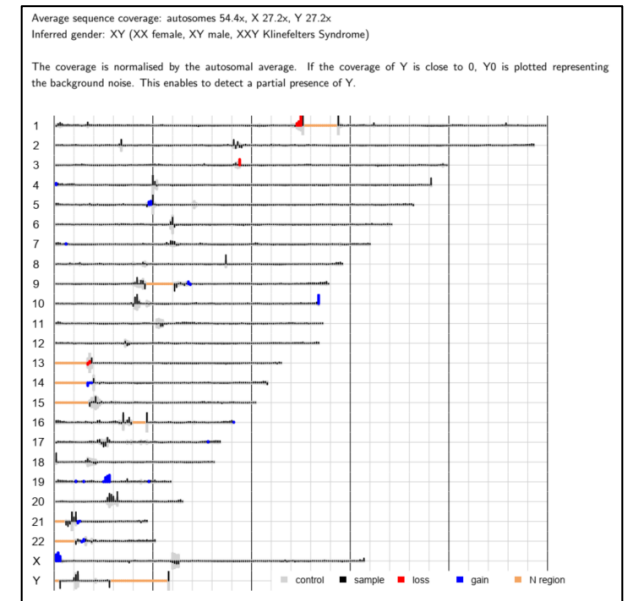
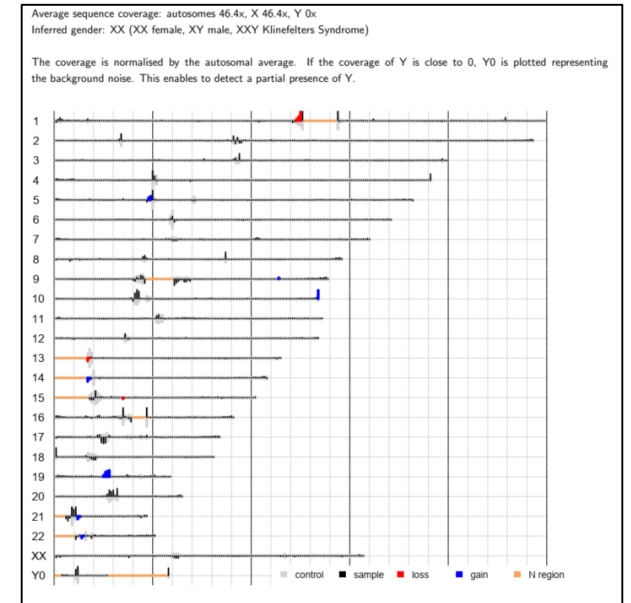
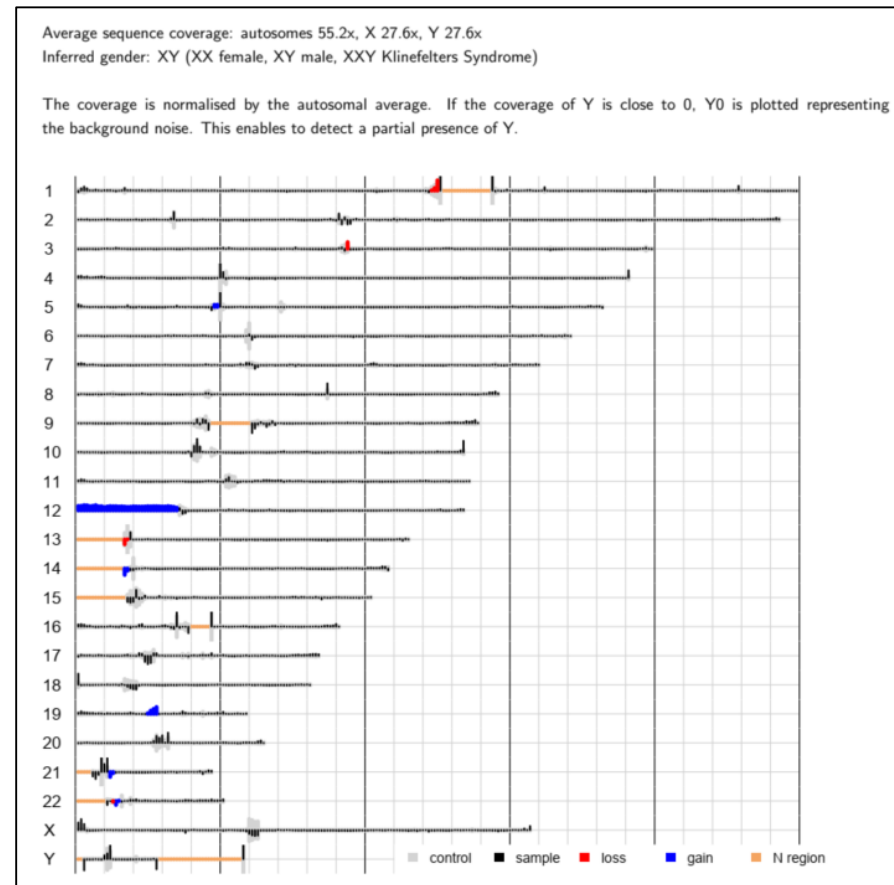


20NF00106, N. Roux

SG sur tissu foetal:

Seq[GRCh38] 12p13.33p11.1(1092001\_34692000)x3~4 dn

**Tétrasonie 12p mosaïque**

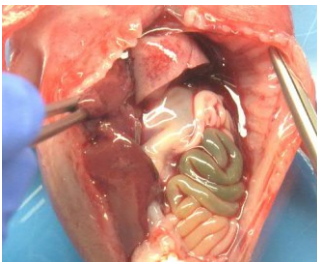
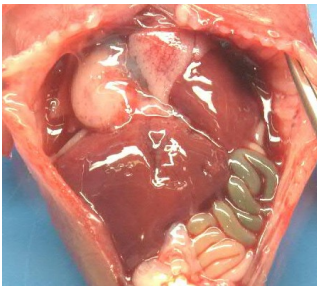


# Mosaïque foétale (1)

IMG à 15SA pour hernie de coupole diaphragmatique

Echo T1: HCD

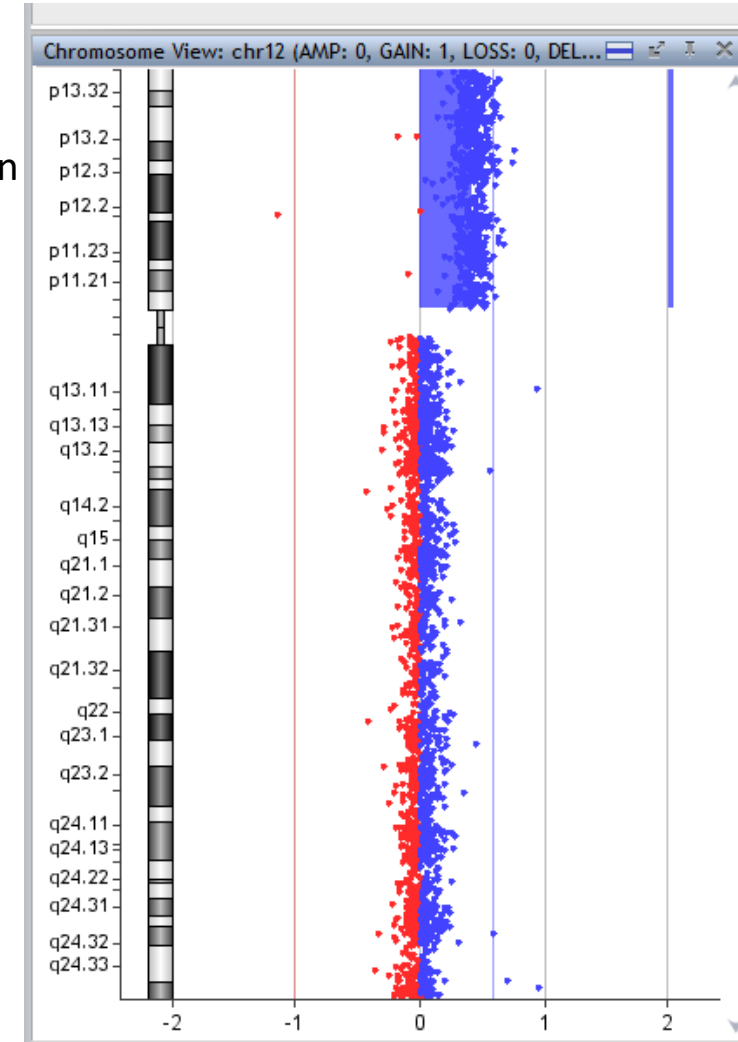
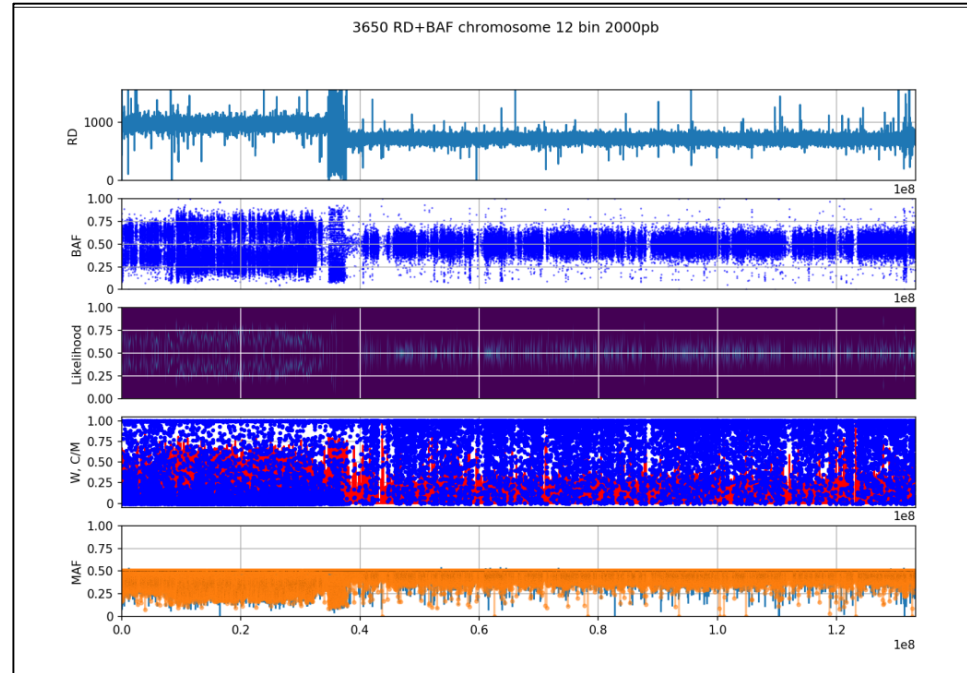
ACPA sur villosités normale



SG sur tissu foetal:

Seq[GRCh38] 12p13.33p11.1(1092001\_34692000)x3~4 dn

**Tétrasonie 12p mosaïque**



V. Malan

Confirmation par CGH sur ADN extrait de poumon



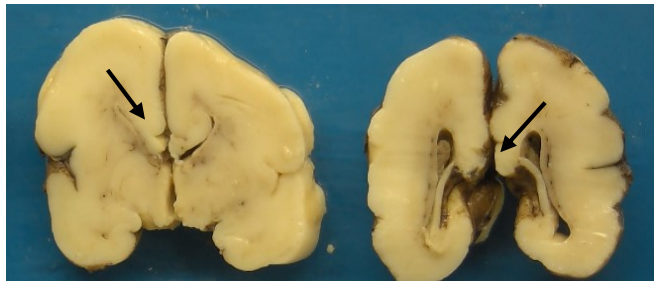
# Mosaïque foétale (2)

## IMG, 27 SA pour anomalies du corps calleux

Echo T2: absence de visualisation du CC



ACPA et cayotype sur LA: normale



21NF00178, N. Roux

## SG sur tissu foetal (poumon):

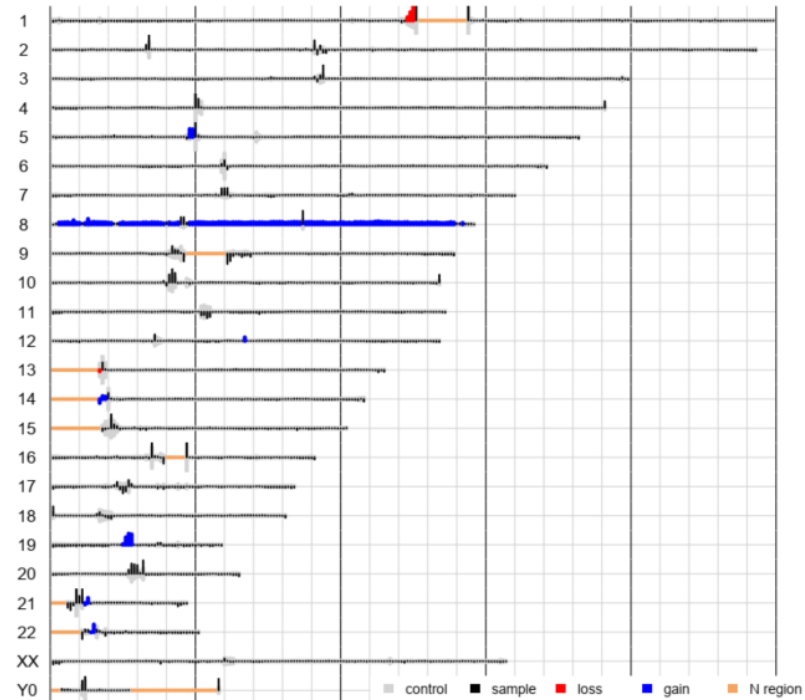
seq(8)×2~3 dn:

**Trisomy 8 en mosaïque**

### 3 Coverage by chromosome

Average sequence coverage: autosomes 45.1x, X 45.1x, Y 0x  
Inferred gender: XX (XX female, XY male, XXY Klinefelters Syndrome)

The coverage is normalised by the autosomal average. If the coverage of Y is close to 0, Y0 is plotted representing the background noise. This enables to detect a partial presence of Y.



# Mosaïque foétale (2)

IMG, 27 SA pour anomalies du corps calleux

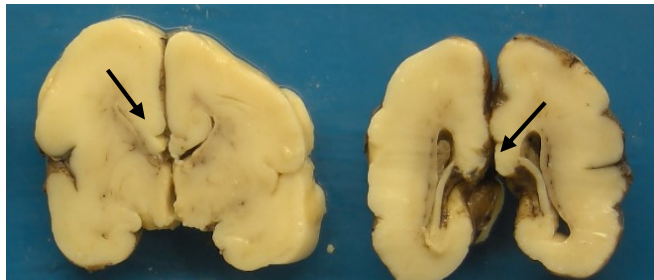
Echo T2: absence de visualisation du CC



ACPA et cayotype sur LA: normale



21NF00178, N. Roux



Séquençage de génome sur tissu foetal (poumon):

seq(8)×2~3 dn:

**Trisomy 8 en mosaïque**



## COMMENTAIRES ET CONCLUSION :

L'analyse chromosomique par puce ADN (ACPA) a mis en évidence **une amplification de tout le chromosome 8**, dont le log2 ratio fait suspecter la présence d'une **mosaïque à environ 30% dans le tissu analysé**. Ce résultat confirme celui de l'analyse par séquençage de génome entier et peut expliquer les signes cliniques observés, notamment la dysplasie du corps calleux.

Une réanalyse de l'ACPA réalisée sur le prélèvement de liquide amniotique à 24SA ne retrouve pas de déséquilibre au niveau du chromosome 8, ce qui est en faveur d'une mosaïque tissulaire foetale.

**ACPA, sur tissu foetal (muscle) : T18 - 30%**

*P. Jordan, JM. Dupont  
A. Coussement*



## IMG 20,3 SA DPNI négatif

Echo 19,5 SA :  
ventriculomégalie,  
cœur gros, myocarde épaissi,  
hyperechogénicité des anses  
intestinales, oligoamnios  
...dans le contexte d'une  
seroconversion CMV

## Amniocentèse

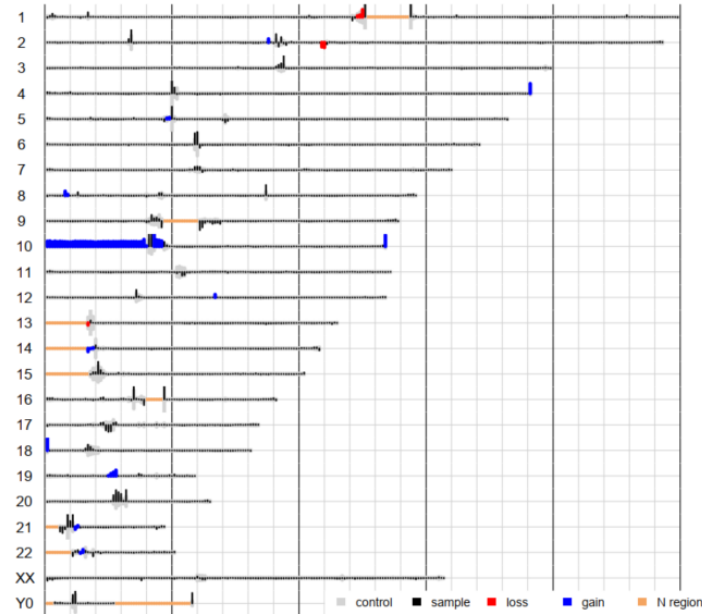
ACPA Microdélétion interstitielle d'une taille  
minimale de 1,88 Mb en 2q12.3q13 maternelle  
PCR CMV négative

- Microcéphalie
- V4 large
- Dysmorphie

20N00036  
M. Joubert

Average sequence coverage: autosomes 39x, X 39x, Y 0x  
Inferred gender: XX (XX female, XY male, XXY Klinefelter's Syndrome)

The coverage is normalised by the autosomal average. If the coverage of Y is close to 0, Y0 is plotted represent the background noise. This enables to detect a partial presence of Y.



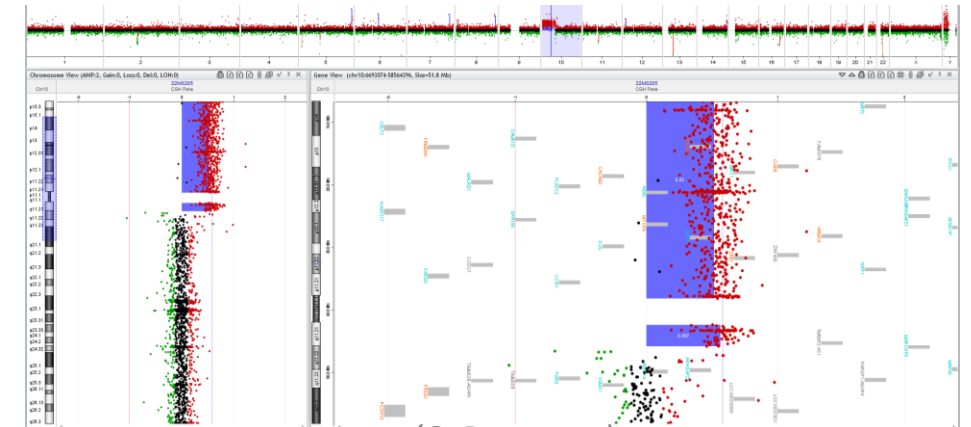
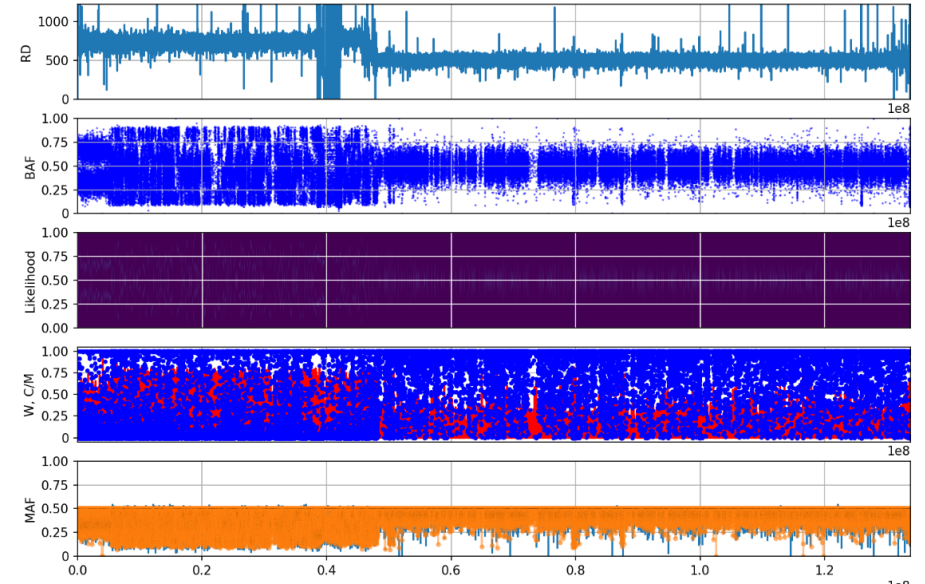
## Seq[GRCh38]10p15.3q10x3dn

Microdélétion 2q12.3q13 maternelle vue

## ACPA sur ADN extrait de peau

Duplication 39Mb bras court + petite region  
sous-centromérique en 10q11.22  
Caryotypes des parents normaux

E1E0\_S20 RD+BAF 2000 chromosome 10



(C. Beneteau)

## Délétion 7p22.2p21.3 de 10 Mb

### IMG 15SA + 5

HCN 5,5 à 12,2 SA

Oedème sous cutané généralisé

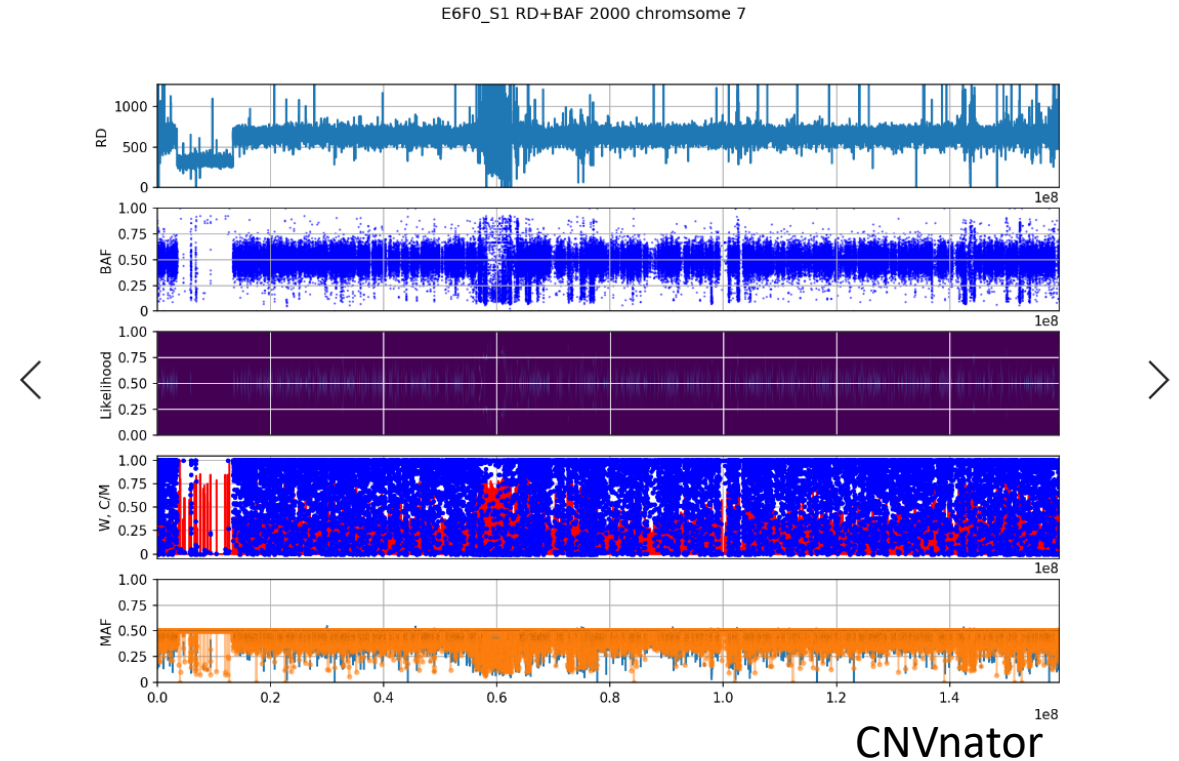
BT: FISH 13, 18, 21 pas de culture possible.

Echo 14,6 SA anamnios, encéphalocèle occipitale

- RCIU
- œdème cervical
- **Dysmorphie cranio-faciale** : Fente labio-gingivale droite, micro-rétrognathisme
- **Encéphalocèle occipitale**,
- **Rein G microkystique, dysplasique**
- **VDDI type Fallot**,
- **Poumon droit monlobé**,
- Une micro-rate accessoire,
- Artère ombilicale unique

21N00036

M. Joubert



seq[GRCh38] del(7)(p22.2p21.3)dn

NC\_000007.14:g.3513644\_13389557del

### Echec ACPA

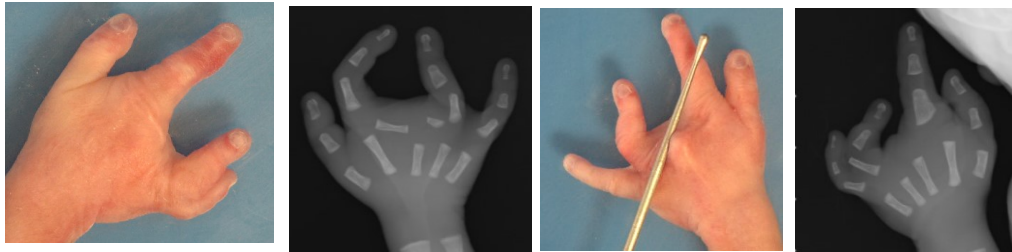
délétion 7p confirmée par FISH chez fœtus

Absence de la délétion chez les parents.

