ANASARQUE FŒTALE & MALADIES HÉRÉDITAIRES DU MÉTABOLISME : PROPOSITION D'UNE NOUVELLE PRISE EN CHARGE DIAGNOSTIQUE

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

Dr Bénédicte SUDRIÉ-ARNAUD

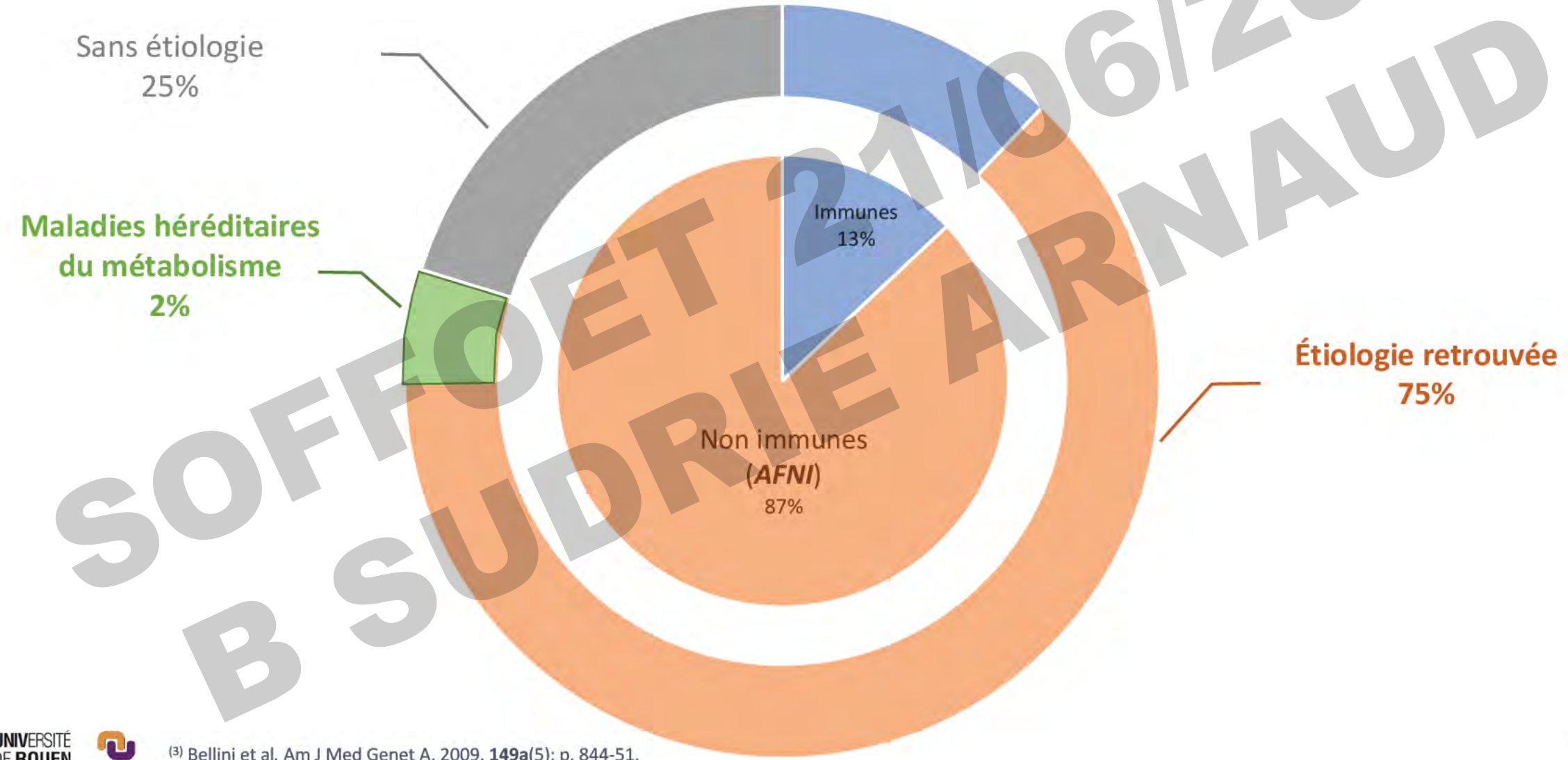
Le 21 juin 2019

Laboratoire de Biochimie Métabolique, CHU de ROUEN

SOFTOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

INTRODUCTION

LES ANASARQUES FŒTALES (3)



SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

(3) Bellini et al. Am J Med Genet A, 2009. **149a**(5): p. 844-51.