## IMG, 25SA pour ectrodactylie

Echo T2, 3 rayons détectés aux mains et pieds

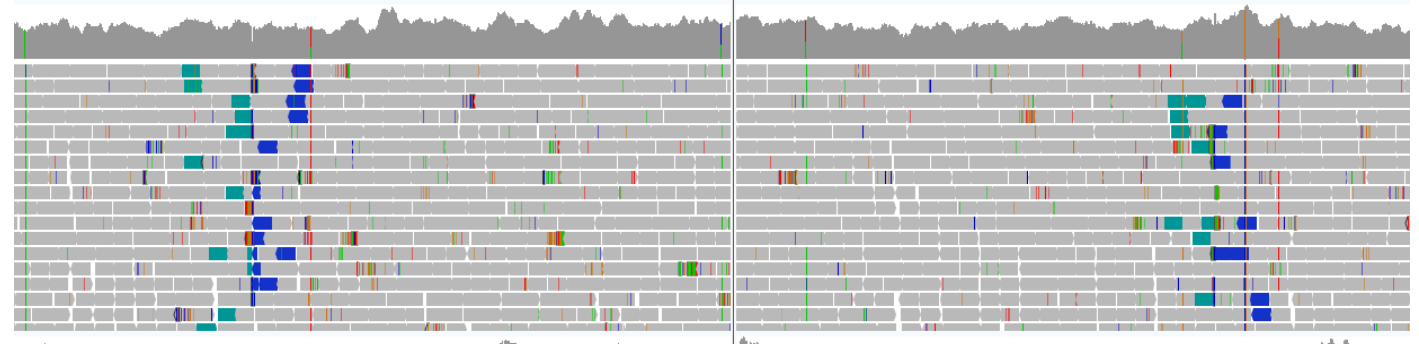
ACPA sur LA normale



21NF00245, L. Loeuillet

SG sur tissu (poumon): **inversion en 7q21.2q21.3**, *de novo*, (4,3 Mb)  
impliquant la région régulatrice SHFM1 (Split Hand and Foot Malformation)

Chromosome 7



Characterization of the **split hand/split foot** malformation **locus** SHFM1 at 7q21.3-q22.1 and analysis of a candidate gene for its expression during limb development.

Crackower MA, Scherer SW, Rommens JM, Hui CC, Poorkaj P, Soder S, Cobben JM, Hudgins L, Evans JP, Tsui LC.

Hum Mol Genet. 1996 May;5(5):571-9. doi: 10.1093/hmg/5.5.571.

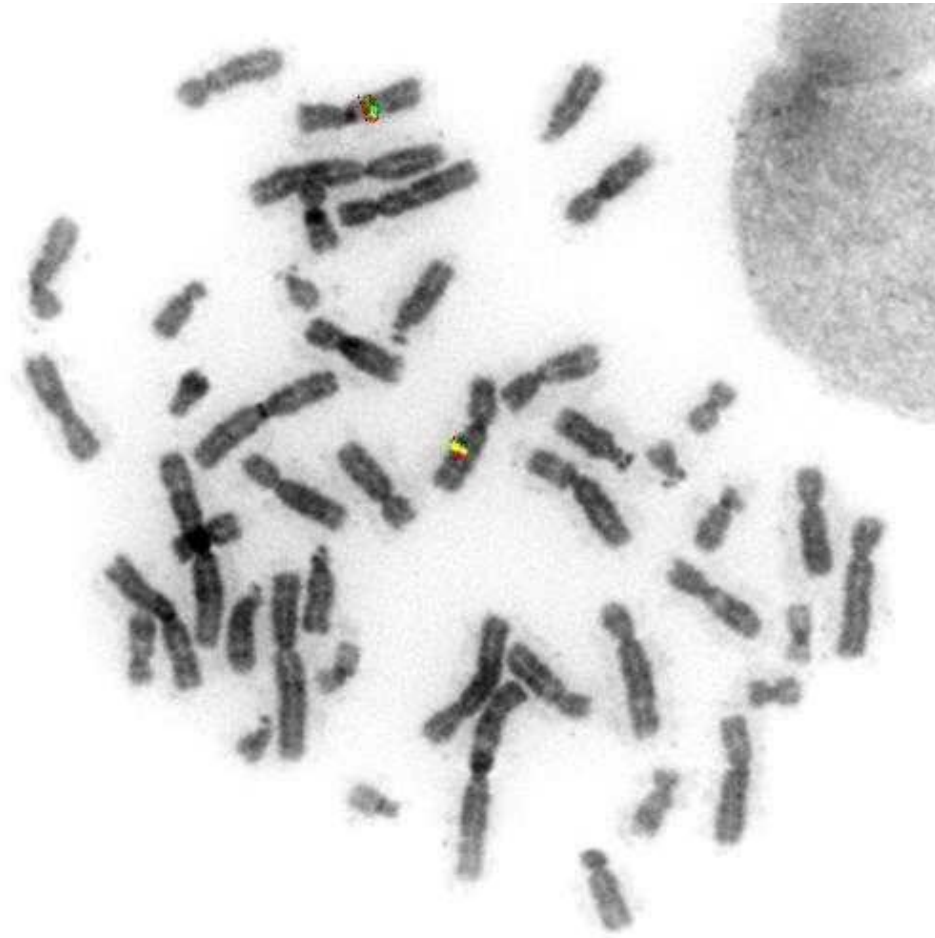
## Inversion en 7q équilibrée

### IMG, 25SA pour ectrodactylie

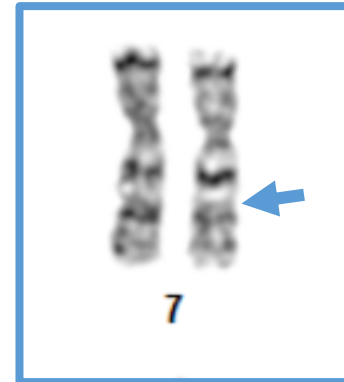
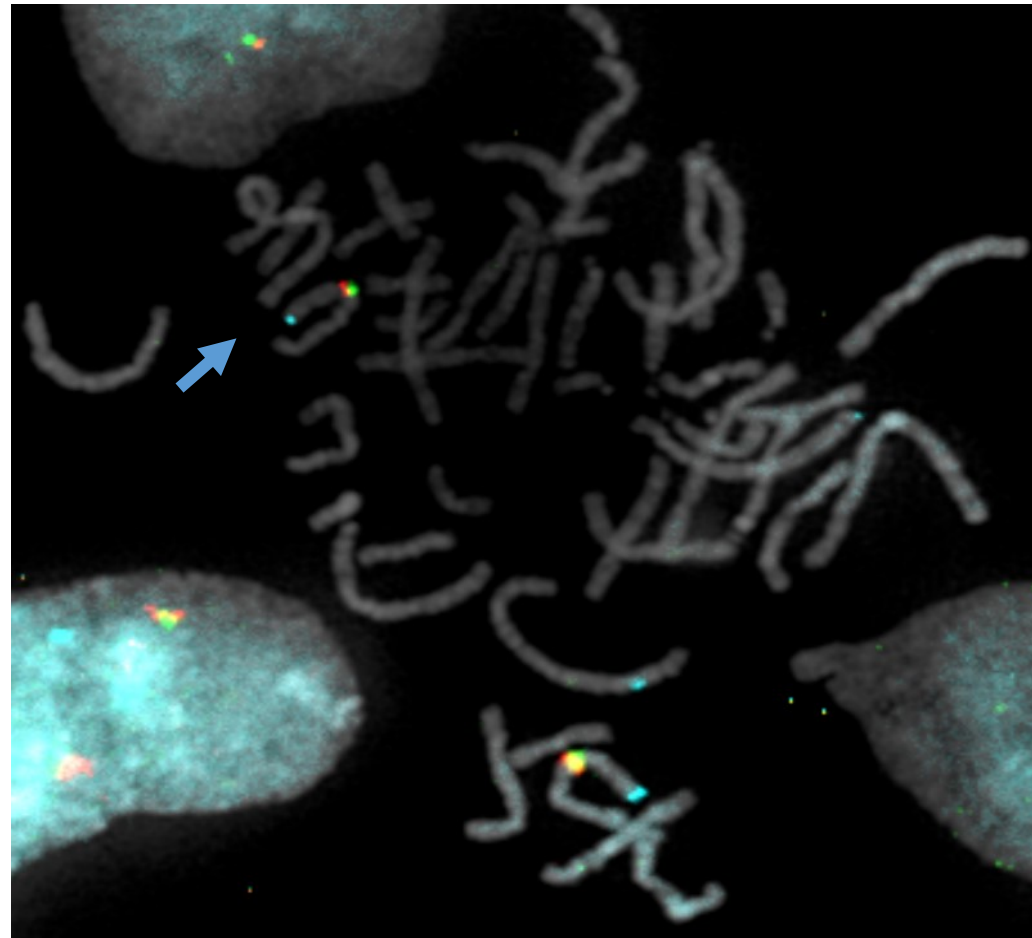
Echo T2, 3 rayons détectés aux mains et pieds

ACPA sur LA normale

SG sur tissu (poumon): **inversion en 7q21.2q21.3**, *de novo*, (4,3 Mb)  
impliquant la région régulatrice SHFM1 (Split Hand and Foot Malformation)

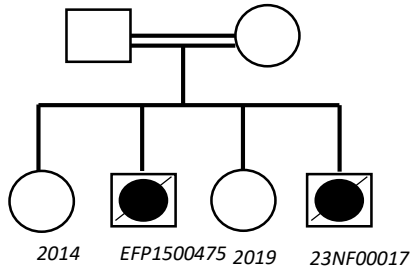


confirmation de l'inversion par FISH





# Délétion infra CGH prénatale



IMG à 30SA

LA: ACPA sans déséquilibre

**EFP1500475**



**23NF00017**



23SA+1J: **PC 3°p**, CC vu, cavum ballonisé, kyste sous épendimaire

26SA+1J: **microcéphalie - infléchissement PC <3°** avec un corps calleux fin avec agénésie du genou, kystes paraventriculaires en frontal et en temporal

28SA+1J: **microcéphalie < 1°p**, corps calleux très aminci, kystes paraventriculaires, mains crispées

Exome : VSI homozygote de *PLK4*

Sample id	SV_ty...	SV start/end	SV_length	GENES	Genes	DRF	DRA
● GULBEDEN Foetus 2015				EIF2AK1	▲	0	0
● GULBEDEN Foetus 2023		7:5874079	227756	OCM	■	0	0
○ GULBEDEN MELANIE	DEL	7:6101835		PMS2	▼	0.49	0.48
□ GULBEDEN RAMAZAN				RN7SL851P		0.5	0.48

# WGS en quatuor SeqOIA

AC004895.1  
 AC005995.1  
*AIMP2*  
 ANKRD61  
 CCZ1  
 EIF2AK1  
 OCM  
*PMS2*  
 RN7SL851P  
 RNU6-218P  
 RSPH10B  
 SNORA80D





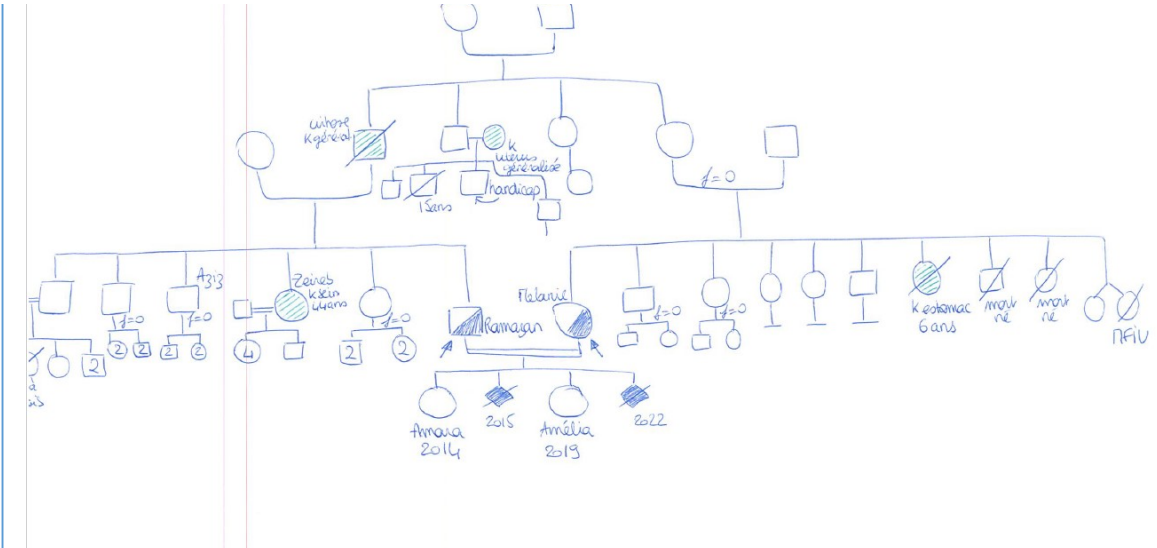
# PMS2

Location	Phenotype <a href="#">View Clinical Synopses</a>	Phenotype MIM number	Inheritance
7p22.1	Lynch syndrome 4	614337	
	Mismatch repair cancer syndrome 4	619101	AR

## Syndrôme de Lync AD

### Définition

Syndrôme familial rare avec prédisposition aux cancers caractérisé par une prédisposition à une grande variété de cancers, notamment les néoplasmes du tube digestif, des voies urinaires, des reins, de l'endomètre, des ovaires, du cerveau et de la prostate, ainsi que les tumeurs sébacées de la peau, selon le gène impliqué. Les tumeurs peuvent survenir à tout âge, mais elles se présentent souvent chez les jeunes. Le risque individuel de tumeur dépend des facteurs suivants : le sexe, l'âge, le gène affecté et les antécédents personnels de cancer.



### ABDOMEN

#### Gastrointestinal

- Adenomatous colonic polyps

### SKIN, NAILS, & HAIR

#### Skin

- Cafe-au-lait spots
- Axillary freckling

### NEUROLOGIC

#### Central Nervous System

- Agenesis of the corpus callosum
- Gray matter heterotopia
- Interhemispheric cyst

### IMMUNOLOGY

- Immunoglobulin class switch recombination deficiency
- Recurrent infections

### NEOPLASIA

- Astrocytoma
- Glioblastoma
- Oligodendroglioma
- Neuroblastoma
- Supratentorial primitive neuroectodermal tumor (SPNET)
- Mucoepidermoid cancer of the parotid
- Colorectal adenocarcinoma
- Ovarian neuroectodermal tumor
- Endometrial adenocarcinoma
- Leukemia
- Lymphoma

### LABORATORY ABNORMALITIES

- Elevated IgM
- Decreased IgG2 and IgG4
- Decreased IgA

AR

# AIMP2

Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key	Gene/Locus
7p22.1	Leukodystrophy, hypomyelinating, 17	618006	AR	3	AIMP2

## GROWTH

### Height

- Short stature

### Other


- Poor overall growth

## HEAD & NECK

### Head

- Microcephaly (-10 SD) 

### Face

- Dysmorphic features, variable
- Prognathism 

### Nose

- Low hanging columella
- Anteverted nostrils

### Mouth

- Thick lip vermillion
- Gum hypertrophy

### Teeth

- Widely spaced teeth

## RESPIRATORY

- Breathing difficulties

## ABDOMEN

### Gastrointestinal

- Poor feeding

## SKELETAL

- Contractures

### Spine

- Kyphoscoliosis

## SKIN, NAILS, & HAIR

### Hair

## NEUROLOGIC

### Central Nervous System

- Lack of developmental milestones
- Intellectual disability, profound
- Inability to walk
- Absent speech
- Seizures, early-onset, intractable
- Multifocal spike wave discharges seen on EEG
- Hypsarrhythmia
- Cerebral atrophy
- Cerebellar atrophy
- Thin corpus callosum
- Spinal cord atrophy
- T2-weighted hypointensities in the basal ganglia
- Hypomyelinating leukodystrophy
- Paucity of white matter

## MISCELLANEOUS

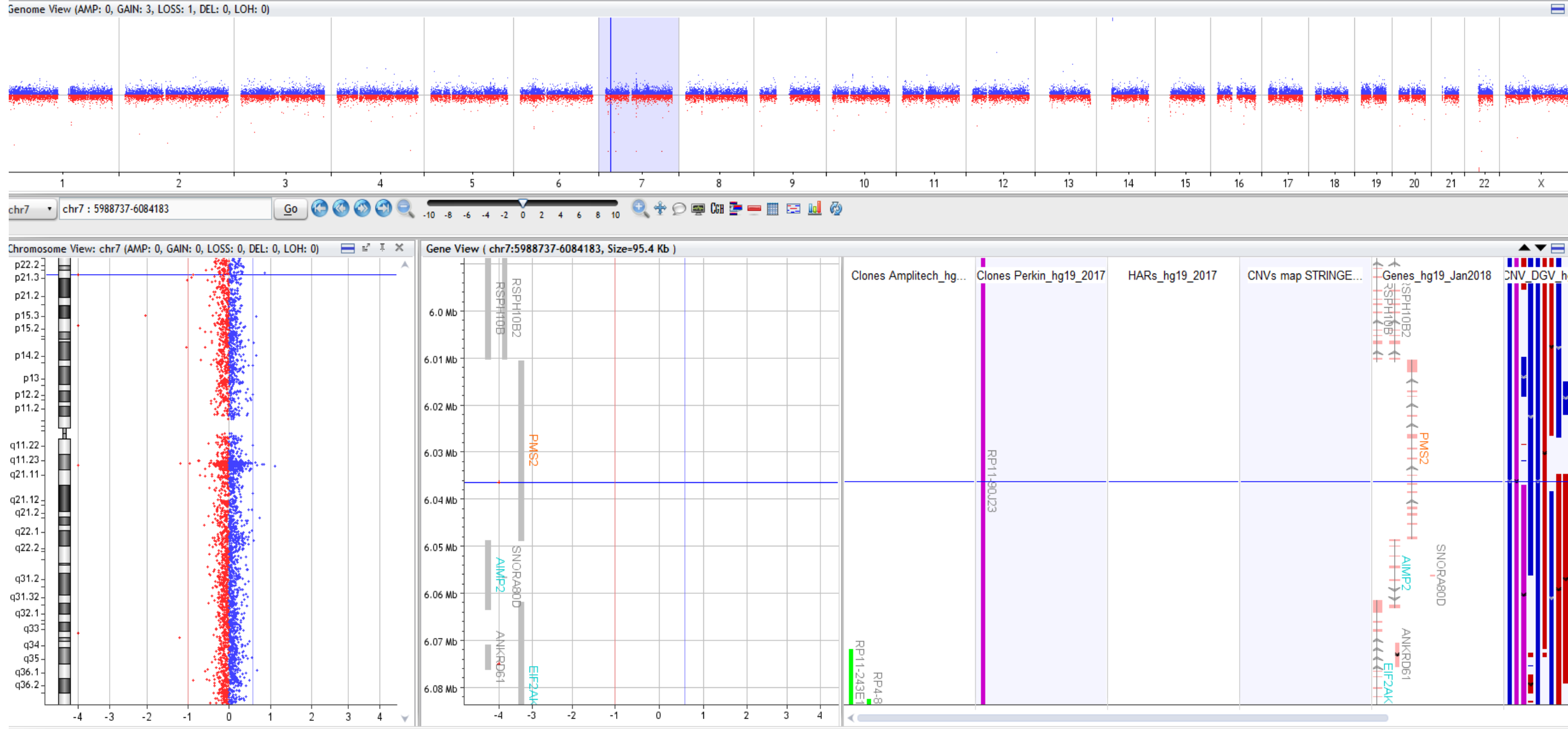
- Onset in infancy
- Progressive disorder
- Death in childhood may occur

aminoacyl-tRNA synthetase complex-interacting multifunctional protein 2 essential for the assembly and stability of macromolecular tRNA synthetase complex

# CGH Fœtus 2023

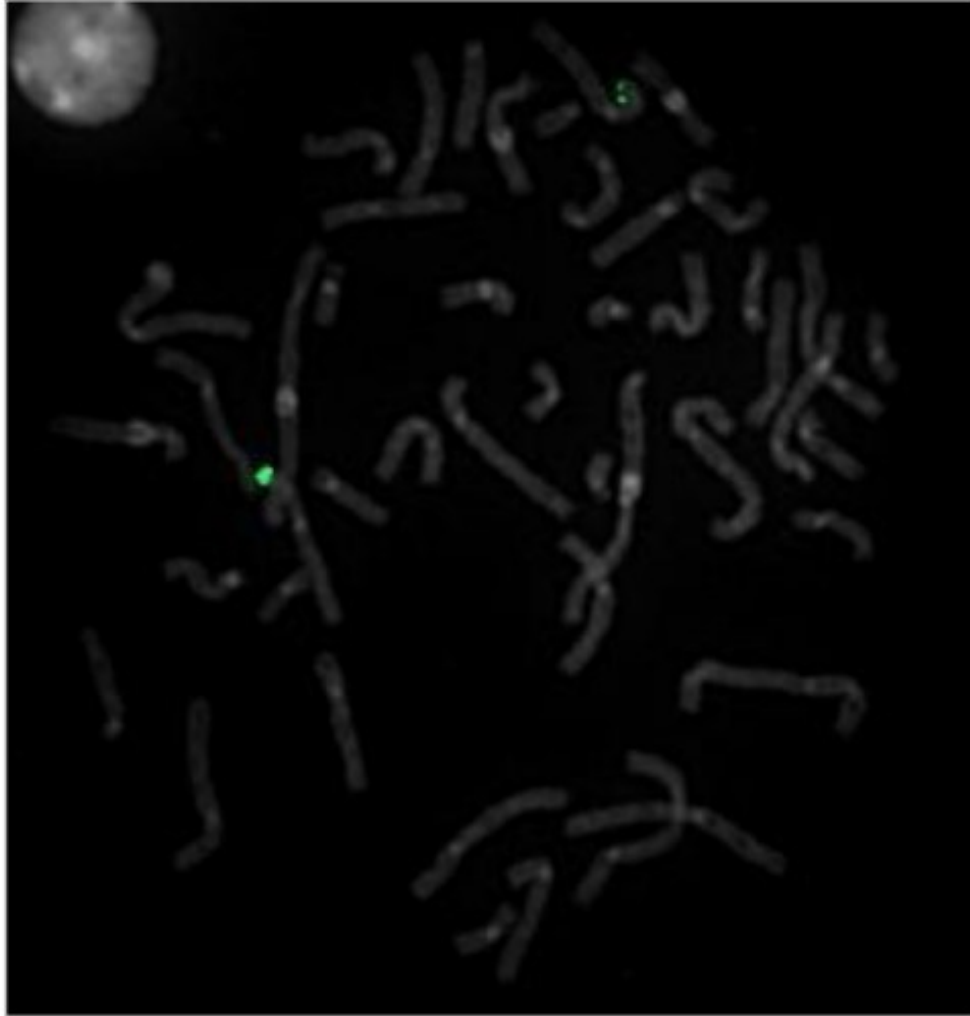
## MP Beaujard

Une sonde sur AMPS2  
Une sur *EIF2AK1* et *ANKRD61*- pas *AIMP2*  
FISH sur les parents : asymétrie



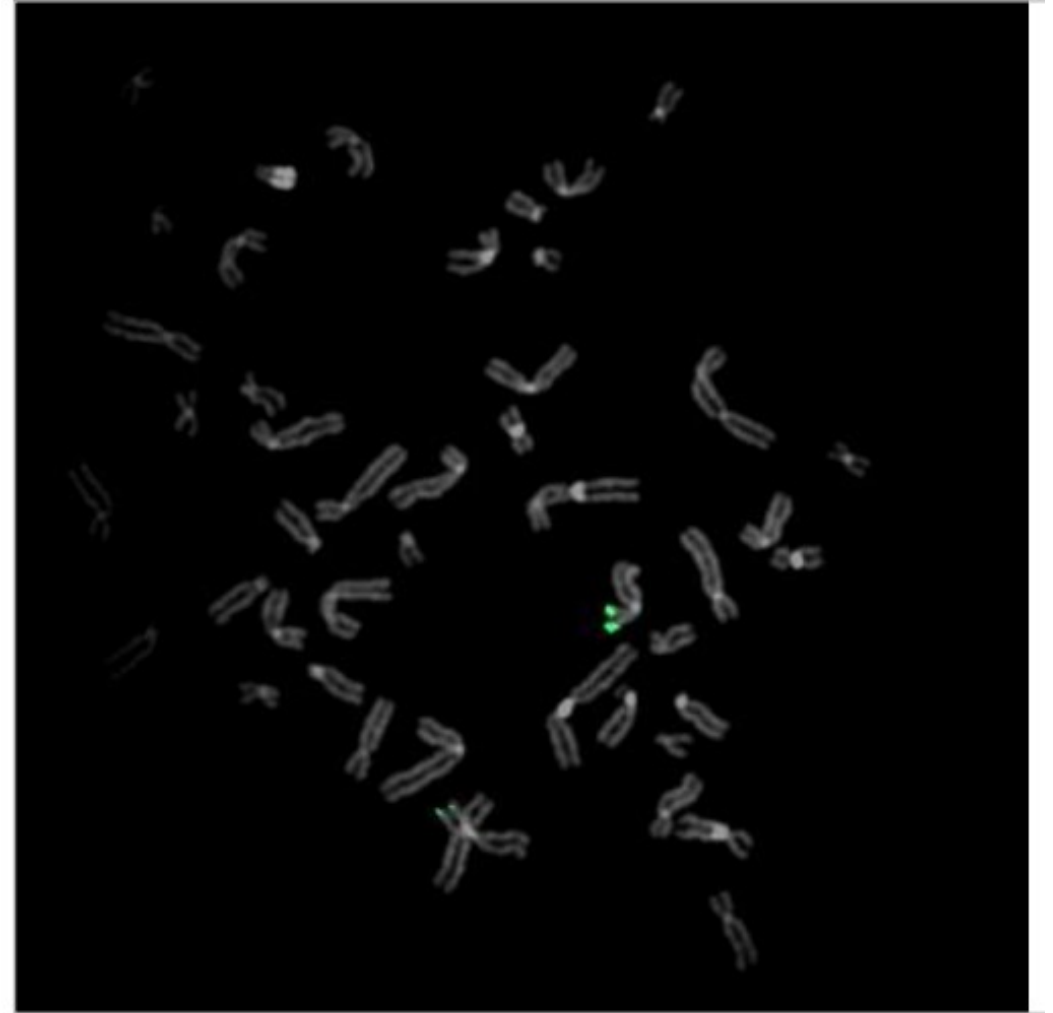
Mère

Sonde: RP11-90J23/V + RP11-161C7/R



Père

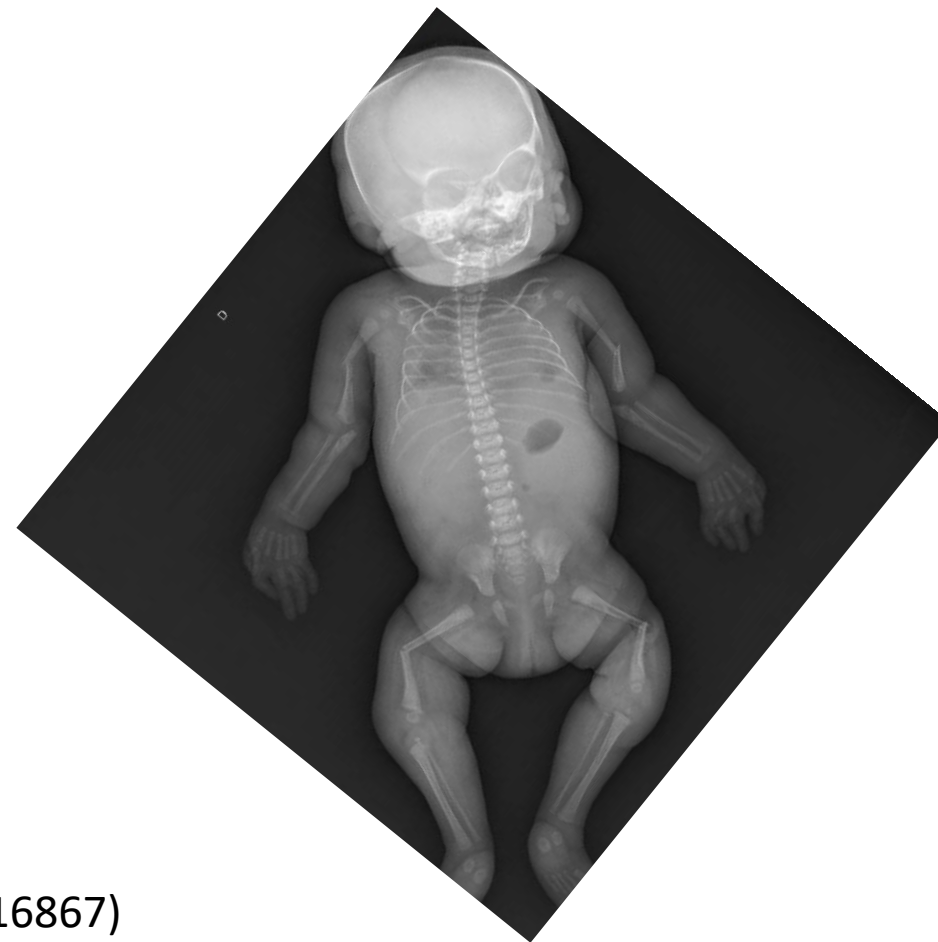
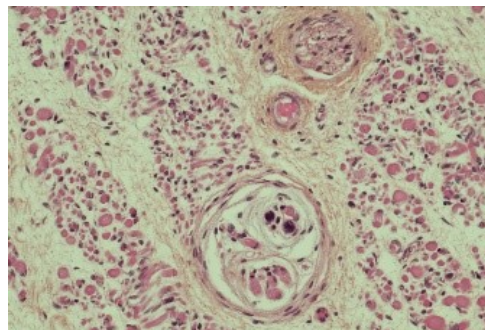
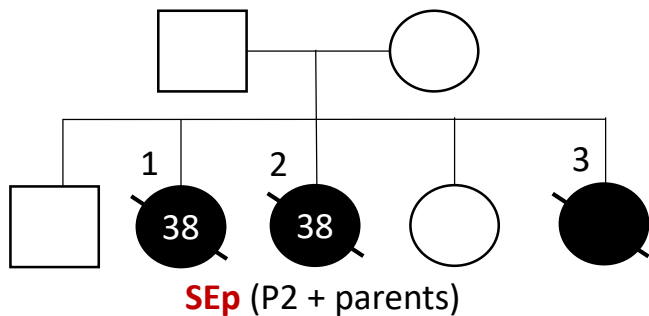
Sonde: RP11-90J23/V + RP11-161C7/R



## SG - *ASCC1* 2 délétions intragéniques

Hypothèse diagnostique confirmée par SG après **SE non conclusif**

3 décès néonataux dans le contexte d'une akinésie foetale



Hydramnios, arthrogrypose; naissance à 39SA, décès néonatal

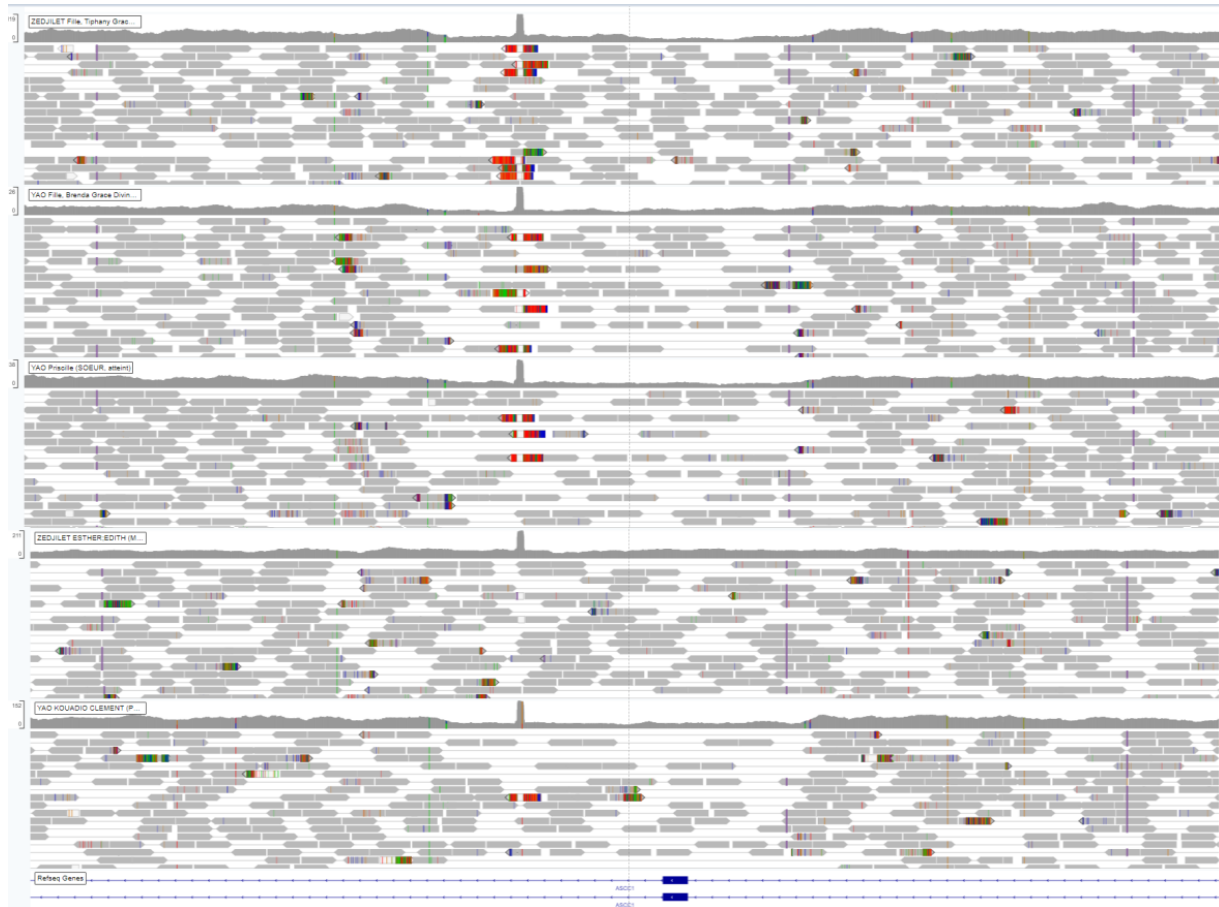
***ASCC1*: AR, amyotrophie spinale avec fractures congénitales (OMIM 616867)**

seq[GRCh38] del(10)(q22.1)mat NC\_000010.10:g.72151844\_72153529del (*ASCC1*)

seq[GRCh38] del(10)(q22.1)pat NC\_000010.10:g.72095673\_72097550del (*ASCC1*)

**SG > SE : couverture exonique, détection / interprétation des microremaniements**





Délétion exon 7 héritée  
du père



Délétion dernier exon 10  
héritée de la mère

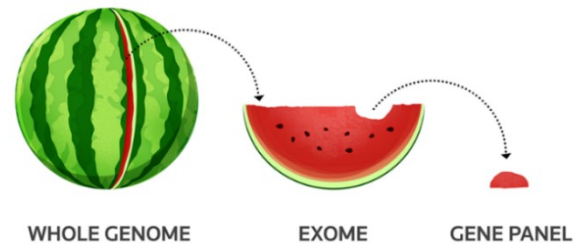


11/162 ont eu préalablement un SE (7 %)

**3% (6/162)** des diagnostics non accessibles par l'approche ACPAp + **SEp**

- **Mosaïque foétale (3)**
- **Rearrangement équilibré(1)**
- **Variants régions non codantes (2)**

**+ 13 CNV monogéniques**



# Perspectives en médecine foetale

## Séquençage de génome prénatal

Rapide

SV + SNV

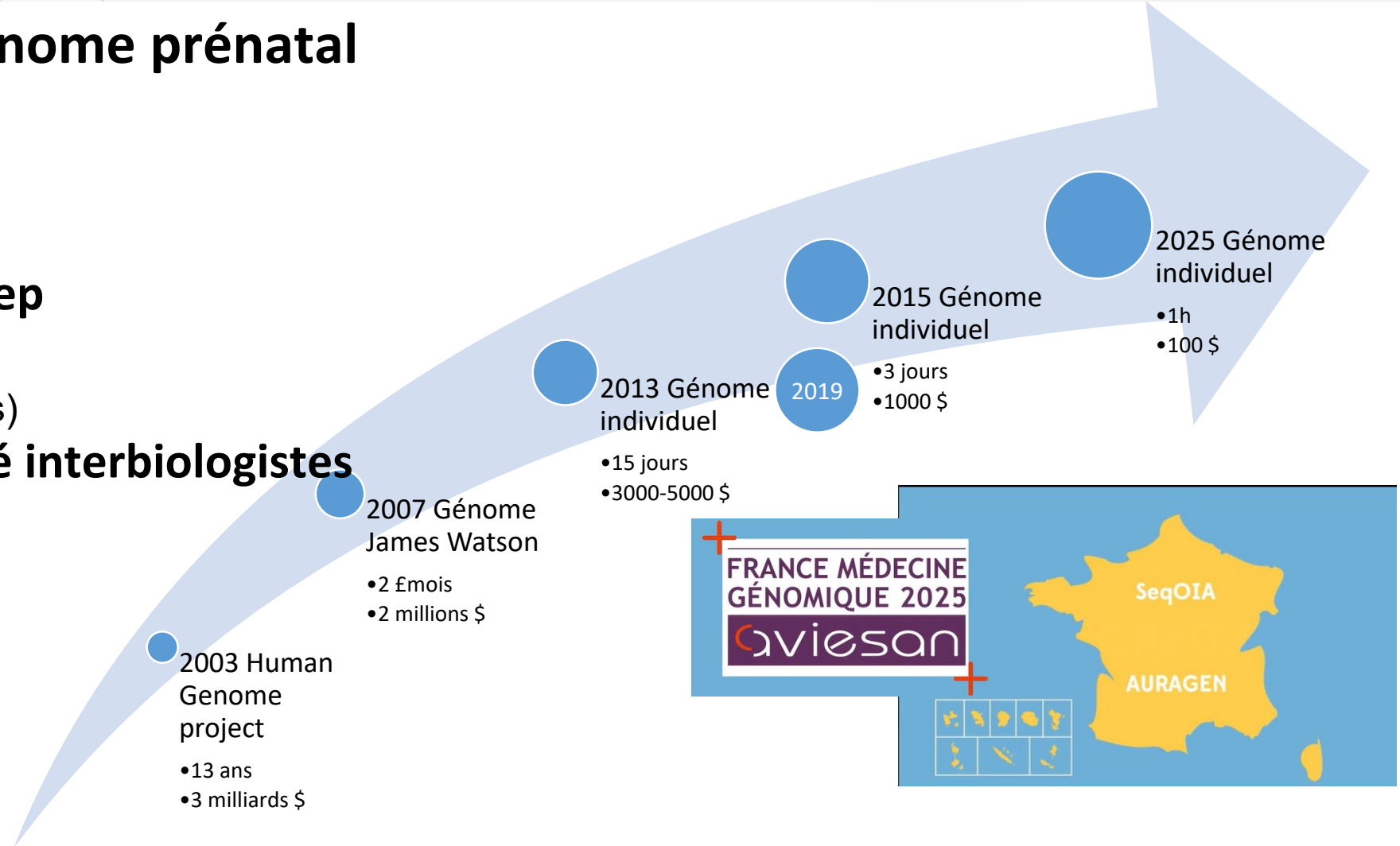
Plus efficace que le Sep

Examen unique

(ACPA + SEPs séquentiels)

Expertise et solidarité interbiologistes

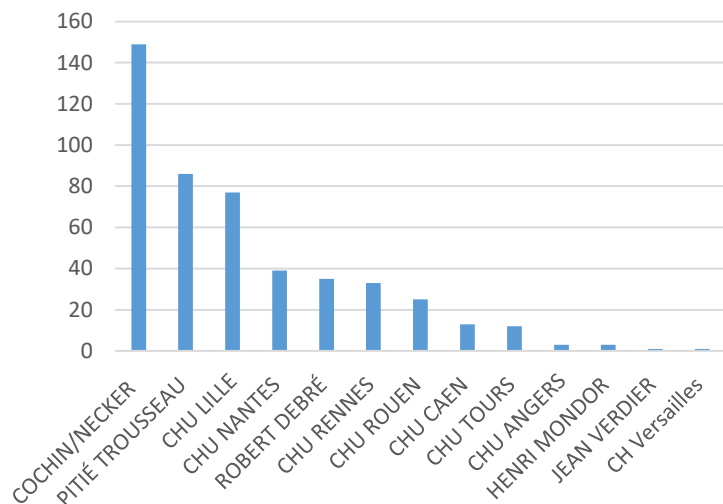
- ✓ LA, BT
- ✓ Mosaïques
- ✓ 10j-3 sem
- ✓ SEp



# Centres



## Centres prescripteurs



Thèse : Agnese Feresin

### NECKER

Tania ATTIE-BITACH  
Caroline MICHOT  
Laurence HEIDET  
Jeanne AMIEL  
Geneviève BAUJAT  
Julie STEFFANN

### COCHIN

Sarah GROTTA

### PITIÉ SALPÊTRIÈRE / TROUSSEAU

Alexandra AFENJAR  
Solveig HEIDE  
Delphine HERON  
Daphné LEHALLE  
Linda MOUTHON  
Sandra WHALEN

### CHU LILLE

Odile BOUTE  
Cindy COLSON  
Catherine DELORME  
Anne DIEUX  
Florence PETIT  
Clémence VANLERBERGHE

### CHU NANTES

Claire BENETEAU  
Bertrand ISIDOR  
Leila GHESH  
Mathilde NIZON  
Marie VINCENT

### ROBERT DEBRÉ

Yline CAPRI  
Lyse RUAUD  
Laurence PERRIN-SABOURIN  
Louise GOUJON

### CHU RENNES

Mélanie FRADIN  
Morel GODELIEVE  
Alinoé LAVILLAUREIX  
Sylvie ODENT  
Laurent PASQUIER  
Chloé QUELIN

### CHU ROUEN

Anne-Claire BREHIN  
Anne-Marie GUERROT  
Alice GOLDENBERG  
Gabriella VERA

### CHU TOURS

Méderic Jeanne  
Stéphanie ARPIN

### CHU CAEN

Arnaud MOLIN  
Manon GODIN

### CH Versailles

B Simon-Bouy

### CHI CRÉTEIL

Rakia BHOURI

### CH VANNES

Florence DEMURGER

### CHU ANGERS

Estelle COLIN  
Radka STOEVA

### CHU BREST

Severine AUDEBERT

### HENRI MONDOR

Ariane LUNATI-ROZIE  
Benoit FUNALOT

### JEAN VERDIER

Andrée DELAHAYE-DURIEZ

## INTERPRETATEURS

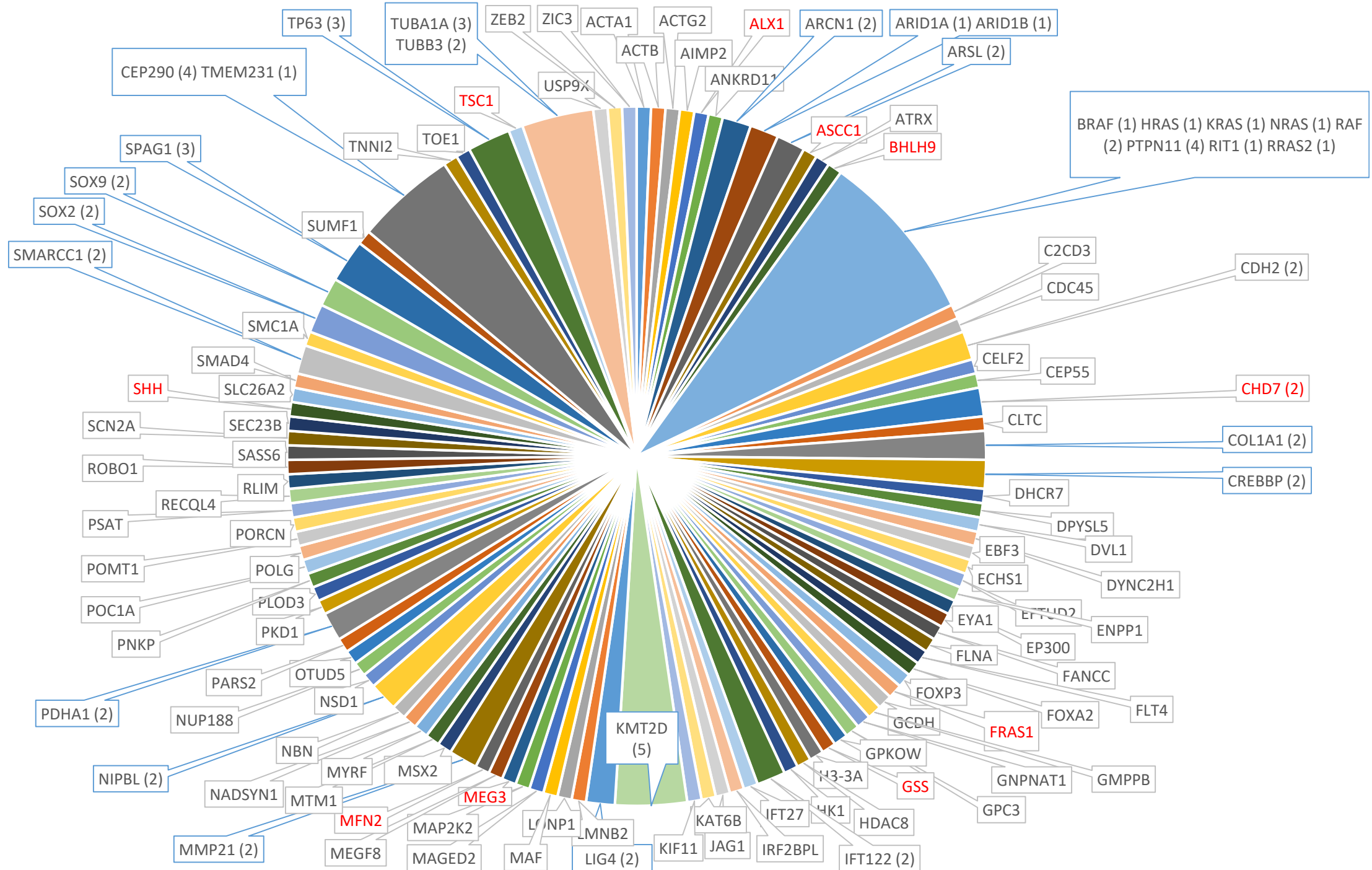
Tania ATTIE-BITACH  
Boris KEREN  
Thomas SMOL  
Benjamin COGNE  
Christel DUBOURG  
Pierre BLANC  
Jonathan LEVY  
Paul GUEGUEN  
Melania RAMA  
Sophie RONDEAU  
Corinne COLLET  
Laurence HEIDET  
Lydie BURGLEN  
Severine DRUNAT  
Fabienne ESCANDE  
Lucile BOUTAUD  
Pascale SAUGIER  
Audrey BRIAND  
Andrée DELAHAYE-DURIEZ  
Marie FAOUCHER  
Nathalie COUQUE  
Yoann VIAL  
Andrée DELAHAYE-DURIEZ  
Adeline Alice BONNARD  
Agnès GUICHET  
Flavie ADER  
Guillaume JEDRASZAK  
Jean-Madeleine DE SAINTE AGATHE  
Arnaud MOLIN  
Laila EL KHATTABI  
Olivier GRUNEWALD  
Severine BACROT  
Caroline THAMBO



*Merci pour votre attention*







Genes



# Analyses conclusives avec variations héritées (10 -3 mosaïques)

<b>Gène</b>	<b>Maladie</b>	<b>Parent</b>	<b>Clinique</b>	<b>Contexte</b>
<i>SMARCC1</i>	Hydrocéphalie	paternelle	Asymptomatique	Défaut de pénétrance
<i>SMARCC1</i>	Hydrocéphalie	maternelle	Asymptomatique	Défaut de pénétrance
<i>FLT4</i>	Cardiopathie	maternelle	Asymptomatique	Défaut de pénétrance
<i>ZEB1</i>	Corps calleux	maternelle	Asymptomatique	Mosaïque
<i>MEG3</i>	akinésie	maternelle	Asymptomatique	Empreinte
<i>PTPN11</i>	Noonan	maternelle	Symptomatique	Lien post SG
<i>TSC1</i>	STB	paternelle	Symptomatique	Mosaïque
<i>BHLH9</i>	Extrodactylie	maternelle	Atteinte	Forme familiale
<i>MSX2</i>	Encephalocèle	maternelle	Symptomatique	Evaluation post SG
<i>CHD7</i>	CHARGE	paternelle	Symptomatique	Duplication en tandem exons 2_4 Non détectable chez le père en génomique ou panel > PCR de jonction

# Reclassification : VSI -> P / LP

*C2CD3* c.1844-14G>A

RNA, splice

*IFT172* chr2(hg38) :g.27489819G>A

RNA, monoallelic expression

*MFN2* seq[GRCh38] del(1)(p36.22),del(1p36.22)

RNA analysis on fibroblast: exon 16 skipping,  
Major abnormalities of the mitochondrial network

*HDAC6*

X inactivation

*RLIM* XL

X inactivation and *de novo* in mother

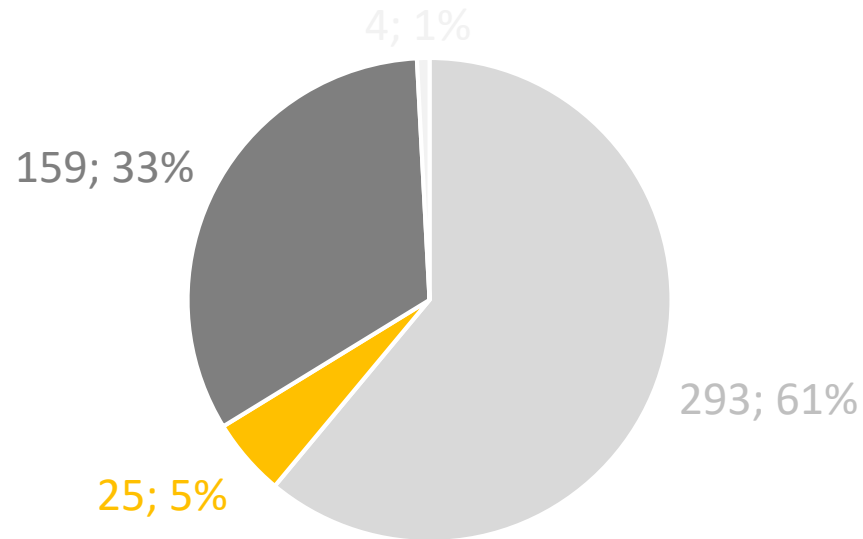
*TMEM231*

Familial segregation / recurrence

*MSX2*

Clinical examination and X ray mother

# Variations de signification incertaine



Class 1: benign

Class 2: likely benign

**Class 3: variant of uncertain significance (25)**

Class 4: likely pathogenic

Class 5: pathogenic

**Known disease gene with uncertainty on the variant**  
**7 already reclassified from VSI -> P / LP**

**Predisposing gene**  
**2 (au moins) – dysraphisme / cardiopathie**

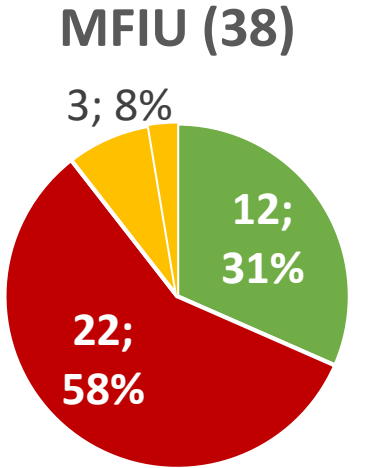
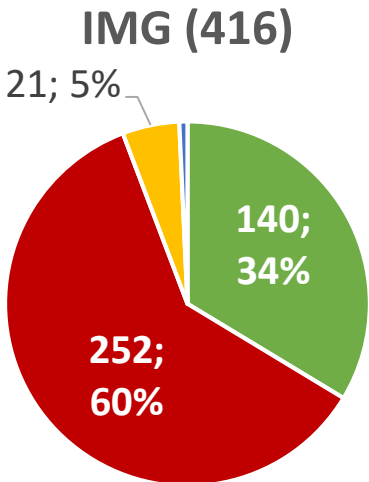
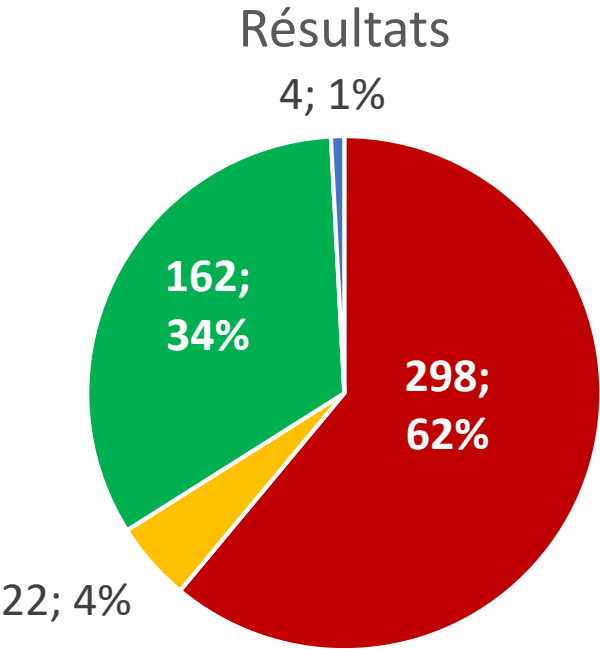
**Known disease gene with unknown fetal phenotype**

***EP300* (2)**  
**Autre ?**

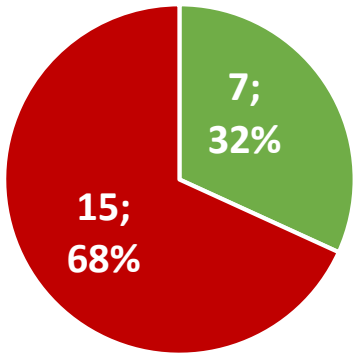
**Novel gene ? Match with mouse model and /or genematch**