DIAGNOSTIC DES AFNI

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

1 2 3 4

Découverte échographique

Centre pluridisciplinaire de **D**iagnostique **P**ré **N**atal

- Échographie de contrôle
- Bilan infectieux (*Toxoplasmose, parvovirus B19, CMV*)
- Caryotype

4 techniques
9 pathologies testées

olique de base [8] → Si négatif → bilan biochimique complémentaire

- GAG
- Culture cellulaire
- Enzyme
- Acide sialique libre

→ Si positif → confirmation génétique

[8] Piraud et al. Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry, 1996. **248**(2): p. 143 155.

OBJECTIF

Le diagnostic d'anasarque fœtal peut être entravé et retardé en raison

Chevauchement phénotypique

Hétérogénéité clinique

Les procédures classiques de diagnostic biologique reposent sur une série d'analyses

Développement d'un panel NGS regroupant les 42 gènes

SOFFOET 21/06/2019
B SUPRIE ARNAUD

SOFTOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

PATIENTES & MÉTHODE

TYPE D'ÉTUDE

Étude sur le CHU de Rouen entre **janvier 2005 et mai 2019,** protocole national depuis janvier 2018

Critères d'inclusion

- **Grossesse ayant présenté un AFNI sans étiologie**
- **Consentement génétique éclairé signé**

Les patientes étaient recrutées parmi les :
- Bilan d'anasarque (*ou épanchement, ou hydramnios*)
- Prélèvement pour expertise anatomopathologique
- Prise en charge médicale et/ou chirurgicale
- Avis du comité anténatal du CHU de Rouen

Critères d'exclusion

- **Étiologie connue**

- Grossesses par don d'ovocyte ou de spermatozoïde
- Liquides amniotiques reçus pour tout autre cause
- Absence de prélèvement analysable

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

DESIGN DE L'ÉTUDE

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

LISTES DES GÈNES

Table 2
List of the HydFet panel genes.

	Disease	Gene	NM_		Disease	Gene	NM_
CDG	CDG Ia	*PMM2*	NM_000303.2	Peroxisome disorders	Zellweger syndrome	*PEX1*	NM_000466.2
	CDG Ik	*ALG1*	NM_019109.4		Zellweger syndrome	*PEX10*	NM_153818.1
	CDG Ig	*ALG12*	NM_024105.3		Zellweger syndrome	*PEX12*	NM_000286.2
	CDG Ih	*ALG8*	NM_024079.4		Zellweger syndrome	*PEX2*	NM_000318.2
Lysosomal storage diseases	MPS I (Hurler)	*IDUA*	NM_000203.3		Zellweger syndrome	*PEX26*	NM_017929.5
	MPS VI (Maroteaux-Lamy)	*ARSB*	NM_000046.3		Zellweger syndrome	*PEX5*	NM_001131025.1
	MPS IV type B Gangliosidosis GM1	*GLB1*	NM_000404.2		Zellweger syndrome	*PEX6*	NM_000287.3
	MPS VII (Sly)	*GUSB*	NM_000181.3		Rhizomelic chondrodysplasia type 1	*PEX7*	NM_000288.3
	MPS IV type A (Morquio)	*GALNS*	NM_000512.4	Cholesterol metabolism	X-linked chondrodysplasia punctata 2 (CDPX2)	*EBP*	NM_006579.2
	Gaucher disease	*GBA*	NM_001005741.2		Smith Lemli Opitz syndrome	*DHCR7*	NM_001360.2
	Pompe disease	*GAA*	NM_000152.3		Mevalonic aciduria	*MVK*	NM_000431.3
	Mucolipidose II/IIIA	*GNPTAB*	NM_024312.4		Greenberg dyplasia	*LBR*	NM_002296.3
	Mucolipidosis I (Sialidosis)	*NEU1*	NM_000434.3	Others	Glycogenosis type IV	*GBE1*	NM_000158.3
	Salla disease	*SLC17A5*	NM_012434.4		Fumarase deficiency	*FH*	NM_000143.3
	Niemann Pick type C1	*NPC1*	NM_000271.4		Glutamine synthase deficiency	*GLUL*	NM_002065.6
	Niemann Pick type C2	*NPC2*	NM_006432.3		Primary Carnitine deficiency	*SLC22A5*	NM_003060.3
	Niemann Pick type A and B	*SMPD1*	NM_000543.4		Transaldolase deficiency	*TALDO1*	NM_006655.1
	Multiple sulfatase deficiency	*SUMF1*	NM_182760.3		Barth syndrome	*TAZ*	NM_000116.4
	Farber's lipogranulomatosis	*ASAH1*	NM_177924.3		Porphyria	*UROS*	NM_000375.2
	Galactosialidosis	*CTSA*	NM_000308.2		HNF1B deficiency	*HNF1B*	NM_000458.2
	Wolman disease	*LIPA*	NM_000235.2				