***CTU1***  
***HIC2***

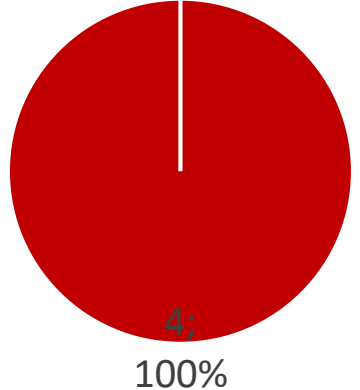
# SG après examen foetopathologique 2020 – Avril 2023, taux diagnostic



Décès néonatal(22)



Fausse couche (4)

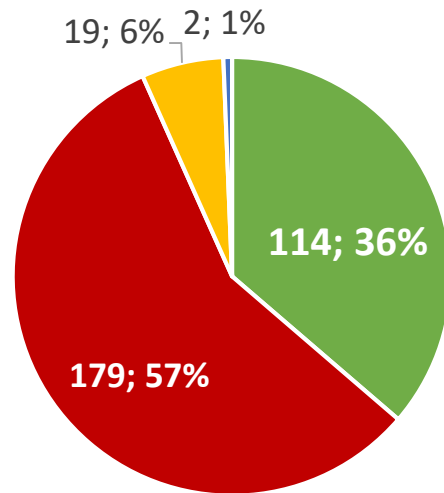


■ Conclusif     
 ■ Non conclusif avec VSI     
 ■ Non-conclusif

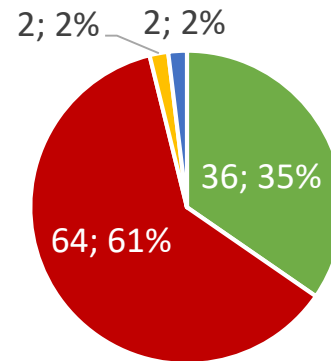


# Rendement diagnostique selon l'indication

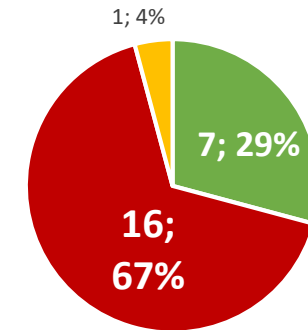
## Anomalies du développement(314)



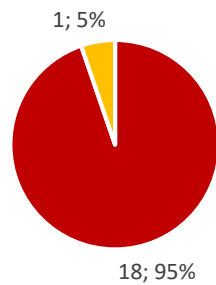
## Anomalies cérébrales(104)



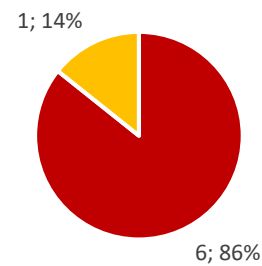
## Maladies osseuses (24)



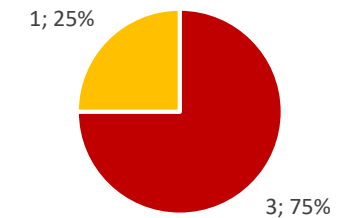
## Dysraphisme (19)



## Néphropathie (7)



## Cardiopathie (4)



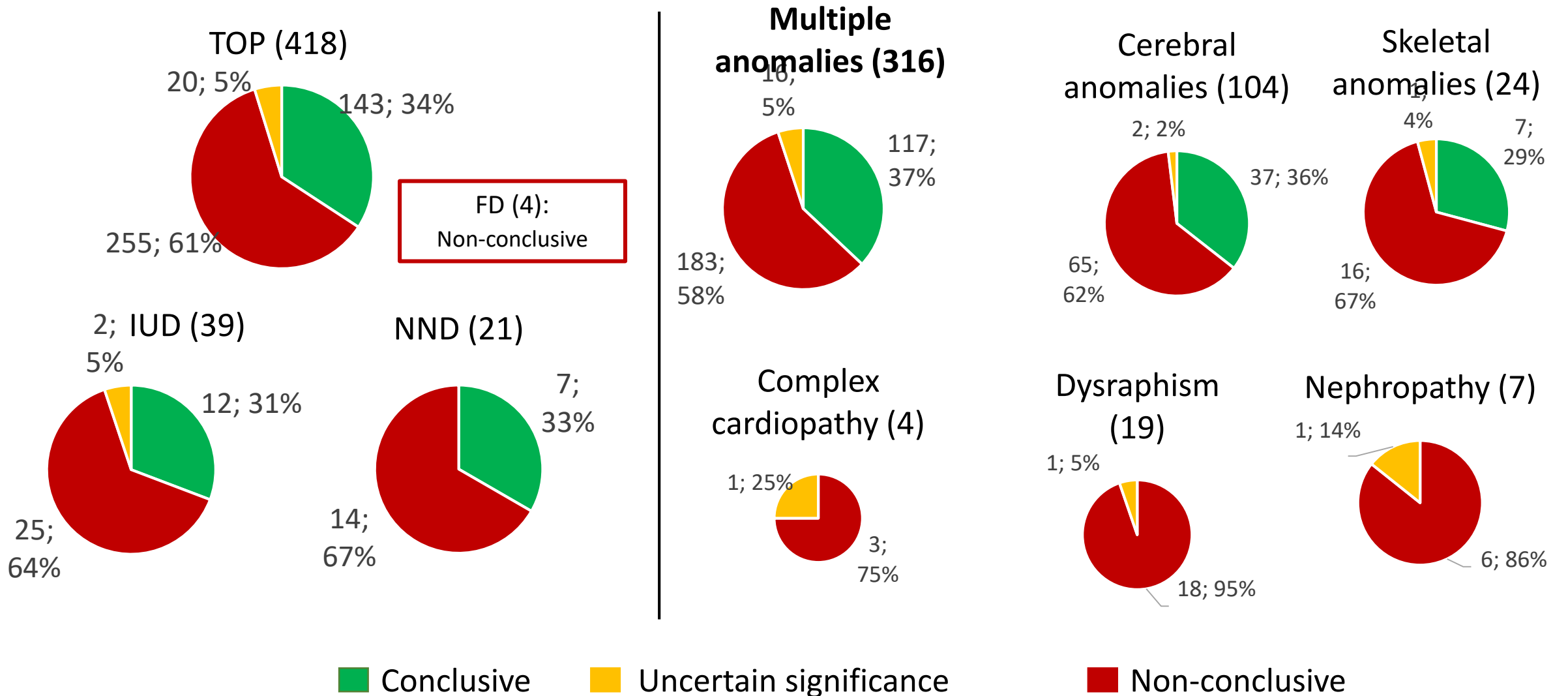
Conclusive

Non conclusive avec VSI

Non-conclusive

En cours

# Results – Diagnostic yield



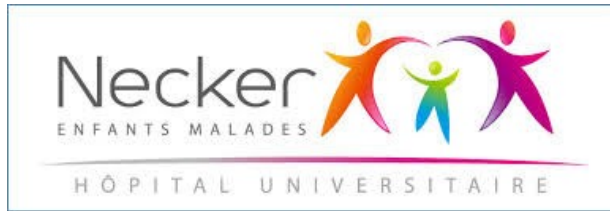
# Perspectives dans les cas négatifs

480 WGS cases

66% sans diagnostic

- ✓ Ré-analyse : nouveaux outils, nouvelles connaissances
- ✓ Partage de données
- ✓ Approche multi-omiques
- ✓ Long reads
- ✓ Mécanismes alternatifs / épigénétique
- ✓ Autre tissu ?

# Séquençage d'exome prénatal, résultats Necker 2020-2023



Sequençage  
d'exome prénatal  
122

Diagnostic  
41 (34%)

Non conclusif  
81 (66%)

Poursuite de grossesse

17/41 (41,5%)

IMG

24/41 (58,5%)

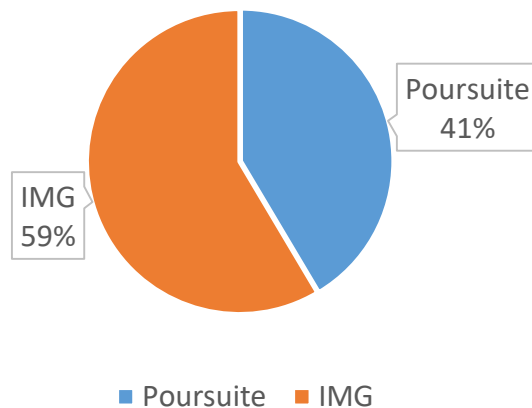
Poursuite de grossesse

73/81 (90 %)

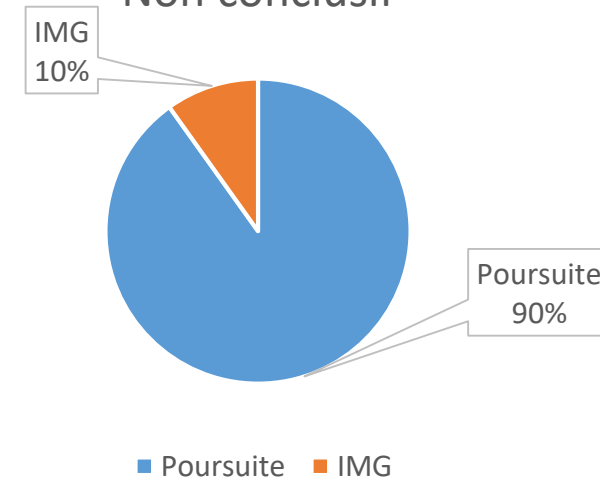
IMG

8/81 (10 %)

Diagnostic



Non conclusif





# SGp avec anomalie foetale, problèmes éthiques ?

Groupe éthique FFGH - SEp – L. Pasquier – P. Saugier – G. Cogan

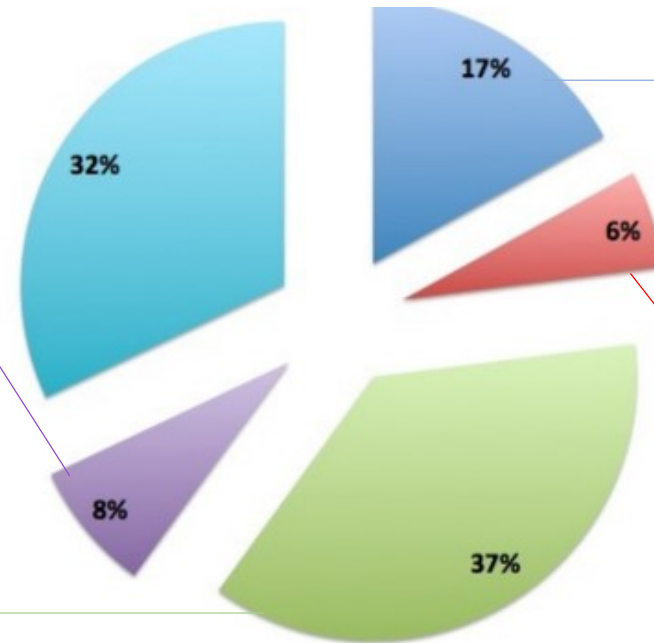
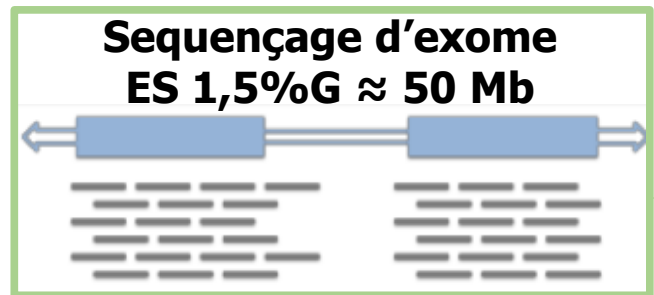
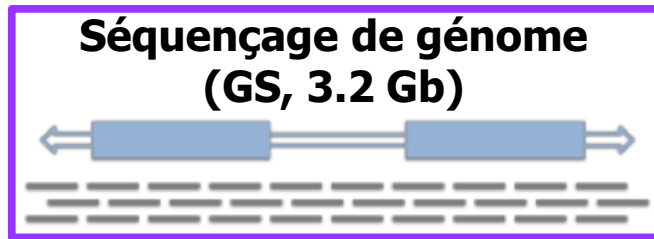
## ❖ Accès inégal

- Harmonisation sur l'ensemble du territoire de l'accessibilité aux explorations prénatales
  - Prise en charge locale
  - Multi-expertise RICB
  - Collegialité / solidarité RICB +++

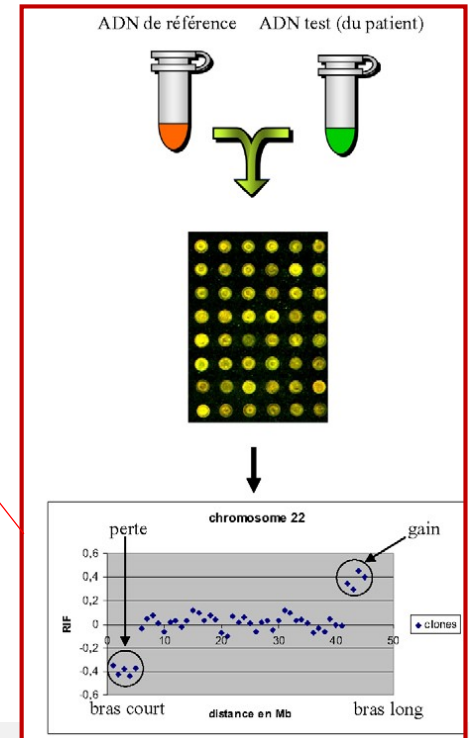
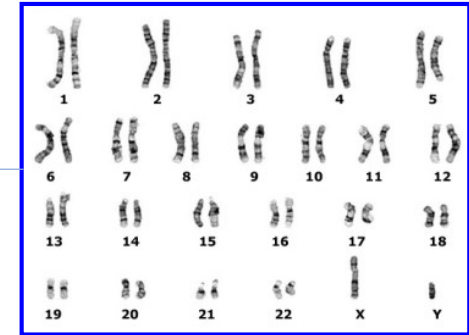
## ❖ Pratiques différentes

- Harmoniser les indications
- Harmoniser les modalités
  - Terme ?
  - Conservation de cultures pour étude ultérieure si besoin ?
- Harmoniser les pratiques : transmission des VSI / données incidentes en prénatal
- Suivi systématique des grossesses (VSI / données incidentes)
- Suivi psychologique des couples

# Causes génétiques diagnostiquées par les techniques génomiques



- Karyotype
- CMA
- ES
- WGS
- Unknown



# Séquençage de génome prénatal

## Ethique ?

- **Information diagnostique pourrait préciser les risques / modifier le**
  - Le devenir de la grossesse
  - la prise en charge du nouveau né
- Implications thérapeutiques
- En trio
- Conseil génétique pré et post-test
- Equipe multidisciplinaire
- Informations concernant les **données incidentes, les variations de significations incertaines**
- Réanalyses ultérieures avec plus de données phénotypiques (postnatale / postmortem)

# Données additionnelles : incidentes et secondaires

## Données secondaires

une variation pathogène sans relation directe avec l'indication initiale et recherchée activement en analysant une liste de gènes préétablie

## Données incidentes

variation pathogène sans relation directe avec l'indication initiale et de découverte fortuite.

## Autres données :

Variations hétérozygotes dans gènes récessif

Non recommandé Guidelines Européens  
Non autorisé en France (Loi)

## Va devenir possible (France, Loi)

Distinguer les diagnostics de pathologies pédiatriques sévères des maladies de l'adulte / prédispositions

**Respecter souhait des parents**

Attitudes variables



# Séquençage d'exome / génome prénatal: pour qui ?

## ➤ Ce n'est pas un test de dépistage

- ~~Risque augmenté au dépistage combiné~~
- Signes échographiques

## ➤ Toute anomalie pour laquelle une ACPA a été réalisée ?

### ***One major or multiple anomalies***

*for which no genetic diagnosis was found after CMA and a clinical genetic expert review considers the phenotype suggestive of a possible genetic etiology. or which the multiple anomaly "pattern" strongly suggests a single gene disorder*

***ISPD 2022***

***When multidisciplinary review considers a monogenic disorders is likely, and a molecular diagnosis may influence pregnancy or early neonatal management***  
***NHS England***

# Variations de signification incertaine (VSI)

© American College of Medical Genetics and Genomics

ACMG STATEMENT

Genetics  
inMedicine



## The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)

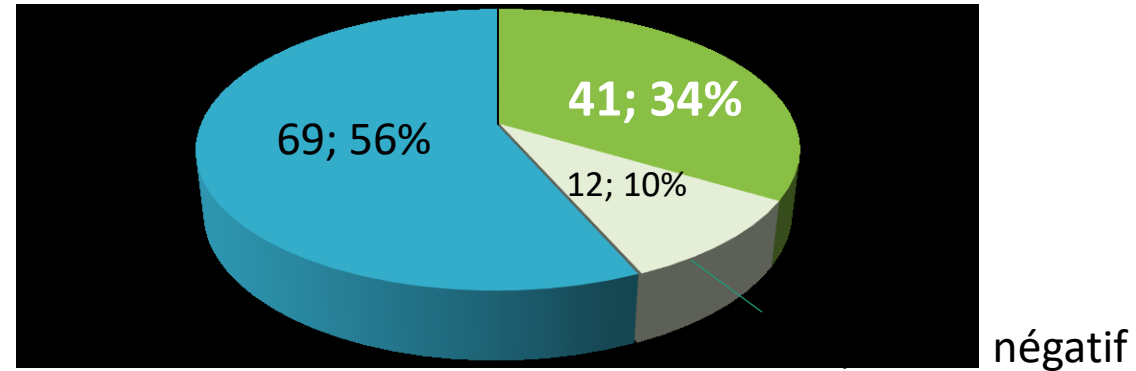
Kristin G. Monaghan, PhD<sup>1</sup>, Natalia T. Leach, PhD<sup>2</sup>, Dawn Pekarek, MD<sup>3</sup>, Priya Prasad, MD<sup>4</sup> and Nancy C. Rose, MD<sup>5</sup>; on behalf of the ACMG Professional Practice and Guidelines Committee

### *Known disease genes*

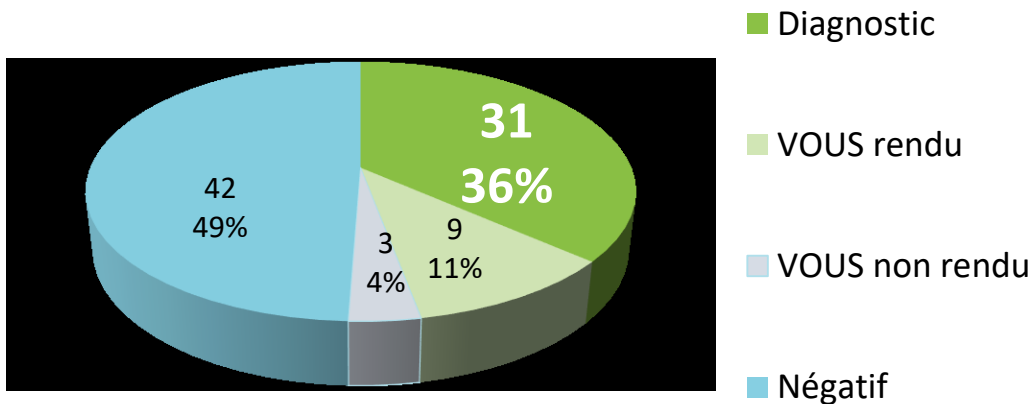
- It is recommended that laboratories offering prenatal ES report pathogenic and likely pathogenic variants, as determined using ACMG variant interpretation guidelines in known disease genes consistent with the reported fetal phenotype.<sup>18,21</sup>

# Exome rapide, résultats Necker 2020-2023

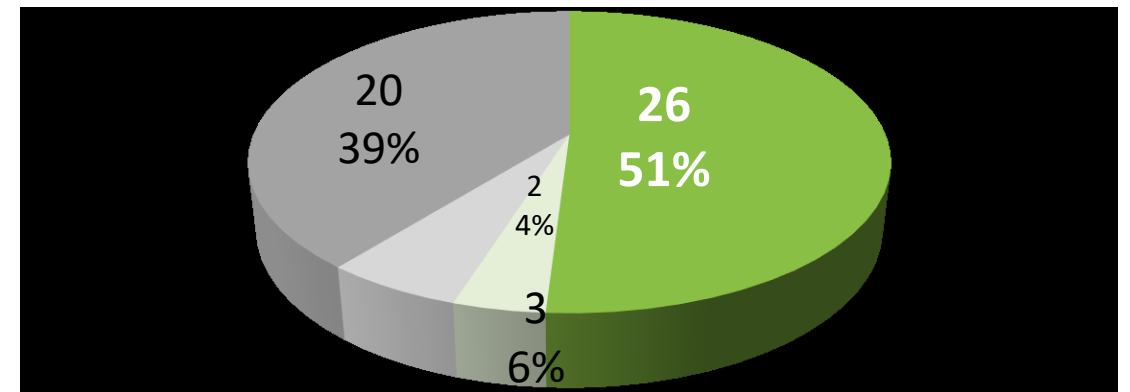
## 1 – Signes d'appel échographiques (122)



## 2-Nouvelle grossesse, cas index sans diagnostic (86)

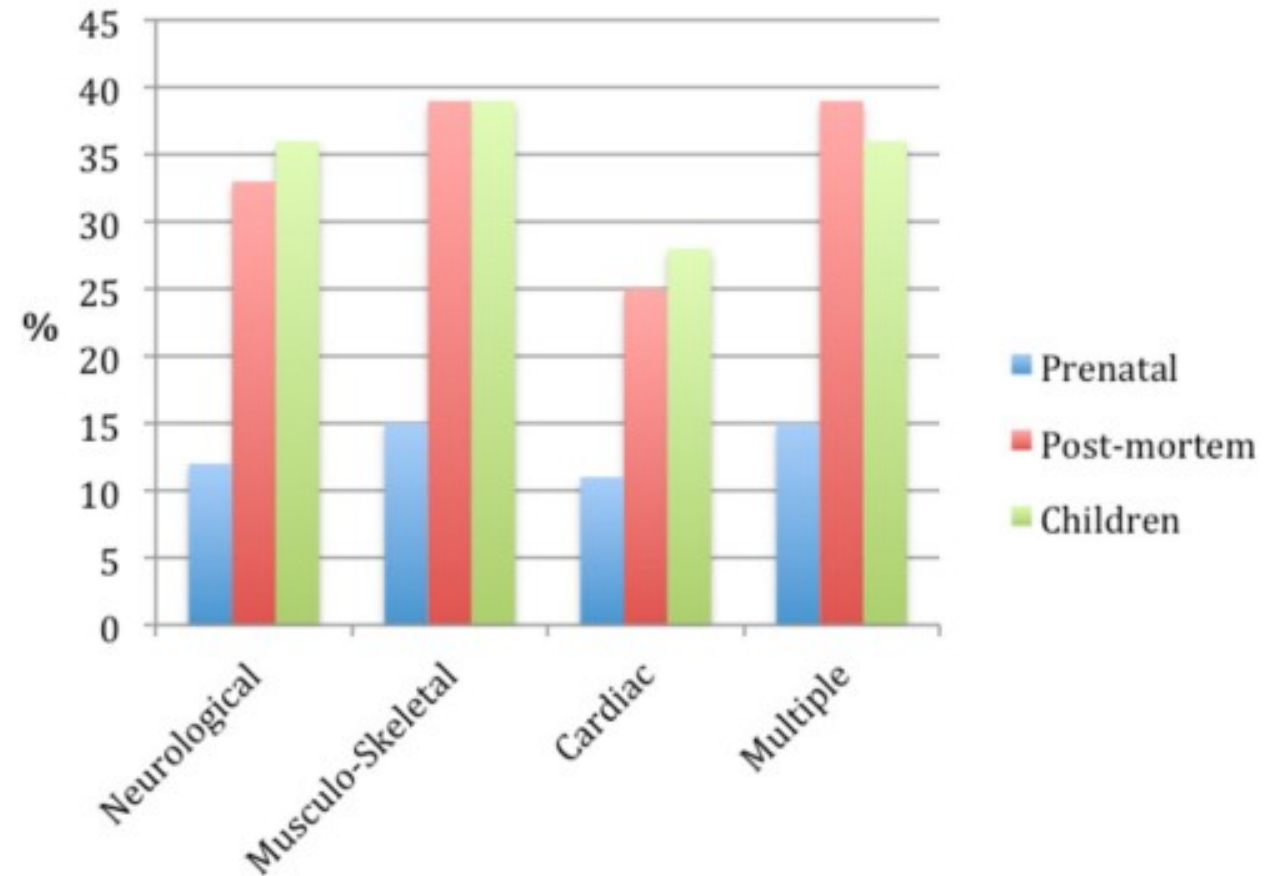


## 3-Néonate / Pédiatrie urgent (52)



# Séquençage d'exome prénatal

## Difficultés et incertitudes - causalité



# Séquençage d'exome prénatal

## Difficultés et incertitudes - causalité

### Phénotypes partiels

Signes fonctionnels non vus en prénatal  
Non accessible à l'imagerie  
Absents à cette période

### Spectre de sévérité

Variabilité clinique des syndromes  
Phénotypes modérés ou extrêmes

Signes prénataux des maladies génétiques  
méconnus

Dans le temps imparti de la grossesse

Phénotype connu du gène	1
	2
Phénotype foetal	3
	4

Phénotype foetal	1
	2
Phénotype connu du gène	3
	4

Phénotype prénatal	?
--------------------	---



Difficultés d'interprétation  
(VSI – variant de signification  
inconnue / incertaine)



Besoin d'une meilleure  
connaissances des signes prénataux

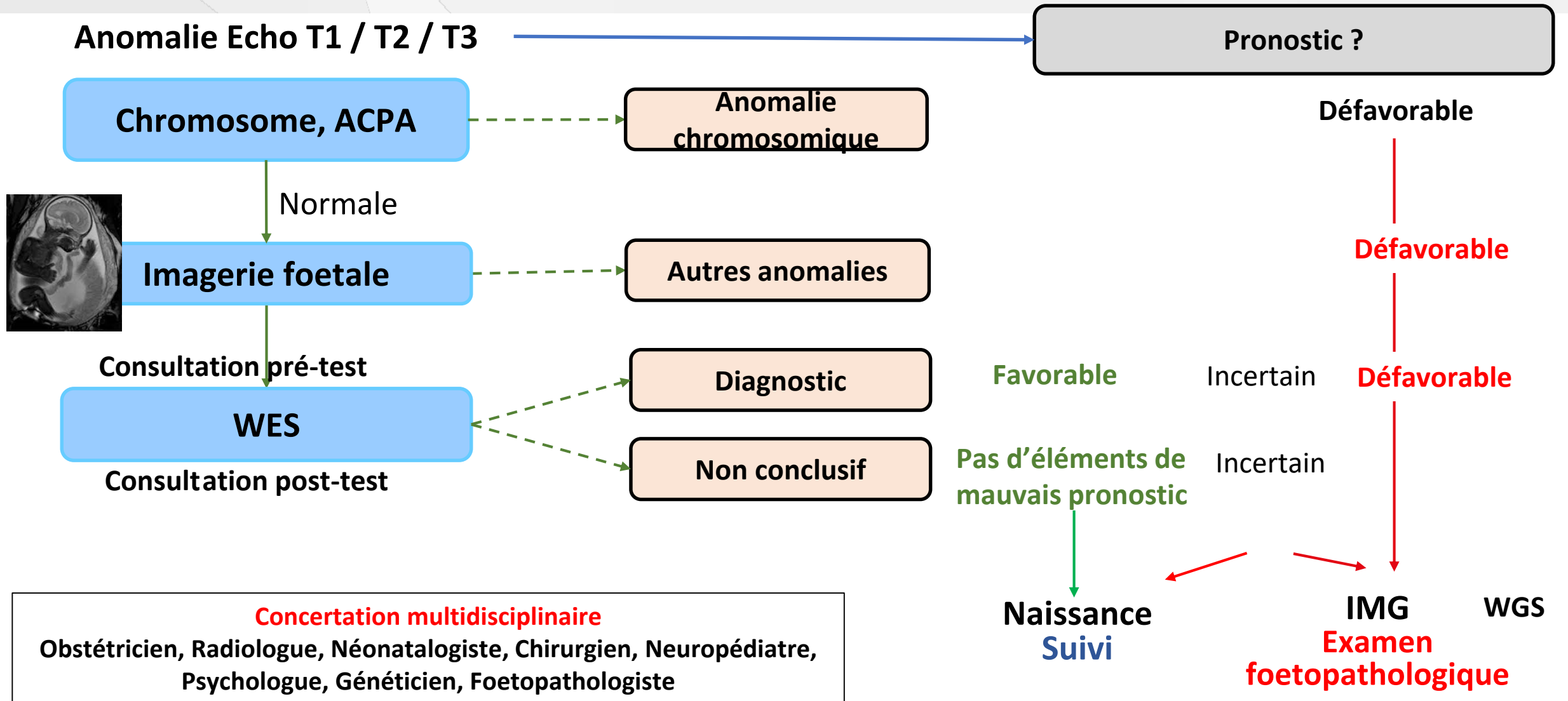


Pas de temps pour certaines études  
fonctionnelles

**Phénotypage = étape cruciale pour établir un diagnostic**

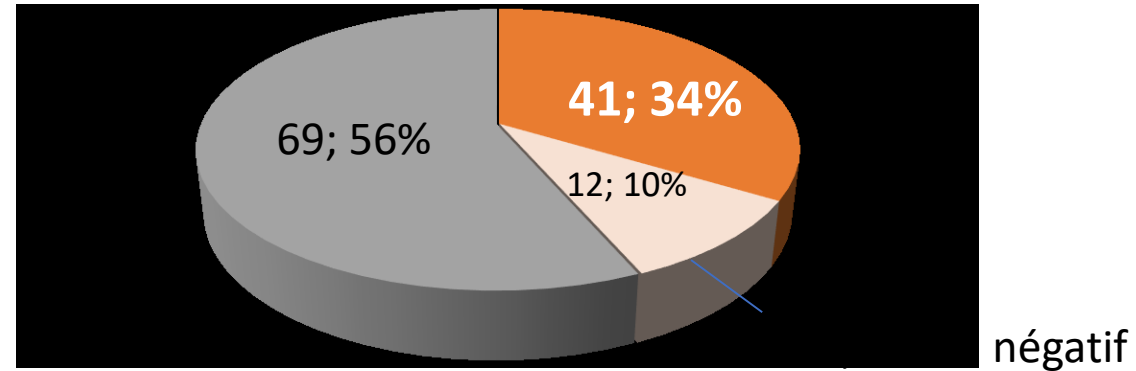


# Stratégies d'explorations génétiques prénatales

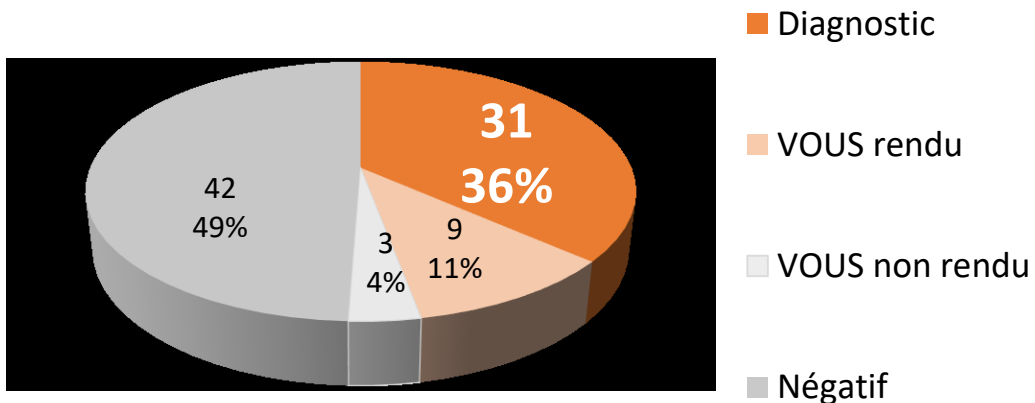


# Exome rapide, résultats Necker 2020-2023

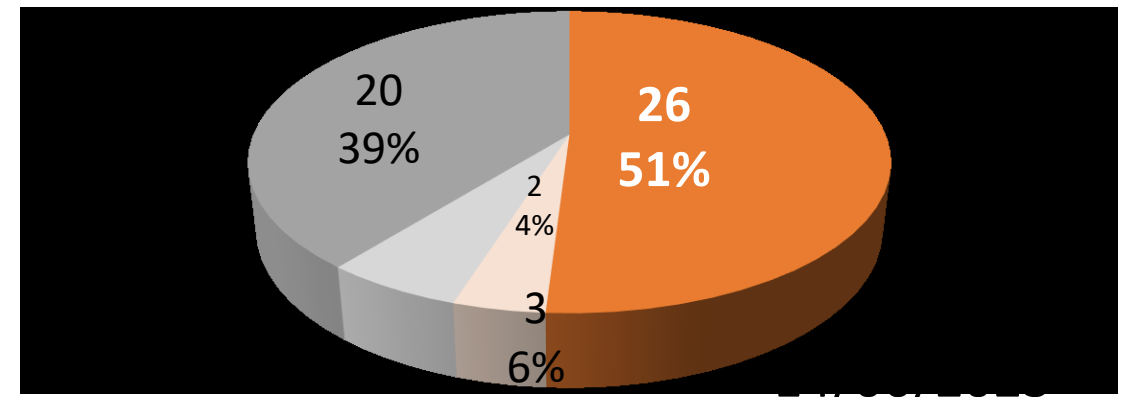
## 1 – Signes d'appel échographiques (122)



## 2-Nouvelle grossesse, cas index sans diagnostic (86)



## 3-Néonatal / Pédiatrie urgent (52)



# Exome prénatal

## exemples d'indications retenues ou non retenues

### ➤ Exemples d'indications non retenues

- Clarté nucale 1<sup>er</sup> trimestre
- Anomalie de fermeture du tube neural isolé
- Cardiopathie isolée
- Fente labiale, labiopalatine isolée
  
- Pronostic défavorable et demande d'IMG

### ➤ Exemple d'indications retenues

- Signes d'appel échographiques  $\geq 2$
- Hypeclarté nucale persistante à 16SA, ACPA normale, échocardiographie
- Lymphothorax + autre signe
- Anasarque
- RCIU précoce et sévère
- Incurvation fémorale
- Chondrodysplasie ponctuée
- Fente palatine
- Agénésie du corps calleux
- Akinésie...

# pWES – exemple 1

Grossesse gémellaire BCBA  
 ACC chez les deux foetus féminins,  
 apparemment isolée à 24SA  
**Parents:** IRM cérébrale normale  
**ACPA:** normal

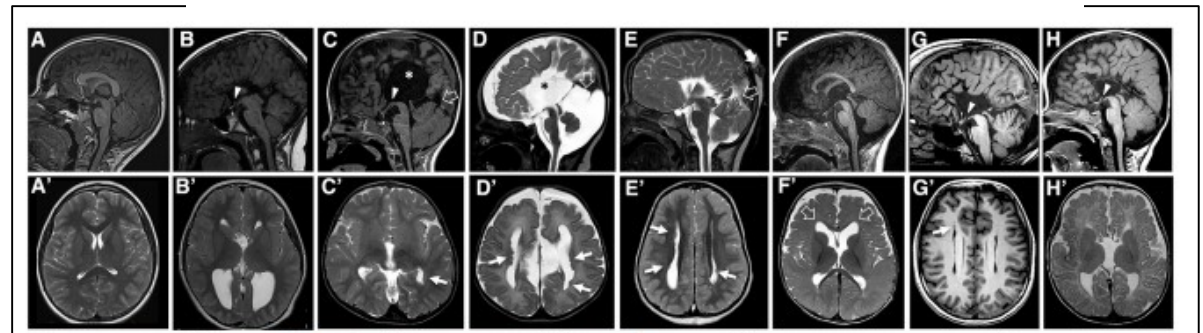
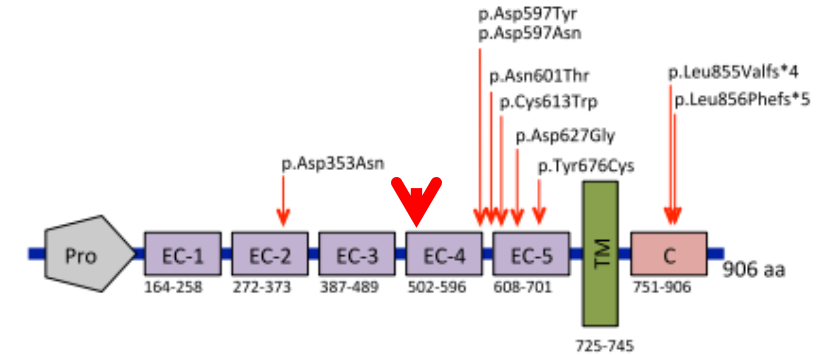
pWES: **CDH2** (N-cadherin , neuronal)  
 NM\_001792.4: c.1522G>A, p.(Glu508Lys) *de novo*

-> **Interruption médicale de grossesse**

N = 9 mutations de novo <i>CDH2</i>	Total
ACC	8/9
Head circumference (> 3 DS)	2/9
Dysmorphism	7/9
Hypothalamic adhesion	5/9
Interhemispheric cysts	2/9
Periventricular nodular heterotopia	4/9
Tentorium hypodysplasia	4/9
Cardio-vascular anomalies	7/9
Ocular anomalies : Peters anomaly, cataract	7/9
Urogenital : Micropenis, cryptorchid	4/9

## *De Novo* Pathogenic Variants in N-cadherin Cause a Syndromic Neurodevelopmental Disorder with Corpus Callosum, Axon, Cardiac, Ocular, and Genital Defects

Andrea Accogli,<sup>1,2,3,23</sup> Sara Calabretta,<sup>4,23</sup> Judith St-Onge,<sup>5</sup> Nassima Boudrahem-Addour,<sup>5</sup> Alexandre Dionne-Laporte,<sup>6</sup> Pascal Joset,<sup>7</sup> Silvia Azzarello-Burri,<sup>7</sup> Anita Rauch,<sup>7</sup> Joel Krier,<sup>8</sup> Elizabeth Fieg,<sup>8</sup> Juan C. Pallais,<sup>8</sup> Undiagnosed Diseases Network, Allyn McConkie-Rosell,<sup>9</sup> Marie McDonald,<sup>9</sup> Sharon F. Freedman,<sup>10</sup> Jean-Baptiste Rivière,<sup>5</sup> Joël Lafond-Lapalme,<sup>5</sup> Brittany N. Simpson,<sup>11</sup> Robert J. Hopkin,<sup>11</sup> Aurélien Trimouille,<sup>12,13</sup> Julien Van-Gils,<sup>12,13</sup> Amber Begtrup,<sup>14</sup> Kirsty McWalter,<sup>14</sup> Heron Delphine,<sup>15</sup> Boris Keren,<sup>15</sup> David Genevieve,<sup>16</sup> Emanuela Argilli,<sup>17</sup> Elliott H. Sherr,<sup>17</sup> Mariasavina Severino,<sup>18</sup> Guy A. Rouleau,<sup>6,19</sup> Patricia T. Yam,<sup>4</sup> Frédéric Charron,<sup>4,20,21,22,\*</sup> and Myriam Srouf<sup>1,5,19,\*</sup>



# pWES – exemple 2

Couple non apparenté  
Pas d'antécédents notables  
1ere grossesse

Echo T2: **CC court, épais**, < 1°p  
Echo 29 SA : < **1°p**

ACPA normale  
Parents: IRM cérébrale normale

**pWES trio:**

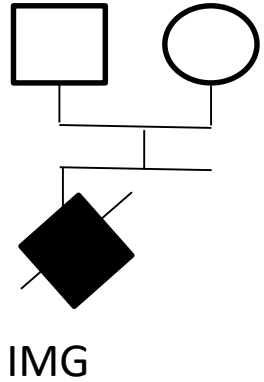
**DCC** NM\_005215.4:

c.4140\_4143dup, p.(Ala1382Asnfs\*24) *de novo*

**Mouvements en miroir  
Pas de  
Déficit intellectuel**

**-> Poursuite de la grossesse**

# pWES – exemple 3



1ere grossesse: IMG at 30 SA pur  
dysgénésie du corps calleux (court, épais)

**ACPA** : normale

**Examen foetopathologique**: DCC  
confirmée, isolée

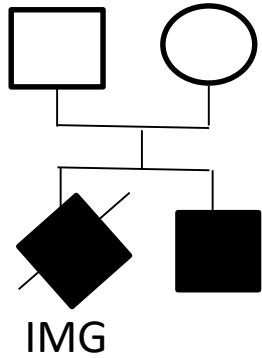
**Panel callosome**: normal



CC court, épais  
30x7 mm  
Genu non visible



# pWES – exemple 3



1ere grossesse: IMG at 30 SA pur  
dysgénésie du corps calleux (court,  
épais)

**ACPA** : normale

**Examen foetopathologique**: DCC  
confirmée, isolée

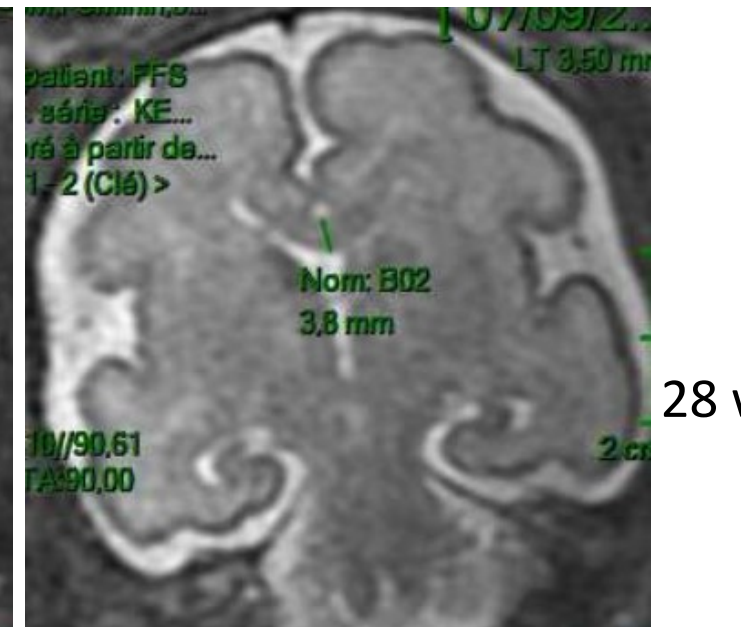
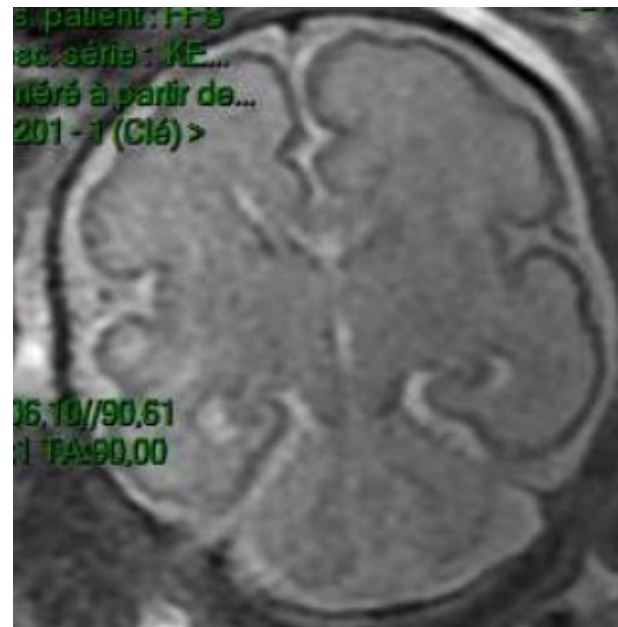
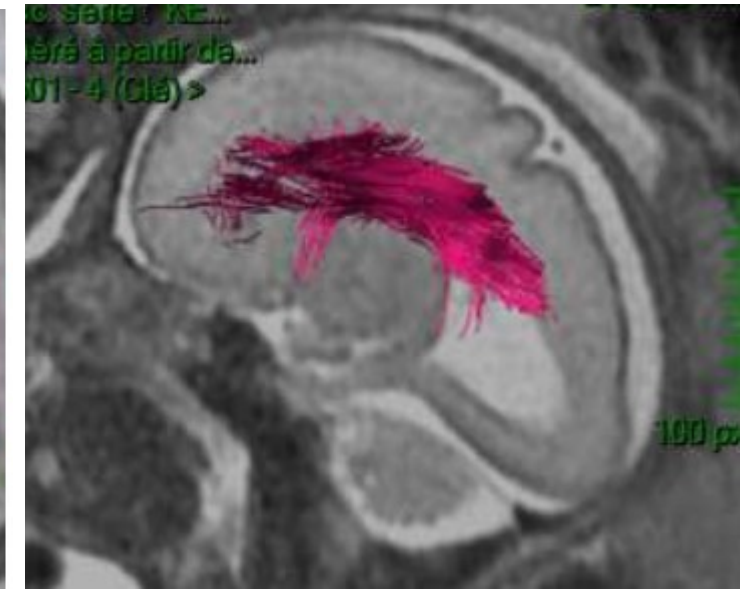
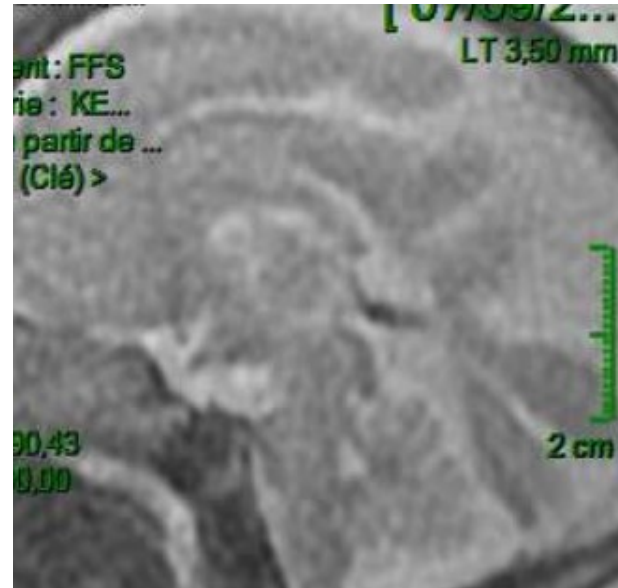
**Panel callosome**: normal

2eme grossesse: CC court pariassant  
complet , isolé

**Parents** : IRM cérébrale normale

IRM cérébrale 28SA avec tractographie

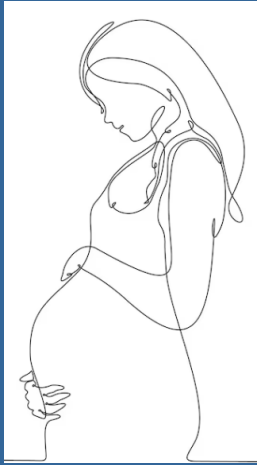
**WES 2** foetus et parents: non conclusif



28 w

**Dilemme ++, Poursuite de la grossesse**

## pWES



Amale Achaia  
Sophie Chuon  
Lynda Haddad  
Ghislaine Royer



Tania Attié-Bitach  
Lucile Boutaud  
Giulia Barcia  
Juliette Nectoux  
Véronique Pingault  
Sophie Rondeau  
Julie Steffann



MP Beaujard  
Valérie Malan  
Marie Laure Maurin  
Serge Romana  
Aurélie Coussement  
Jean-Michel Dupont



## Fetalpathology



Bettina Bessières  
Laurence Loeuillet  
Nathalie Roux  
Emmanuel Spaggiari  
Ferechté Encha-Razavi



## Fetal Medicine Necker

Yves Ville  
Philippe Roth  
Laurent Salomon  
Julien Stiernemann  
Thomas Bourgon

## Fetal Medicine Port-Royal

François Goffinet  
Vassilis Tsatsaris  
Mathilde Barrois  
Olivia Amsellem  
Emmanuelle Pannier

## Clinical Genetics

Jeanne Amiel  
Geneviève Baujat  
Valérie Cormier-Daire  
Anne Guimier  
Stanislas Lyonnet  
Pauline Marzin  
Caroline Michot

## Genetic counselor

Roxana Borghèse  
Joana Bengoa  
Marine Rajaoba  
Clémence Molac



**Genomics & Bioinformatic**  
Patrick Nistchke, Christine Bole-Feysot



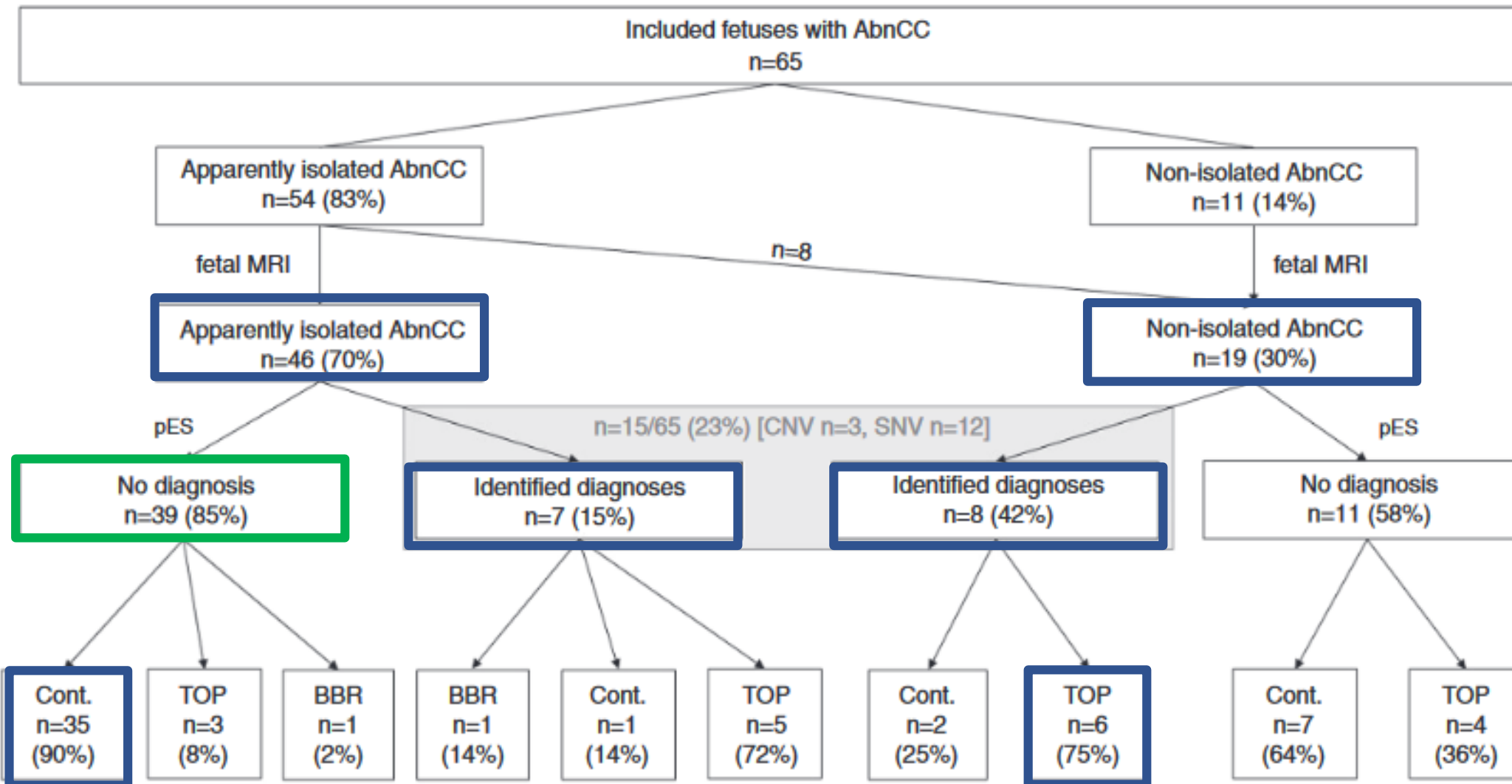
# Prenatal exome sequencing in 65 fetuses with abnormality of the corpus callosum: contribution to further diagnostic delineation

Solveig Heide MD, Myrtille Spentchian MS, CGC, [...] Delphine Héron MD

Genetics in Medicine (2020) | Cite this article

*Pitié-Sapetrière and Trousseau Hospitals, Paris*

## Flowchart

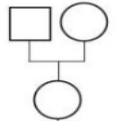


# Exome prénatal, parcours



## *Consultation pré-test*

- Souhait du couple
- Histoire familiale
- Information sur les tests, limites, possibles résultats



## *Analyse en trio*

- Minimise les VSI, interprétation et temps du rendu



## *Séquençage*

- WES ≠ WGS. Couverture: régions non séquencées
- Des maladies génétiques / épigénétiques ne sont pas diagnostiquées par séquençage