SOFFOET 21/06/2019
BSUDRIE ARNAUD

RÉSULTATS

SOFTOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

RÉSULTATS

Anasarque fœtale
145 ADN foetaux incluses

12 ADN foetaux avec deux variants identifiés

44 ADN foetaux avec un variant identifié

89 ADN foetaux sans variants identifiés

SOFFOET 21/06/2019
B SOUDRIE ARNAUD

CH d'origine	Variant 1 Gene	Variant 1 cDNA	Variant 1 protéine	Variant 1 Classe	Variant 2 Gene	Variant 2 cDNA	Variant 2 protéine	Variant 2 Classe
CHU de Rouen	*NPC1* NM_000271.4	c.3182T>C	p.(Ile1061Thr)	V	*NPC1* NM_000271.4	c.724G>C	p.(Asp242His)	V
CHU de Rouen	*GLB1* NM_000404	c.1825_1828del	p.(Met609Profs*27)	IV	*GBA* NM_001005741.2	c.1825_1828del	p.(Met609Profs*27)	IV
CHU de Rouen	*TAZ* NM_000116	c.538+5G>A	p.(?)	V	/	/	/	/
CH de Tunis	*GUSB* NM_000181	c.1429C>T	(p.Arg477Trp)	V	*GUSB* NM_000181	c.1429C>T	(p.Arg477Trp)	V
Hôpital Antoine Béclère	*NPC1* NM_000271.4	c.2474A>G	p.Tyr825Cys	5	*NPC1* NM_000271.4	c.881+15T>C	P.?	3
Jean Verdier	*GNPTAB* NM_0242312.4	Réarrangement complexe	P.?	4	*GNPTAB* NM_0242312.4	Réarrangement complexe	P.?	4
Jean Verdier	*GNPTAB* NM_0242312.4	Réarrangement complexe	P.?	4	*GNPTAB* NM_0242312.4	Réarrangement complexe	P.?	4
Hôpital Armand Trousseau	*PMM2* NM_00303.2	c.95T>G	p.Leu32Arg	5	*PMM2* NM_00303.2	c.96A>C	p.=	3
Hôpital Pellegrin	*SMPD1* NM_000543.4	c.1550A>T	p.Glu517Val	5	*SMPD1* NM_000543.4	c.1534G>A	p.Val517Met	2
CHU de Rouen	Réarrangement Complexe	Duplication 8p	Duplication 8p	IV	/	/	/	/
CHU de Rouen	*GBA* NM_001005741.2	C.(115+1_116-1)_(1616+1_?)del	p.(?)	V	*GBA* NM_001005741.2	C.(115+1_116-1)_(1616+1_?)del	p.(?)	V
CHU de Rouen	*HNF1B* NM_000458	deletion du gène entier	p.(?)	V	/	/	/	/

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

CH d'origine	Variant 1 Gene	Variant 1 cDNA	Variant 1 protéine	Variant 1 Classe	Variant 2 Gene	Variant 2 cDNA	Variant 2 protéine	Variant 2 Classe
CHU de Rouen	***NPC1* NM_000271.4**	**c.3182T>C**	**p.(Ile1061Thr)**	**V**	***NPC1* NM_000271.4**	**c.724G>C**	**p.(Asp242His)**	**V**
CHU de Rouen	***GLB1* NM_000404**	**c.1825_1828del**	**p.(Met609Profs*27)**	**IV**	***GBA* NM_001005741.2**	**c.1825_1828del**	**p.(Met609Profs*27)**	**IV**
CHU de Rouen	***TAZ* NM_000116**	**c.538+5G>A**	**p.(?)**	**V**	**/**	**/**	**/**	**/**
CH de Tunis	***GUSB* NM_000181**	**c.1429C>T**	**(p.Arg477Trp)**	**V**	***GUSB* NM_000181**	**c.1429C>T**	**(p.Arg477Trp)**	**V**
Hôpital Antoine Béclère	*NPC1* NM_000271.4	c.2474A>G	p.Tyr825Cys	5	*NPC1* NM_000271.4	c.881+15T>C	P.?	3
Jean Verdier	*GNPTAB* NM_0242312.4	Réarrangement complexe	P.?	4	*GNPTAB* NM_0242312.4	Réarrangement complexe	P.?	4
Jean Verdier	*GNPTAB* NM_0242312.4	Réarrangement complexe	P.?	4	*GNPTAB* NM_0242312.4	Réarrangement complexe	P.?	4
Hôpital Armand Trousseau	*PMM2* NM_00303.2	c.95T>G	p.Leu32Arg	5	*PMM2* NM_00303.2	c.96A>C	p.=	3
Hôpital Pellegrin	*SMPD1* NM_000543.4	c.1550A>T	p.Glu517Val	5	*SMPD1* NM_000543.4	c.1534G>A	p.Val517Met	2
CHU de Rouen	**Réarrangement Complexe**	**Duplication 8p**	**Duplication 8p**	**IV**	**/**	**/**	**/**	**/**
CHU de Rouen	***GBA* NM_001005741.2**	**C.(115+1_116-1)_(1616+1_?)del**	**p.(?)**	**V**	***GBA* NM_001005741.2**	**C.(115+1_116-1)_(1616+1_?)del**	**p.(?)**	**V**
CHU de Rouen	***HNF1B* NM_000458**	**deletion du gène entier**	**p.(?)**	**V**	**/**	**/**	**/**	**/**

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

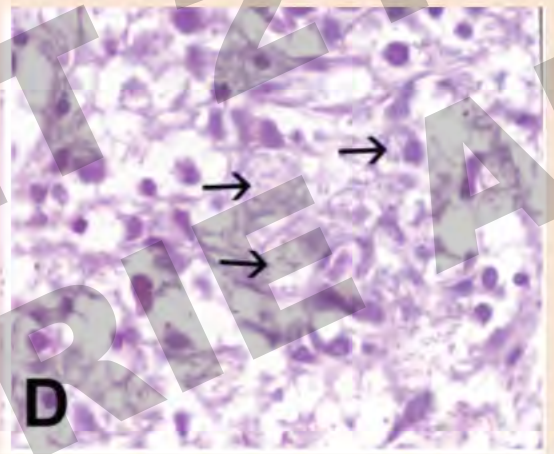
Cas N°1

Écho 22SA :
Ascite
Hépatomégalie modérée
Placenta épais

Naissance :
Césarienne en urgence
Stéatose maternelle
Insuffisance hépatocellulaire et rénale

Suite :
Décès à J5

Hépatosplénomégalie



Deux variants délétères
Gène *NPC 1*

c.3182T>C (*p.Ile1061Thr*) dans l'exon 21[10]

c.724C>G (*p.Asp242His*) dans l'exon 6[11]

SOFFOET 21/06/2019
BSUDRIE ARNAUD

Maladie de Niemann-Pick de type C

[0] Yamamoto et al. Human Genetics, 1999. **105**(1-2): p. 10-16.
[ ] Millat et al. American Journal of Human Genetics, 2001. **68**(6): p. 1373-1385.