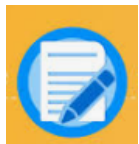
## *calling & annotation*

- Pipelines bioinformatiques progressent avec le temps



## *Interprétation*

- Défis prénataux / phénotype
- Connaissances évoluent rapidement



## *Résultat*

- VSI / données incidentes non rendues

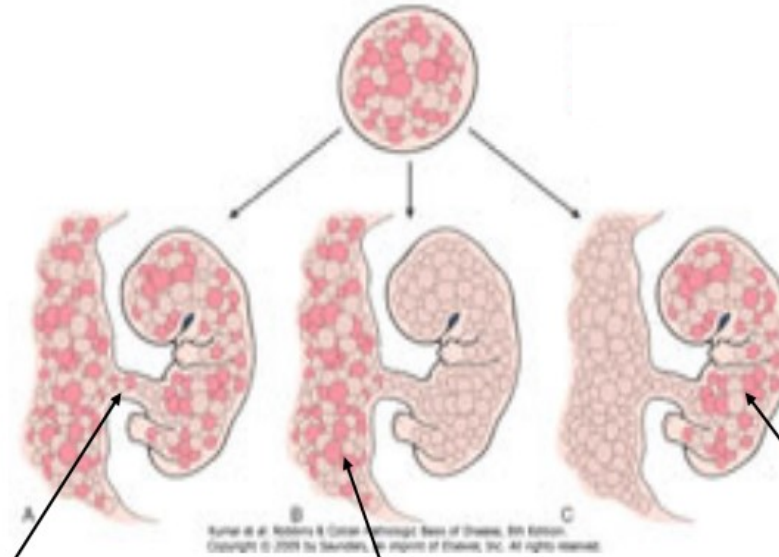
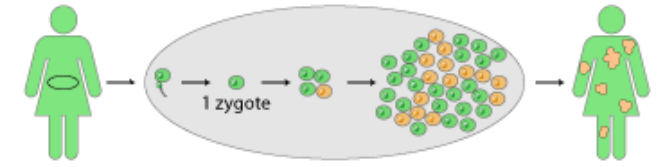
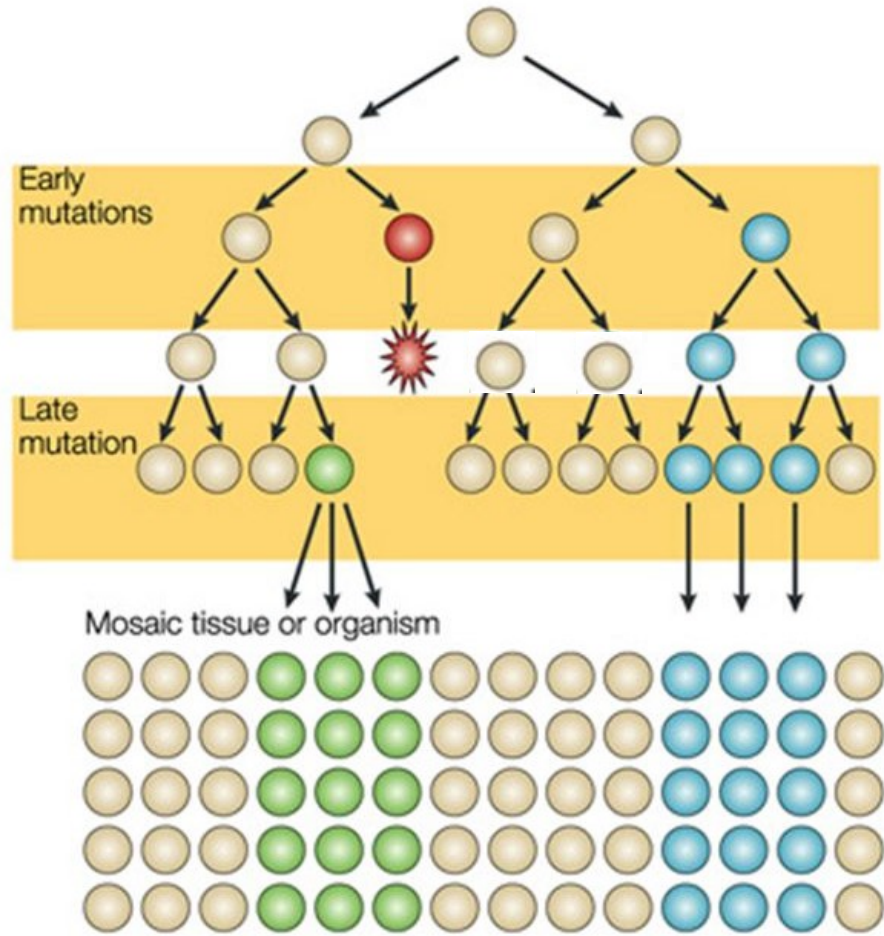


## *Consultation post-test*

- + conseil génétique
  - - « **un résultat négatif n'exclue pas une cause génétique** »
- > réanalyse des données avec plus de données cliniques, après la naissance / EFP



# Mosaïques

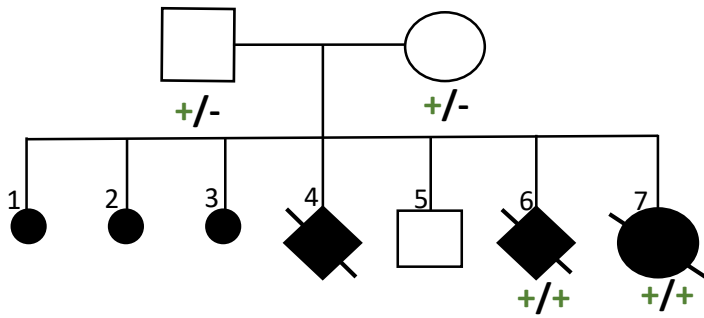


Mosaïque généralisée  
au placenta et au fœtus

Mosaïque confinée  
au placenta

Mosaïque limitée  
au fœtus

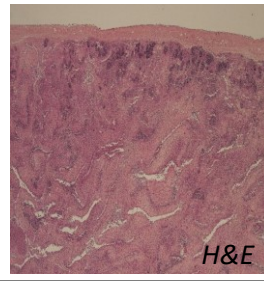
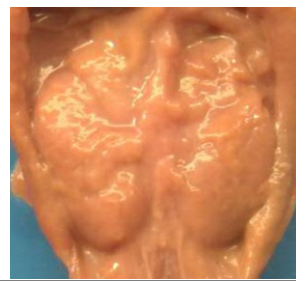
# Re-classification of VUS (twice)



6, 20NF00219, N. Roux

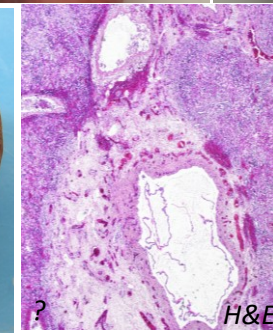


CK7

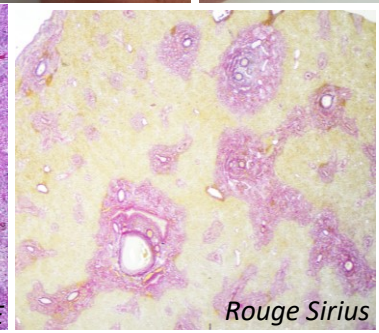


H&E

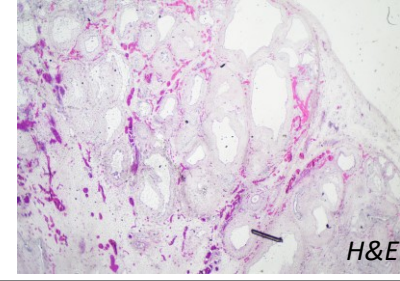
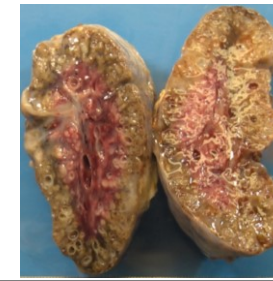
7, 22NF00117, B. Bessières



H&E



Rouge Sirius



H&E

4 FIUD, 29wg, IUGR, pre-ecallmpsia (FE not performed)  
 6 FIUD, 15wg, suspect of ciliopathy at FE  
 7 NND 31+3wg, recurrency of ciliopathy at FE

**WGS result +:** c.593T>C,  
 p.(Ile198Thr), **TMEM231** in  
 homozygosity

**Class 3: variant of  
 uncertain significance**

**Further evidence  
 is needed**

**Ri-classification after case 7 and  
 variant confirmation (Sanger)**

**Class 4: likely  
 pathogenic**

**Likely diagnosis  
 and genetic  
 counseling**

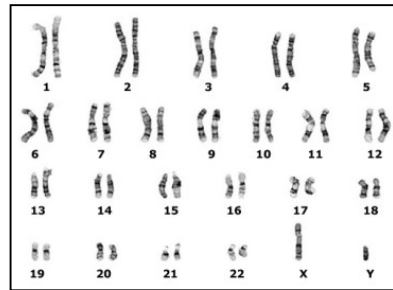


# Comparaison exome / génome

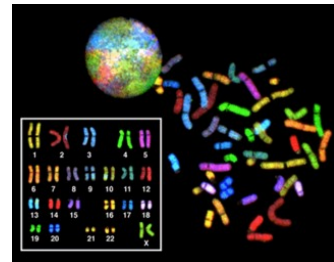
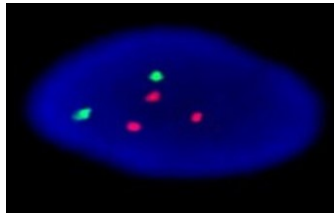
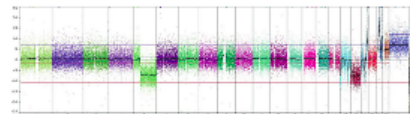
	WES	WGS
Technique	Capture : biais / allonge délais	Pas d'étape de capture
Séquençage	1% génome Régions codantes et site épissage	95% génome Régions codantes et non codantes
Couverture moyenne	100X	40X
Variations	<b>20 000 variations</b> SNVs et remaniements quantitatifs	<b>3,5 millions</b> SNVs et SV <b>y compris équilibrées</b> (translocations, inversions)
+	<b>85 % des variants pathogènes</b>	<b>Apport additionnel : 6-8%</b>
!		<b>Plus de données incidentes</b>
	<b>Laboratoires hospitaliers</b>	<b>France Médecine Génomique 2025</b> <b>SeqOIA, AURAGEN</b>

# Variations de nombre ou de structure chromosomique

- Caryotype
- Méthodes ciblées: FISH

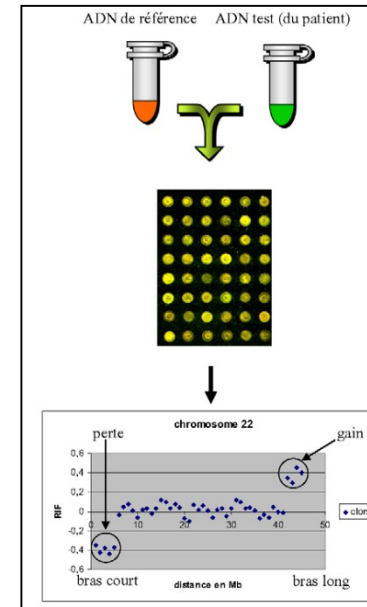


23 paires de chromosomes

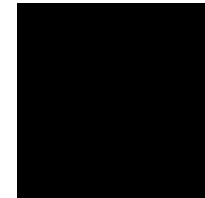


15 %

## ACPA / CGH

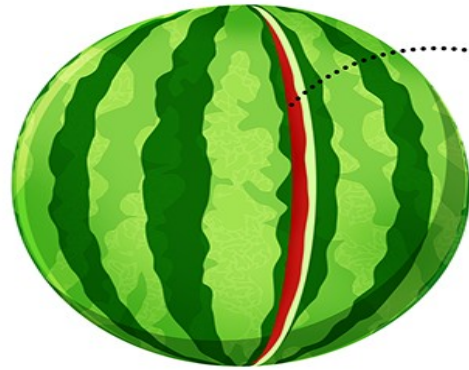


≈6%



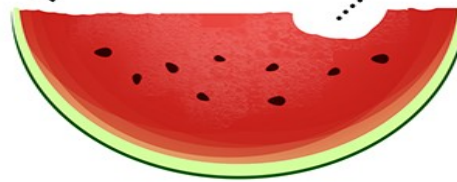
CNVs

# Le séquençage haut débit (NGS)



WHOLE GENOME

95 % des 3 Milliards de pb



EXOME

1,5 % génome  
22 000 gènes



GENE PANEL

Sélections de gènes



# Séquençage de génome le plan France Médecine génomique 2025

Liste de pré-indications (62) proposées par les filières de santé maladies rares  
Maladies Rares, cancer, maladies communes

Exemples:

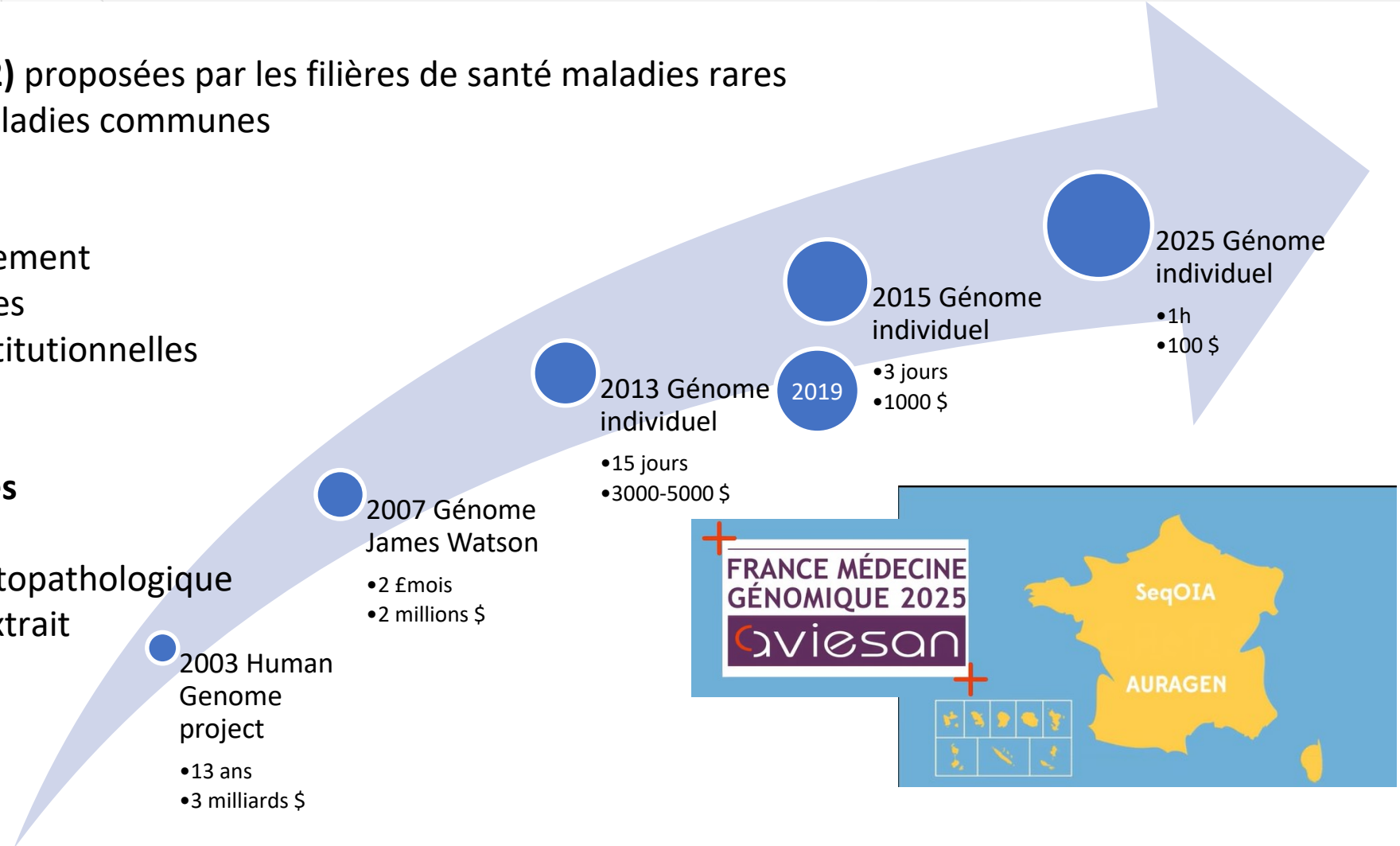
- Anomalies du développement
- Malformations cérébrales
- Maladies osseuses constitutionnelles
- ...

**Post natal – enfants adultes**

**Post mortem** : examen foetopathologique  
Envoi tissu congelé, ADN extrait

~~Grossesse en cours~~

-> séquençage d'exome



# Analyse centrée sur le phénotype

## Génotype

Variations filtrées

Variation Gène 1

Variation Gène 2

**Variation Gène 3\***

Variation Gène 4

## Phénotype

Signes foetaux

Signe 1

Signe 2

Signe 3\*

Signe 4\*\*

~~Signe 5?~~

Analyse complémentaire ?

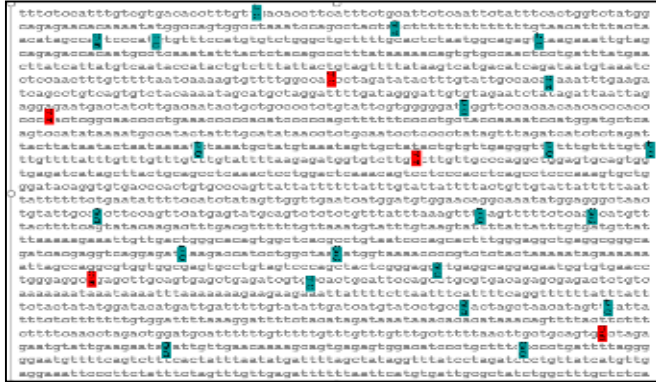
\* Pathogène

\* Imagerie suivante – phénotype dynamique

\*\* Autre analyse biologique

# Interprétation des données ...massives

≈ 1 variation toutes les 1 000 bases  
**Entre 2 individus**  
0.1 % de différences



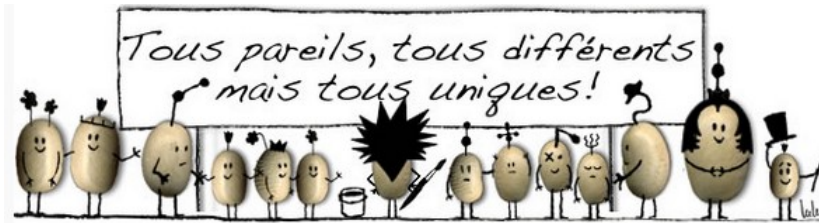
**cgcgatcagagagatcctcgcta**-----  
-----  
-----  
**gctctctataattatctcgctaatacgtgatcgtc**  
**agtcgtacgataattatctcgctacagagagat**

- Variant de tout **type** (changement d'une base, ajout, perte, duplication, inversion ...)
- de toute **taille** (d'une base à un chromosome)
- Peuvent avoir des **implications** différentes

**Au niveau du génome**

- 1 000 variants structuraux (CNV)
- 3 to 4 millions petites variations (SNV)  
300 « délétères »

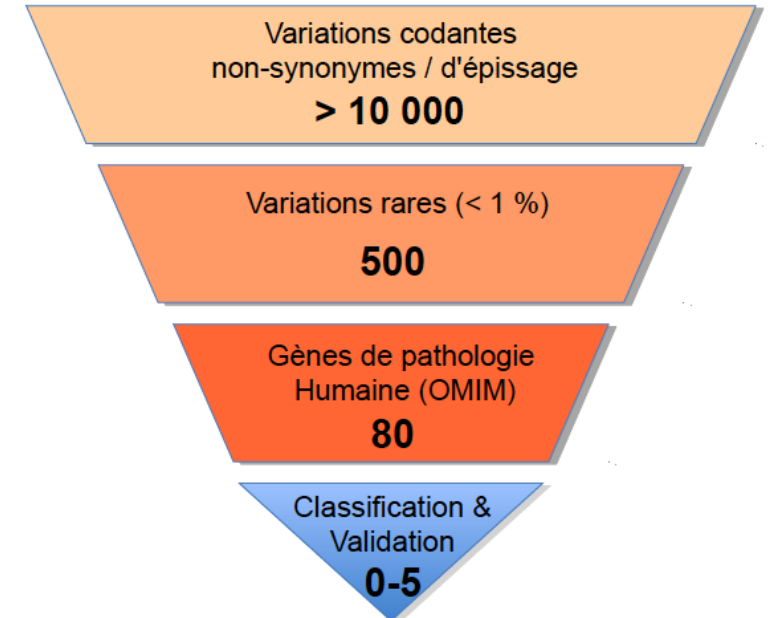
**50-80 rapportées en pathologie**



- Sans effets
- Bénéfiques
- Responsables d'une maladie
- Facteurs de susceptibilité



## Priorisation des variations



- Variant de tout **type** (changement d'une base, ajout, perte, duplication, inversion ...)
- de toute **taille** (d'une base à un chromosome)
- Peuvent avoir des **implications** différentes



# Exome urgent : Protocole signe d'appel échographique



1 semaine

10 jours-3 semaines

Echographie  
par référent.e  
SAE

Concertation  
pluridisciplinaire  
CPDPN

ACPA

Consultation  
génétique  
pré-test

Exome  
trio

+/-IRM  
+/-Scanner  
+/-Echo

Consultation  
génétique  
post test

Suivi  
Naissance  
IMG

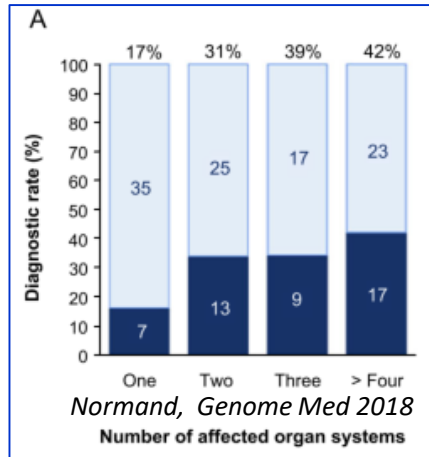
Examen  
foetopathologique  
IRM post-mortem

Ré-analyse  
WGS

Examen couple  
Information  
VSI et données incidentes

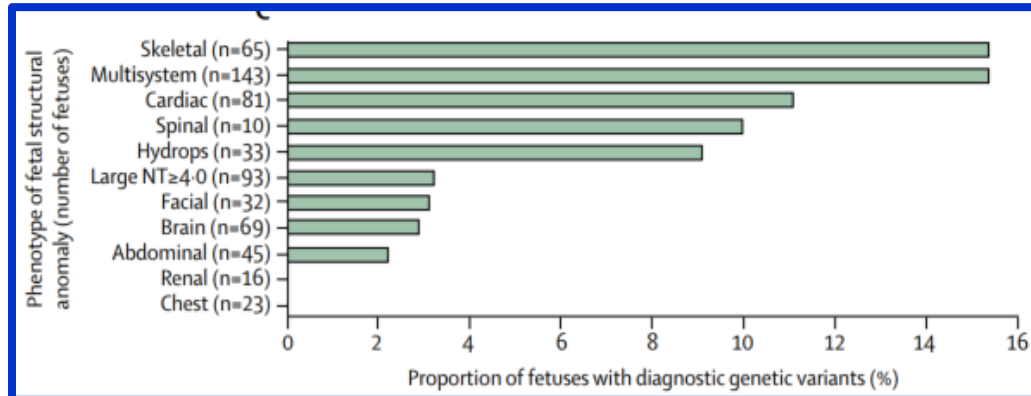
ACPA : Analyse chromosomique sur puce à ADN  
VSI : Variant de signification incertaine

# Séquençage d'exome prénatal: rendement diagnostique



**Multisystémique (15-19%)**  
**Squelettiques**  
**Épanchements / Hydrops**  
**Système nerveux central**

**Variable selon étude:**  
Nuques (3-12%)  
Reins (0-16%)  
Cœur (5-11%)



	Number of fetuses*	Diagnostic genetic variants (% trios)
<b>6% 1 organe</b>		
<b>19% multisystémique</b>		
Heart	77 (49)	4 (5%)
Nuchal	51 (32)	6 (12%)
Central nervous system	49 (29)	11 (22%)
Skeletal	34 (12)	8 (24%)
Intrauterine growth restriction	29 (5)	3 (10%)
Renal	25 (13)	4 (16%)
Lymphatic or effusion	21 (5)	5 (24%)
Other isolated anomalies‡	15 (15)	0

Lord, Lancet 2019; 393: 747-57

Petrovski, Lancet 2019; 393: 758-67

variable en fonction des SAE, et de leur nombre

# Séquençage d'exome prénatal: rendement diagnostique

Category	No.	Added diagnostic yield	Reference
Multisystem, selection not defined	698	31%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
	694	33%	Pauta 2022 <sup>20</sup>
Selected for likely monogenic etiology	140	40%	Pauta 2021 <sup>21</sup>
	1293	42%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Any abnormality (ies), no selection	2771	15%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated skeletal	424	53%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Neuromuscular/Fetal akinesia deformation sequence (FADS)	33	37%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated hydrops/edema	137	22%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated cardiac abnormalities	773	11%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated increased NT (at presentation and throughout pregnancy)	290	2%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Increased NT plus other anomaly at presentation or later	91	26%	Mellis 2022b <sup>22</sup>
Isolated CNS (single and complex)	417	17%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated congenital anomalies of kidneys and urinary tract (CAKUT)	278	9%	Mellis 2022 <sup>3</sup>
Isolated echogenic kidneys	11	72%	Deng 2022 <sup>23</sup>
Isolated agenesis of the corpus callosum	45	29%	Lei 2022 <sup>24</sup> ; Baptiste 2022 <sup>25</sup>

Received: 6 December 2021 | Revised: 8 February 2022 | Accepted: 10 February 2022  
DOI: 10.1002/pd.6115

ORIGINAL ARTICLE

PRENATAL DIAGNOSIS WILEY

## Diagnostic yield of exome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies: A systematic review and meta-analysis

Rhiannon Mellis<sup>1,2</sup> | Kathryn Oprych<sup>3</sup> | Elizabeth Scotchman<sup>1</sup> | Melissa Hill<sup>1,2</sup> | Lyn S Chitty<sup>1,2</sup>

Journal of Clinical Medicine

MDPI

Review

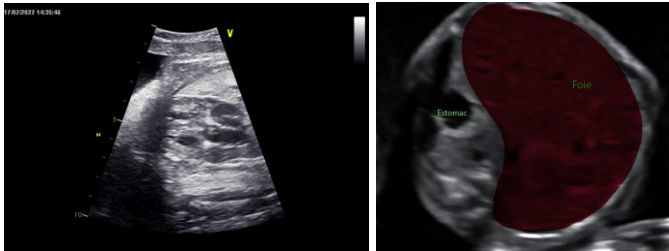
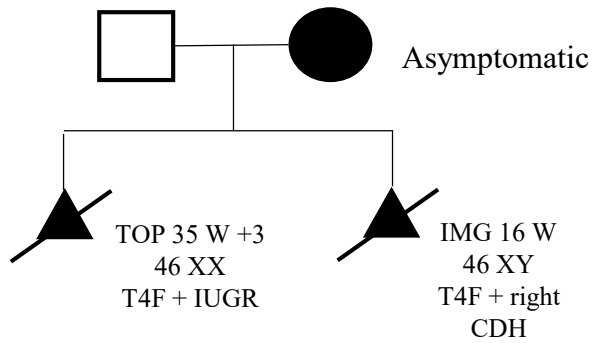
## Prenatal Exome Sequencing in Recurrent Fetal Structural Anomalies: Systematic Review and Meta-Analysis

Montse Pauta<sup>1</sup>, Raigam Jafet Martinez-Portilla<sup>1,2</sup> and Antoni Borrell<sup>1,3,4,\*</sup>

<sup>1</sup> BCNatal, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), 08036 Barcelona, Catalonia, Spain; mpauta@clinic.cat (M.P.); raifet@hotmail.com (R.J.M.-P.)  
<sup>2</sup> Clinical Research Division, Evidence-Based Medicine Department, National Institute of Perinatology, Mexico City 01120, Mexico  
<sup>3</sup> BCNatal, Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Clínic de Barcelona, 08028 Barcelona, Catalonia, Spain  
<sup>4</sup> Medical School, University of Barcelona, 08036 Barcelona, Catalonia, Spain  
 \* Correspondence: ABORRELL@clinic.cat; Tel.: +34-93-227-9946; Fax: +34-93-227-5605

*HIC2*

Frameshift variation



VUS

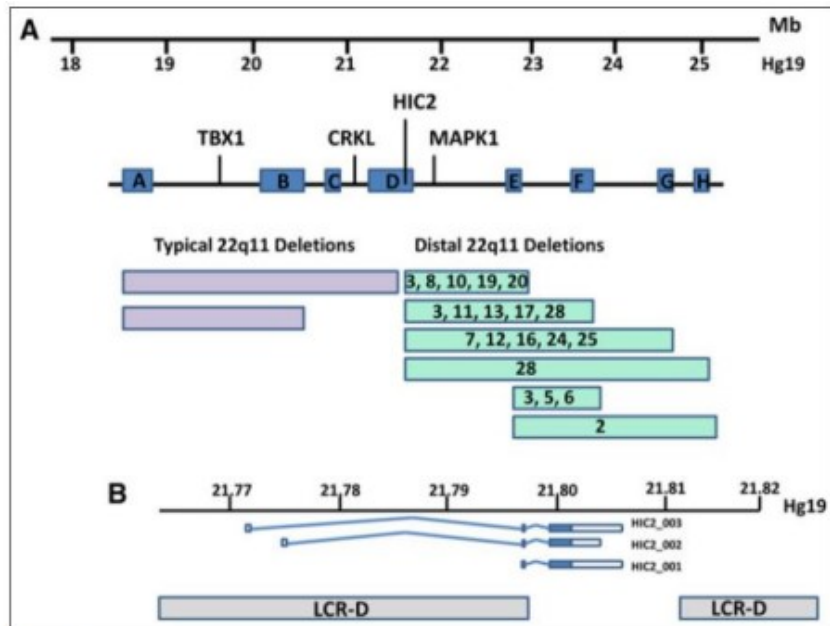
# HIC2 strong congenital gene for conotruncal CHD

## HIC2 is a novel dosage-dependent regulator of cardiac development located within the distal 22q11 deletion syndrome region

Iain M Dykes<sup>1</sup>, Kelly Lammerts van Bueren<sup>1</sup>, Rebekah J Ashmore<sup>1</sup>, Thomas Floss<sup>1</sup>, Wolfgang Wurst<sup>1</sup>, Dorota Szumska<sup>1</sup>, Shoumo Bhattacharya<sup>1</sup>, Peter J Scambler<sup>2</sup>

Affiliations + expand

PMID: 24748541 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.303300



**Figure 1.** HIC2 is a candidate gene for distal 22q11 deletion syndrome. **A.** The location of typical (violet boxes) and distal (turquoise boxes) 22q11 deletions are indicated. Blue boxes indicate the position of the 8 low-copy repeats (LCRs) labeled A to H. Numbers are references for representative examples of each deletion provided in the Online Data Supplement. **B.** HIC2 is located in a small island of nonrepetitive DNA within LCR-D.