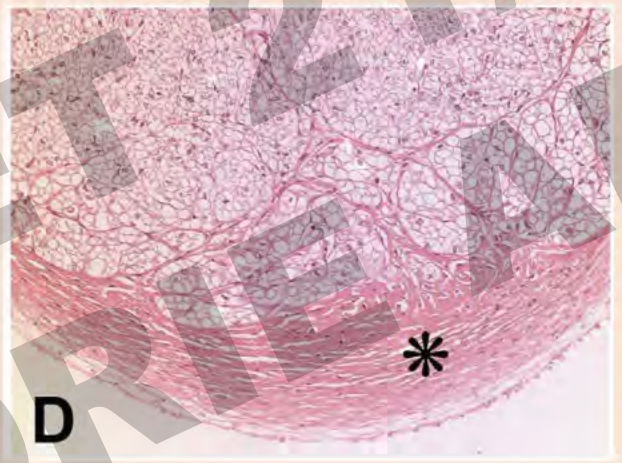
Cas N°2

Écho 30 SA :
Polyhydramnios

Naissance :
Naissance à 30 SA, macrosome

Suite :
Décès à J-1 .

Cœur globulaire et élargi



Un variant pathogène hémizygote dans TAZ

c.583+5G>A, p.(?)

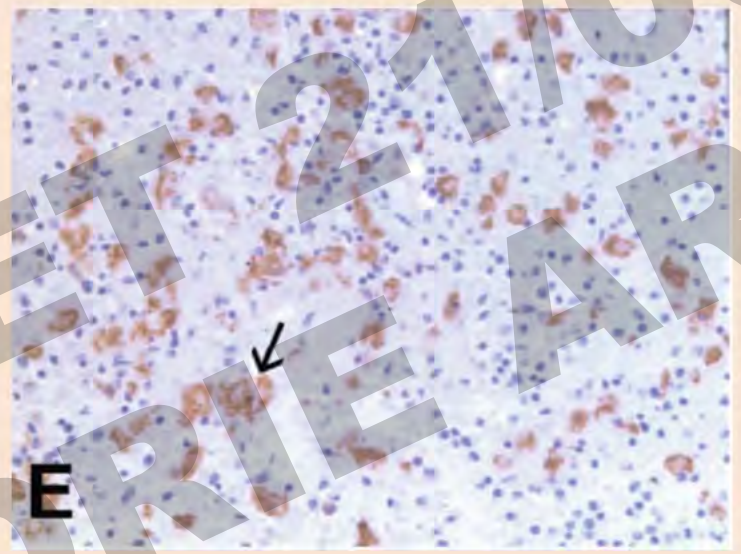
SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

Syndrome de Barth

Cas N°3

Écho 22SA :
Œdème préfrontal et un hydrocèle

Parents consanguins, IMG demandé devant l'aggravation de l'anasarque



Un variant homozygote pathogène
Gène *GLB1 (NM_000404)*

c. 1825_1828del, p.(Met609Profs*27)

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

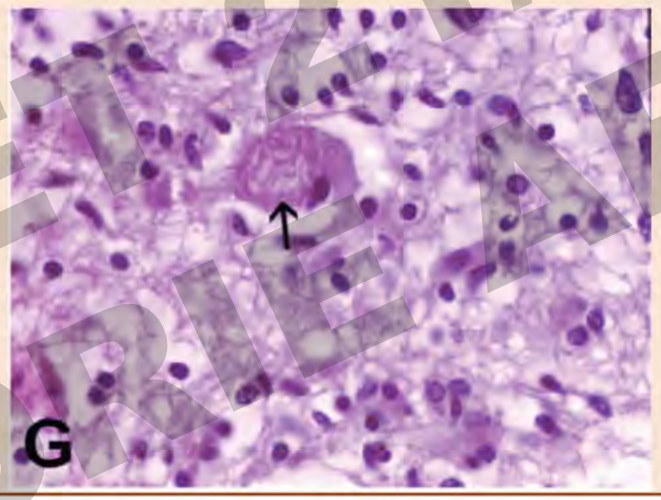
Gangliosidose à GM1

Cas N°4

Écho 22SA :
Microcéphalie, ascite, akinésie, hypoplasie pontocérébelleuse.

IMG à 27 SA

Substance blanche



Un variant homozygote pathogène
Gène *GBA*

c.(115+1_116-1)_(116+1_?)del

(Délétion de l'exon 4 à 12)

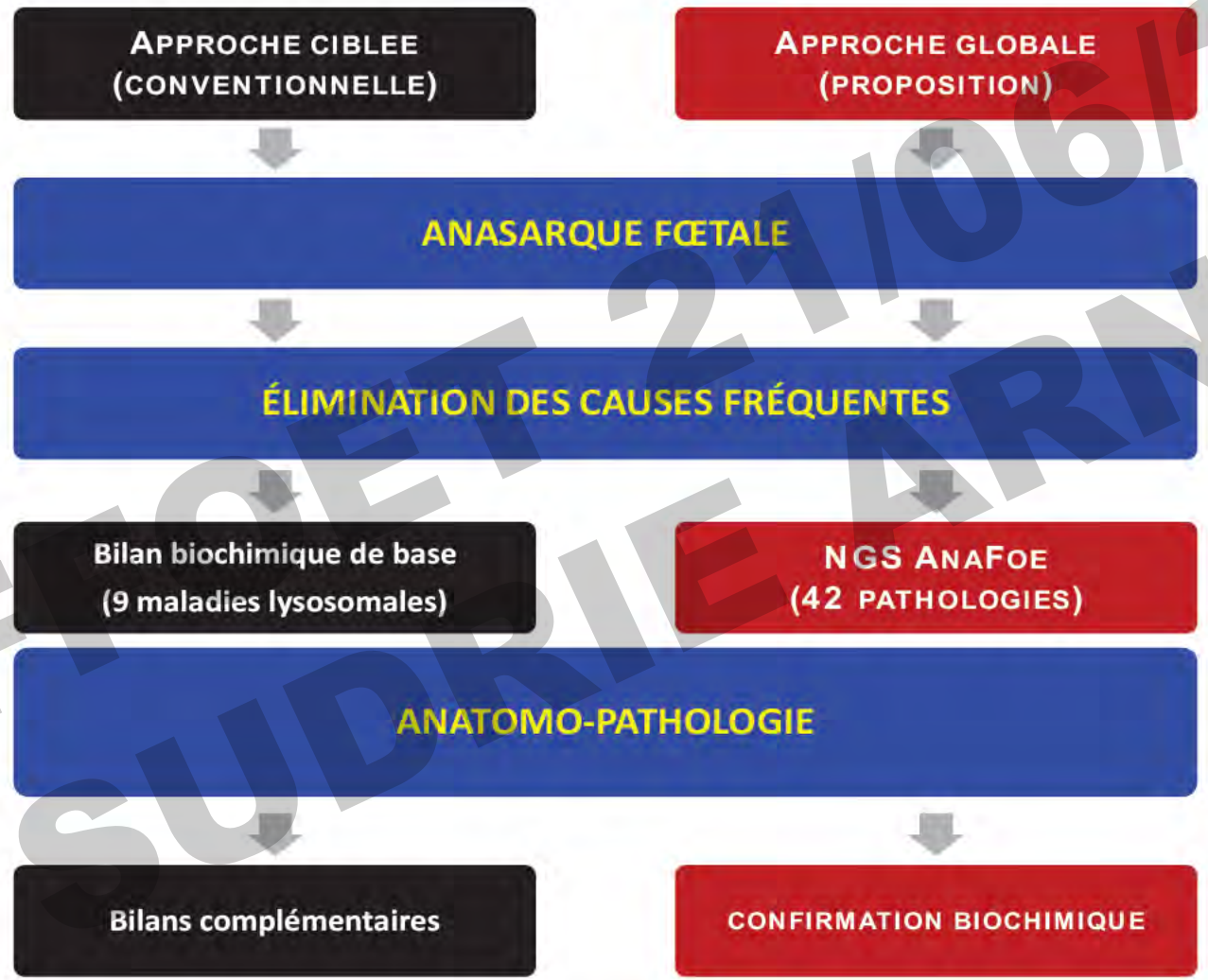
SOFFOEL 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