HIC2 is located in an island of nonrepetitive DNA at the distal end of LCR-D (Figure 1B) and is lost in the majority of D-22q11DS deletions, as well as in a minority of typical deletions (between 4% and 15% of cases)

## RESEARCH ARTICLE

AMERICAN JOURNAL OF  
medical genetics PART A

## Phenotypic Variability of Distal 22q11.2 Copy Number Abnormalities

Tiong Yang Tan,<sup>1,2,3,4\*</sup> Amanda Collins,<sup>5</sup> Paul A. James,<sup>1,2</sup> George McGillivray,<sup>1,2</sup> Zornitza Stark,<sup>1,2</sup> Christopher T. Gordon,<sup>2</sup> Richard J. Leventer,<sup>2,3,4</sup> Kate Pope,<sup>2</sup> Robin Forbes,<sup>1,2</sup> John A. Crolla,<sup>6</sup> Devika Ganesamoorthy,<sup>1,2</sup> Trent Burgess,<sup>1,2</sup> Damien L. Bruno,<sup>1,2</sup> Howard R. Slater,<sup>1,2,3</sup> Peter G. Farlie,<sup>2,3</sup> and David J. Amor<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Genetic Health Services Victoria, Melbourne, Australia

<sup>2</sup>Murdoch Children's Research Institute, Melbourne, Australia

<sup>3</sup>Department of Paediatrics, University of Melbourne, Melbourne, Australia

<sup>4</sup>Royal Children's Hospital, Melbourne, Australia

<sup>5</sup>Wessex Clinical Genetics Service Princess Anne Hospital, Southampton, UK

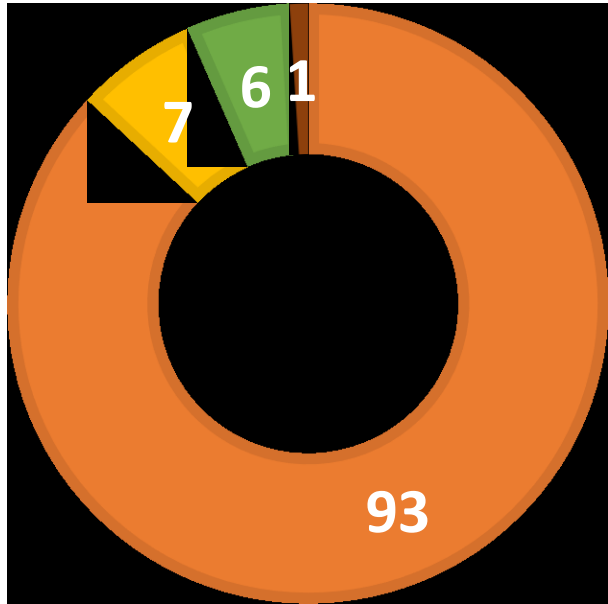
<sup>6</sup>Wessex Regional Genetics Laboratory, Salisbury District Hospital, Salisbury, UK

Received 21 April 2010; Accepted 17 March 2011

## DISCUSSION

Our report adds several important observations to the distal chromosome 22q11.2 genomic imbalance literature. It expands the associated phenotypic spectrum to include diaphragmatic hernia, Mullerian fusion anomalies in distal chromosome 22q11.2 microdeletions; and frontal polymicrogyria and callosal agenesis in distal chromosome 22q11.2 microduplications. Furthermore, our report strengthens the relationship between Goldenhar syndrome and the distal 22q11.2 locus. Our data confirm that cardiac dextrorotation and tetralogy of Fallot are part of the distal 22q11.2 cardiac phenotype. Additionally, Patient 3 and his mother have the smallest microdeletion reported to date.

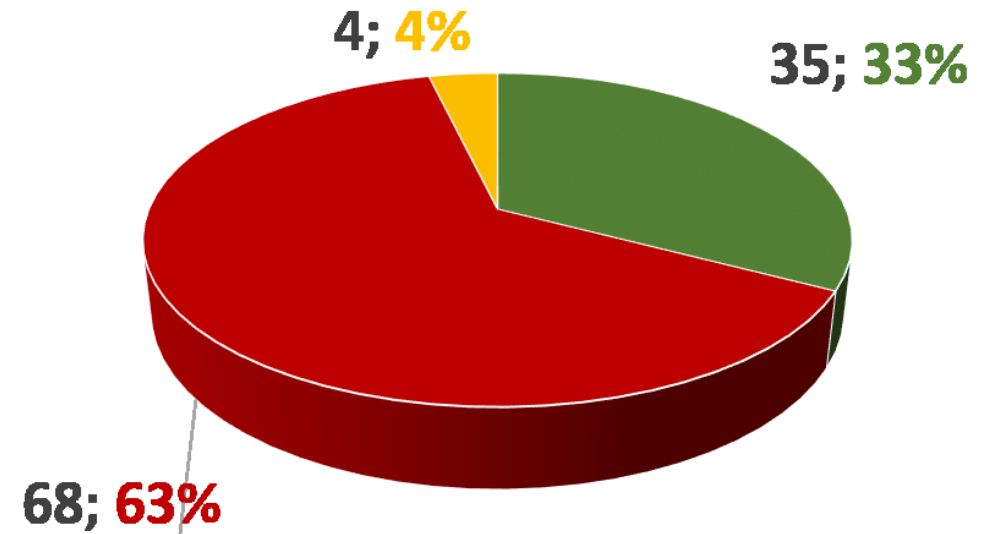
11 familial recurrences of the same phenotype  
2 twin pregnancies  
56 males and 51 females



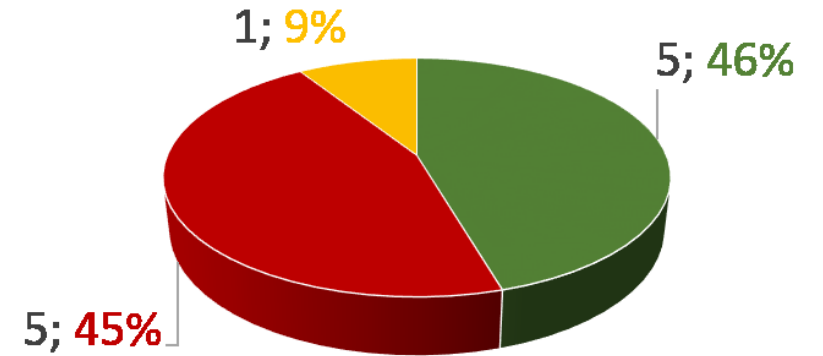
Typology of presentation

- Termination of pregnancy (TOP)
- In-utero fetal death (IUFD)
- Neonatal death (NND)
- Late miscarriage

Total cases (107)

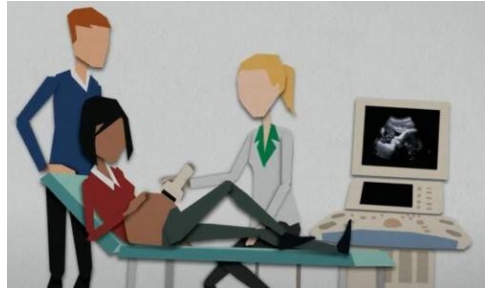


Intrafamilial recurrence (11)





# Anomalies fœtales (Signes d'appel échographiques)



- Mineure
- Majeure

3% des grossesses

Impact  
Pronostic



CPDPN

Prise en charge



Cause ?

- **Type**
- **Nombre**
- **Sévérité**
- **Troubles du neurodéveloppement ?**

Rassurer

Traitement

Prise en charge  
néonatale

Interruption de  
grossesse

Soutien

# Investigations foetales

~3% des grossesses – anomalie echographique  
~ 25% des décès périnataux lié a une malformation majeure

**Cause annexielle**  
Placentale/ amniotique / cordon

**Infections**  
(CMV, Parvovirus B19,  
Toxoplasmosis, ...)

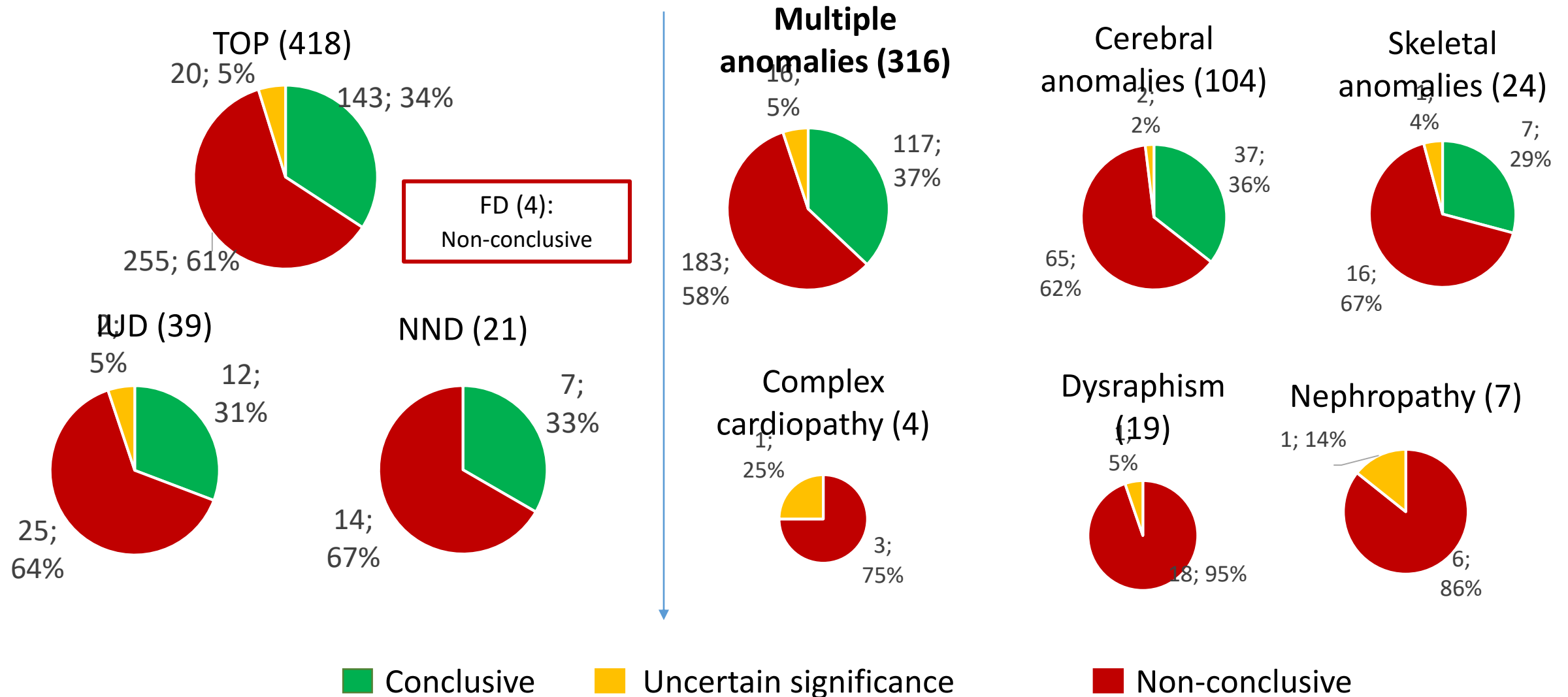


**Facteurs environnementaux**  
Maternal diseases, drugs, toxics

**Genetique**

# Results – Diagnostic yield

Presenting an **association of structural anomalies** as GS preindication significantly increased the chance of receiving a diagnosis by GS (OR: 1.58, 95% CI: 1.05-2.39;  $p$  value <0.00001)

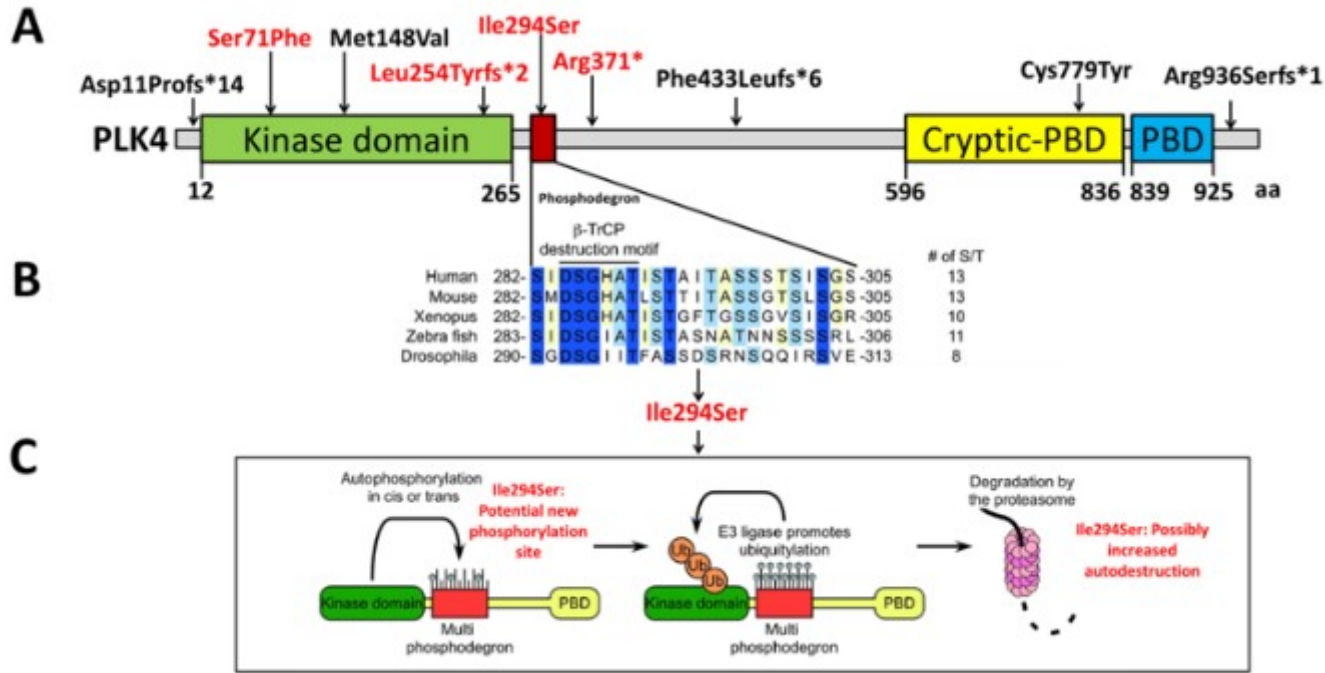


## Elucidation of the phenotypic spectrum and genetic landscape in primary and secondary microcephaly

Paranchai Boonsawat<sup>1</sup>, Pascal Joset<sup>1</sup>, Katharina Steindl<sup>1</sup>, Beatrice Oneda<sup>1</sup>, Laura Gogoll<sup>1</sup>, Silvia Azzarello-Burri<sup>1</sup>, Frenny Sheth<sup>2</sup>, Chaitanya Datar<sup>3</sup>, Ishwar C Verma<sup>4</sup>, Ratna Dua Puri<sup>4</sup>, Marcella Zollino<sup>5</sup>, Ruxandra Bachmann-Gagescu<sup>1</sup>, Dunja Niedrist<sup>1</sup>, Michael Papik<sup>1</sup>, Joana Figueiro-Silva<sup>1</sup>, Rahim Masood<sup>1</sup>, Markus Zweier<sup>1</sup>, Dennis Kraemer<sup>1</sup>, Sharyn Lincoln<sup>6</sup>, Lance Rodan<sup>6,7</sup>, Undiagnosed Diseases Network (UDN); Sandrine Passemard<sup>8,9</sup>, Séverine Drunat<sup>9</sup>, Alain Verloes<sup>9</sup>, Anselm H C Horn<sup>10</sup>, Heinrich Sticht<sup>10</sup>, Robert Steinfeld<sup>11</sup>, Barbara Plecko<sup>11,12</sup>, Beatrice Latal<sup>13</sup>, Oskar Jenni<sup>13</sup>, Reza Asadollahi<sup>1</sup>, Anita Rauch<sup>14,15,16</sup>

Affiliations + expand

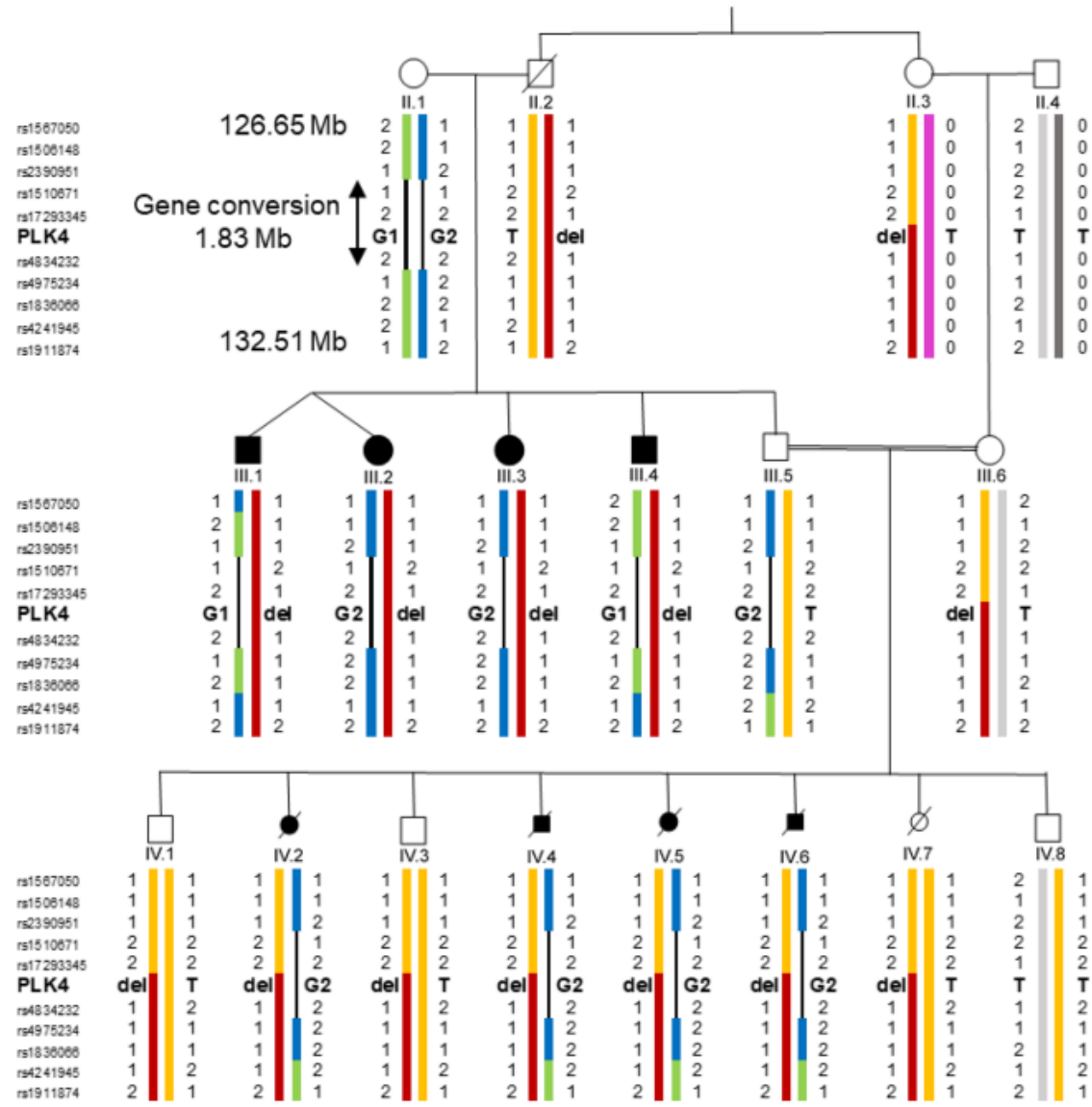
PMID: 30842647 PMID: PMC6752480 DOI: 10.1038/s41436-019-0464-7



Located in the phosphodegron element of PLK4 and **predicted to create an additional phosphorylation site** likely leading to a reduced protein level via accelerated autodestruction

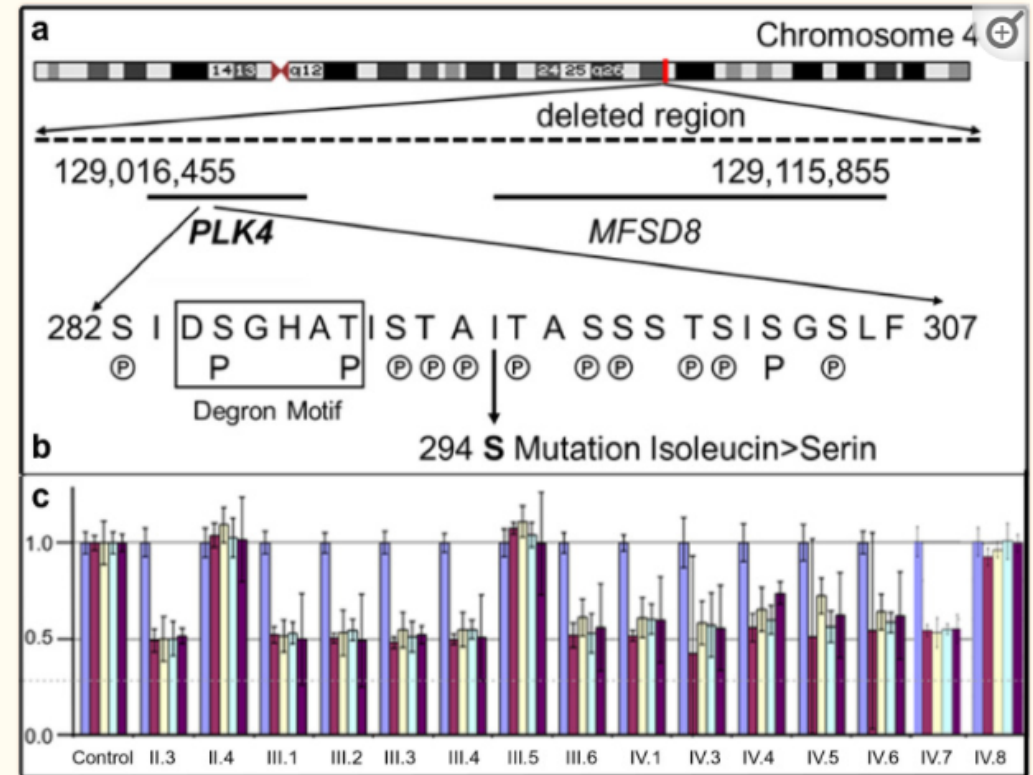
**Table 2** Summary of main clinical features and genetic findings in patients with P/LP or high-level candidate variants

Patients with P/LP findings in established disease genes								
No.	Patient ID	Age <sup>a</sup>	Microcephaly subgroup	Main clinical feature	Cerebral MRI finding	Genetic finding	Disorder	Function/pathway
3	74812	Aborted at 23 GW	PM	Autopsy: 2-lobed right lung and accessory spleen	Autopsy: Absence of corpus callosum	PLK4: c.[1111C>T]; [881T>G], p.[(Arg371*)]; [(Ile294Ser), AR (CH)]	PLK4-related disorder (MIM: 616171)	Centriole duplication
4	77804	0.8	PM	Moderate global DD, movement disorder	Simplified cortical gyri and dysgenesis of corpus callosum, larger cerebellum and brain stem relative to the supratentorial region	PLK4: c.[212C>T]; [760_761insAC], p.[(Ser71Phe)]; [(Leu254Tyrfs*2)], AR (CH)	PLK4-related disorder (MIM: 616171)	Centriole duplication



**Fig. 3** Reconstruction of haplotypes based on manual analysis of SNPs and microsatellites (Suppl. Figure 1) flanking the *PLK4* gene and the region of gene conversion. The color changes point to the sites of crossovers. green—grandmother (II.1) haplotype G1 with the mutated *PLK4* allele c.811G, blue—grandmother haplotype G2 with

the mutated *PLK4* allele, red—grandfather (II.2) haplotype with the deletion, yellow—grandfather haplotype with the wild-type *PLK4* allele c.881 T, purple—grandmother (II.3) haplotype with the wild-type *PLK4* allele, light and dark gray—grandfather (II.4) haplotypes with the wild-type *PLK4* alleles



**Fig. 2**

**a** Deleted region of chromosome 4 identified by array-CGH. **b** Novel missense variant (c.811 T > G) in *PLK4* near the Degron motif resulting in the replacement of isoleucine by serine (p.294Ile > Ser). The known (P) and putative autophosphorylation sites Ⓟ, which regulate the degradation of the protein, are indicated (after [www.phosphosite.org](http://www.phosphosite.org)). Note, that the mutation creates a potential new autophosphorylation site. **c** qPCR analysis of exons 4, 5.1, 5.2 and 6 of *PLK4* (brown–purple) and as a control exon 2 of the *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (*CFTR*) gene (blue)

Grand-mère saine homozygote pour la variation c.811T>G



# Analyse du fuseau mitotique et du centrosome

European Journal of Human Genetics (2017) 25, 1118–1125  
 © 2017 European Society of Human Genetics All rights reserved 1018-4813/17  
 www.nature.com/vejhg

## ARTICLE

### Analysis of centrosome and DNA damage response in *PLK4* associated Seckel syndrome

Tuba Dinçer<sup>1</sup>, Gülden Yorgancıoğlu-Budak<sup>2</sup>, Akgün Ölmez<sup>3</sup>, İdris Er<sup>2</sup>, Yavuz Dodurga<sup>4</sup>, Özmert MA Özdemir<sup>5</sup>, Bayram Toraman<sup>1</sup>, Adem Yıldırım<sup>2</sup>, Nuran Sabir<sup>6</sup>, Nurten A Akarsu<sup>7</sup>, C Nur Semerci<sup>8</sup> and Ersan Kalay<sup>\*,1</sup>

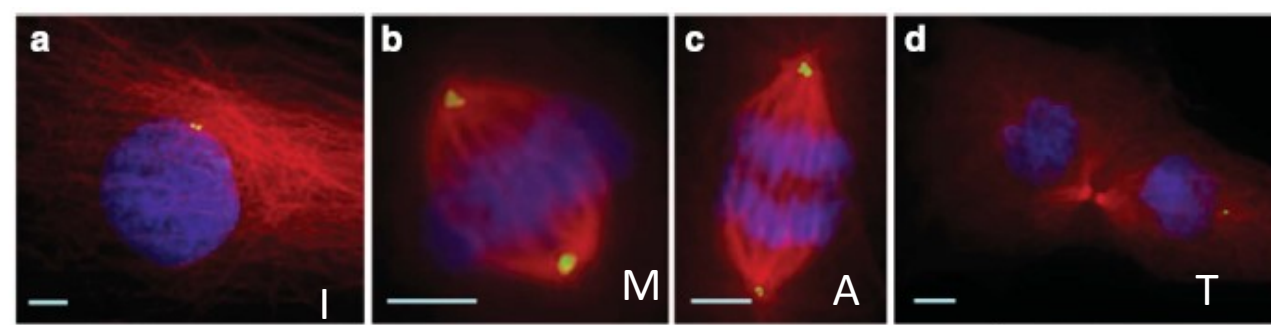
Microcephalic primordial dwarfism (MPD) is a group of autosomal recessive inherited single-gene disorders with intrauterine and postnatal global growth failure. Seckel syndrome is the most common form of the MPD. Ten genes are known with Seckel syndrome. Using genome-wide SNP genotyping and homozygosity mapping we mapped a Seckel syndrome gene to chromosomal region 4q28.1-q28.3 in a Turkish family. Direct sequencing of *PLK4* (polo-like kinase 4) revealed a homozygous splicing acceptor site transition (c.31-3 A>G) that results in a premature translation termination (p.[=Asp11Profs\*14]) causing deletion of all known functional domains of the protein. *PLK4* is a master regulator of centriole biogenesis and its deficiency has recently been associated with Seckel syndrome. However, the role of *PLK4* in genomic stability and the DNA damage response is unclear. Evaluation of the *PLK4*-Seckel fibroblasts obtained from patient revealed the expected impaired centriole biogenesis, disrupted mitotic morphology, G<sub>2</sub>/M delay, and extended cell doubling time. Analysis of the *PLK4*-Seckel cells indicated that *PLK4* is also essential for genomic stability and DNA damage response. These findings provide mechanistic insight into the pathogenesis of the severe growth failure associated with *PLK4*-deficiency.

*European Journal of Human Genetics* (2017) 25, 1118–1125; doi:10.1038/vejhg.2017.120; published online 23 August 2017

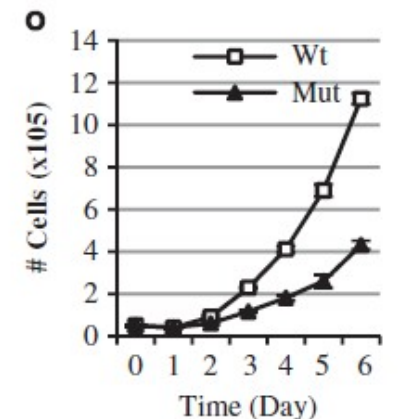
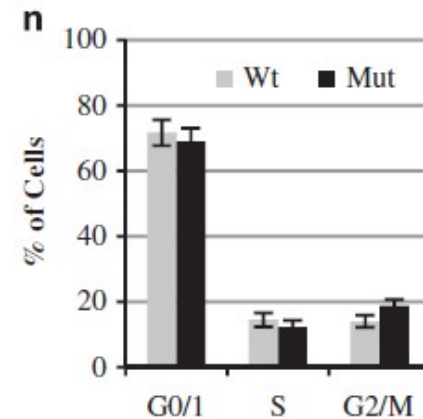
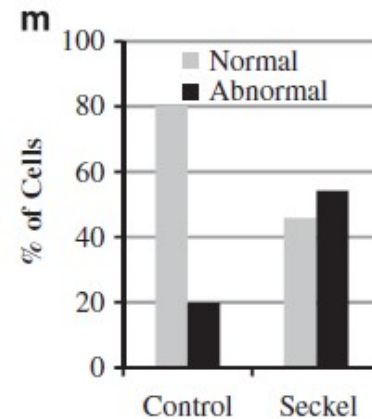
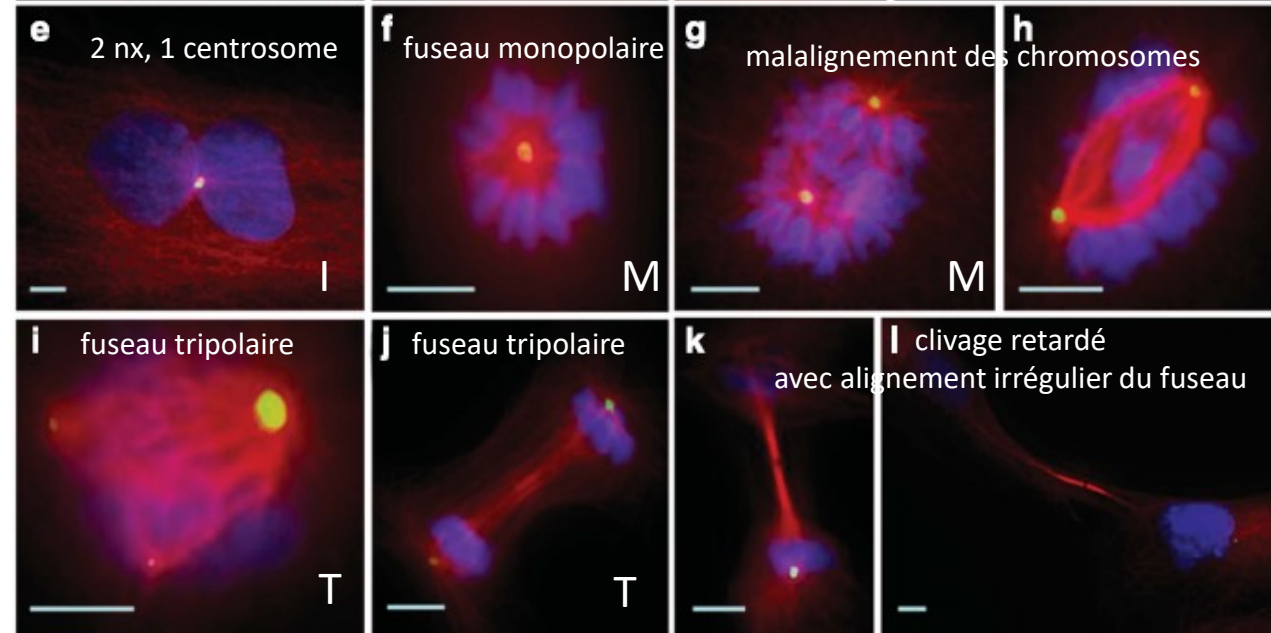
Pas d'anomalie du fuseau chez le fœtus  
(Serge Romana)

Pas d'anomalie du centrosome chez le fœtus  
(Sophie Thomas, Imagine)

C



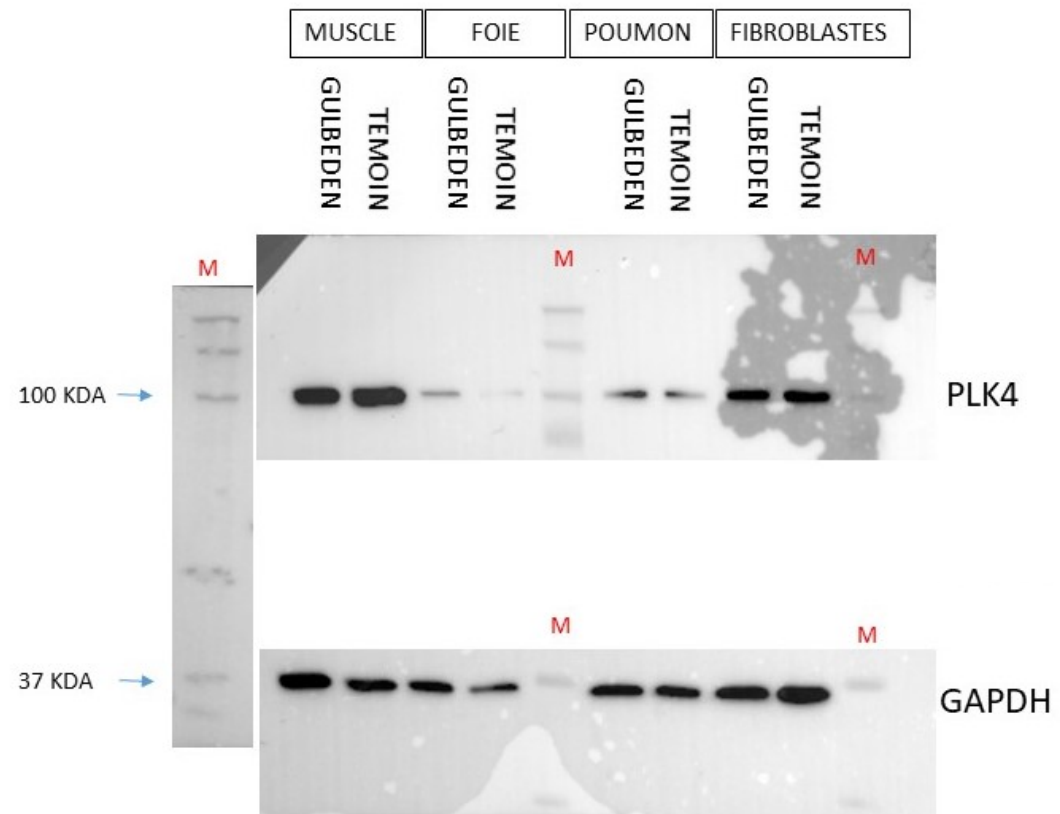
P





Western Blott  
4 tissus

Pas de diminution de l'expression protéique  
(Zahra Assouline, Ghilaine Royer, Lucile Boutaud)

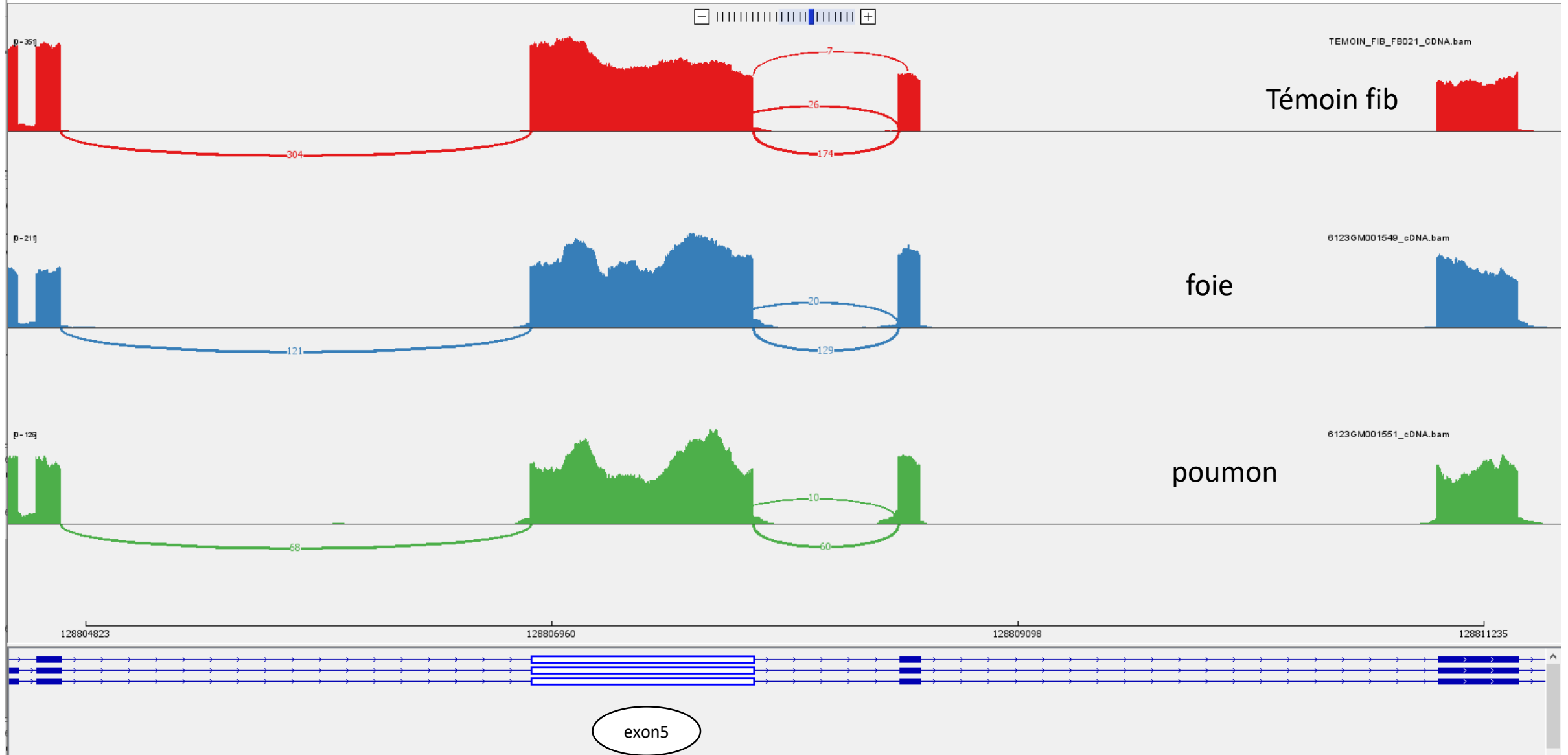


**1<sup>er</sup> gel :** membrane coupée pour 2 hybridations différentes  
En haut : Hybridation PLK4 (nouvelle dilution d'AcS)  
En bas : Hybridation GAPDH

# RNA-seq

## PLK4-exon5

Pas d'effet sur l'épissage



## Couple apparenté

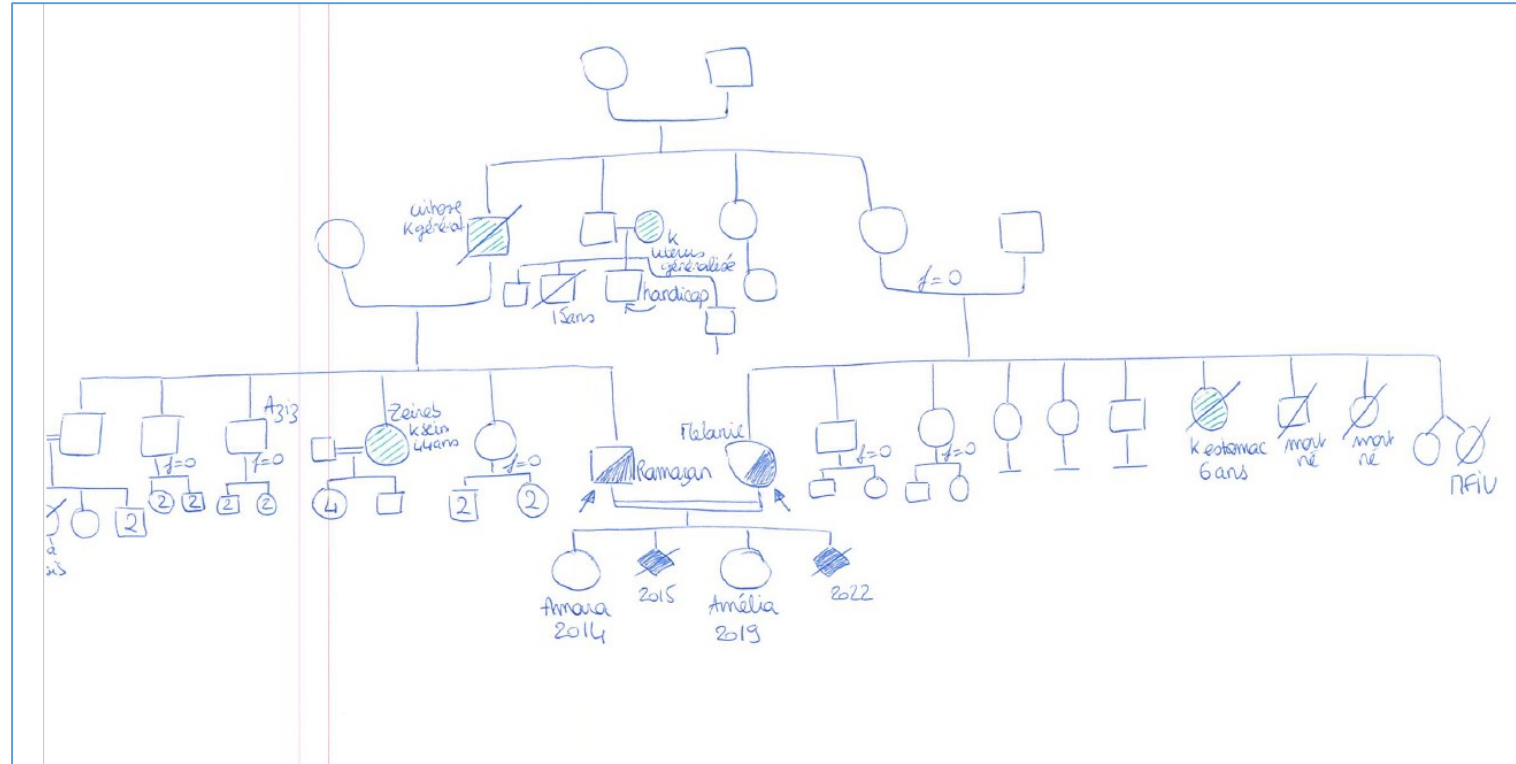
Mère 33 ans, G4P2:

- 2 filles bien portantes
- 2015, IMG 30SA pour microcéphalie
- 2018, IMG 30SA pour microcéphalie

## Pas d'antécédent personnels notables

### Antécédents familiaux :

- trois cousins germains de chacun des membres du couple par un oncle présentent une déficience intellectuelle et une relative petite taille associée à une épilepsie. L'un de ces trois garçons serait décédé au décours d'une crise convulsive.
- une cousine germaine par une tante présentant une déficience intellectuelle légère et une déficience intellectuelle chez un cousin germain du côté de son père.

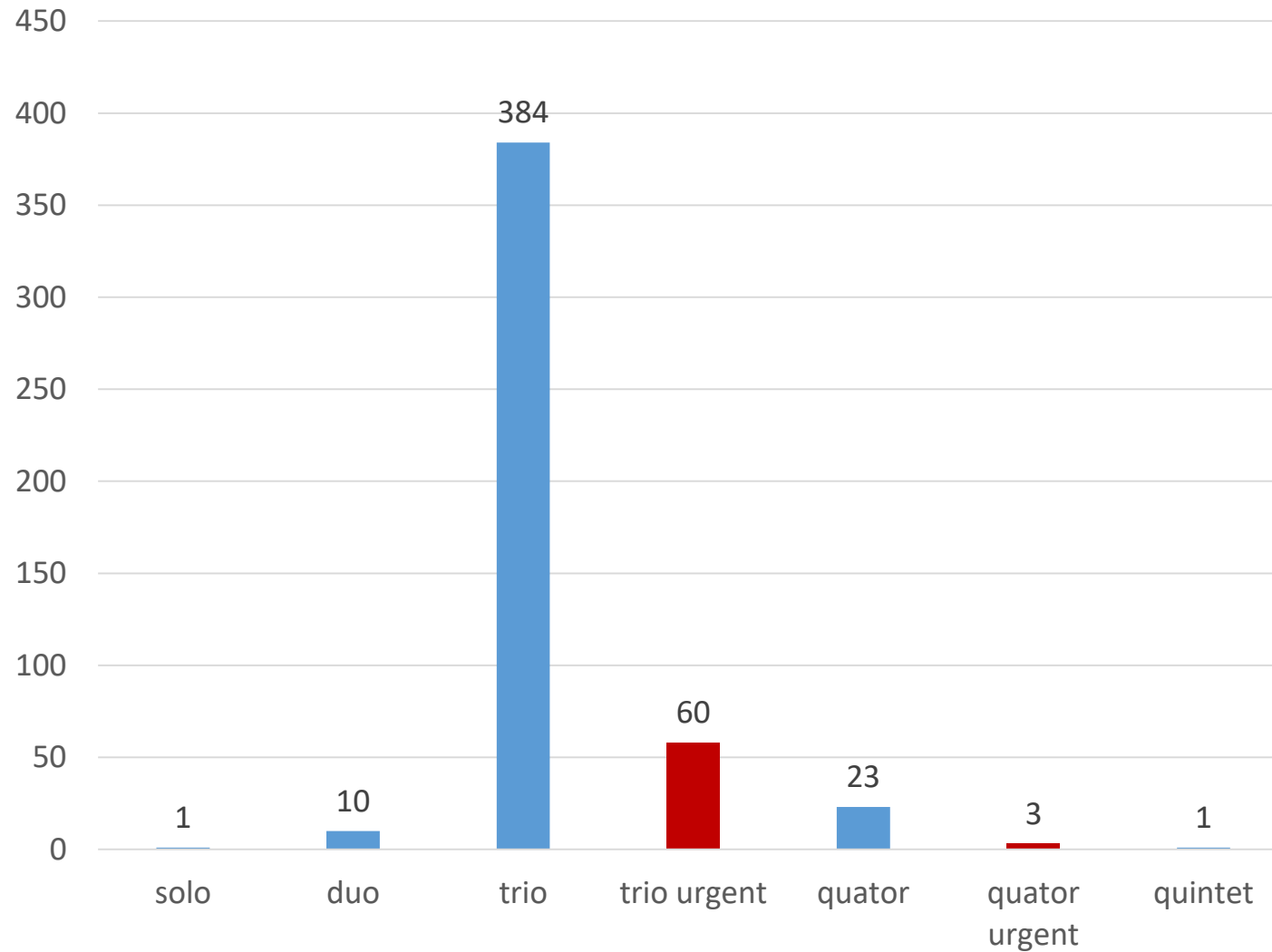


# Explorations génétiques des fœtus

## 2 situations distinctes

	Après examen foetopathologique	En cours de grossesse
Contrainte temps	couple jeune, grossesse suivante rapide	++++ • VSI • Analyses complémentaires • Ségrégation
Enjeu	Diagnostic  Conseil génétique Prise en charge de la grossesse suivante	<b>Décision concernant la grossesse</b> <b>Thérapie ?</b> Conseil génétique Prise en charge de la grossesse suivante
Phénotype	Très précis Macroscopie, Radiographie, Histologie	<b>Indirect, incomplet</b> ➤ Imagerie ➤ Biologie
Explorations	Séquençage de génome	Séquençage ciblé Séquençage de panel Séquençage d'exome

# SG après examen foetopathologique contexte « urgent » - Avril 2023



10j-3sem

# Incertitudes du SEp

## Prescription

incertitudes sur le bénéfice clinique mesuré en rendement diagnostique dans une indication donnée

.... plutôt en impact ?

## Interprétation

liées à une des corrélations génotype-phénotype, connaissance incomplète des phénotypes en prénatal , phénotype partiel

-> variants de signification incertaine (VSI)

## Clinique et pronostique

en raison de la variabilité d'expression...voir défaut de pénétrance

## Technologique

- faux-positifs ou de faux-négatifs,
- certaines altérations du génome sont inaccessibles

-> Résultat non conclusif n'exclue pas une cause génétique

À l'anxiété du couple résultant de l'incertitude générée par la découverte de SAE, il ne saurait être question d'ajouter de nouvelles sources d'anxiété liée à ces incertitudes



# Analyses pangénomiques prénatales pistes de réflexions

- Prescriptions de séquençage d'exome croissantes ...mais
- Accès inégal
- Indications non homogènes
- Avis / recommandations concernant le rendu des VSI
- Avis / recommandations concernant les données incidentes: lesquels, quand ?
- Conseil génétique pré et post-test – professionnels formés
- Réanalyse ultérieure avec plus de données phénotypiques ++
- Importance du suivi
- Séquençage d'exome vs de génome ?