Maladie de Gaucher

DISCUSSION

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

PROPOSITION DE NOUVEAU PROTOCOLE DIAGNOSTIQUE



SOFIOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

Le NGS combine avec une analyse bioinformatique robuste : sont des outils permettant l'identification de variants pathogènes

Caractérisation fonctionnelle ultérieure de la protéine codée par le gène modifié ou des métabolites anormaux et études morphologiques: confirmation du diagnostic

Ce changement de paradigme permet une amélioration significative du taux de diagnostic IEM

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

Remerciements

CHU de ROUEN

Soumeya Bekri
Annie Laquerrière
Florent Marguet
Abdellah Tebani
Hélène Dranguet
Sophie Patrier Sallebert

Cecile Aguilella
Eric Verspyck

Anne-Claire Brehin
Alice Goldenberg
Anne-Marie Guerrot
Laetitia Trestard

Protocole *AnaFoe*

Gwenaelle André
Tania Attié
Sophie Blesson
Marie Gonzales
Romulus Grigorescu
Fabien Guimiot
Suanovy Khung
Mathilde Lefebvre
Pascaline Letard
Marine Legendre
Jelena Martinovic
Arnaud Molin
Fanny Pelluard
Marie José Perez

Chloé Quelin et Philippe Loget
Marie-Hélène Saint Frison
Fanny Sauvestre
Constance Wells
Sophie Naudion
Hela Boudabous

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

ANA-09 : Antoine Beclère.

- NPC1 (NM_000271.4)
  - C.2474A>G; p.(Tyr825Cys)
  - Classe V
  - Millat & Al, 2001, AmJHum Genet,
- NPC1 (NM_000271.4)
  - c.881+5T>C; p.(?)
  - Classe III
  - Atteinte du site altérnatif d'épissage ?
- Dosage des oxystérols ?

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

ANA-11 & ANA-12 : JEAN VERDIER

- Réarrangement complexe

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

ANA-64 : HÔPITAL PELLEGRIN

- SMPD1 (NM_000543.4)
  - C.1550A>T, p.(Glu571Val)
  - Classe V
  - Simonaro & Al, 2002? AmJHum Genet 71,1413

- SMPD1 (NM_000543.4)
  - C.1534G>A; p.(Val512Met)
  - Classe II

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

N° de dossier	Date de naissance	Prescripteur	Gene	cDNA	protéine	Classe	CONCLUSION
ANA-01	12/09/1988	Hôpital Antoine Béclère	PEX 26 NM_017929,5	c.37_38del	p.Arg13Glyfs*101	5	Un variant hétérozygote pathogène dans PEX26
ANA-18	27/11/1982	Hôpital Armand Trousseau	LBR NM_002296.3	c.743C>T	p.Pro248Leu	4	Un variant hétérozygote probablement pathogène LBR
ANA-21	19/05/1986	Hôpital Armand Trousseau	SMPD1 NM_000543.4	c,.742G>A	p.Glu248Lys	5	Un variant hétérozygote pathogène SMPD1
ANA-22	05/07/1985	Hôpital Armand Trousseau	SLC22A5 NM_003060.3	c.844C>T	p.Arg282*	5	Un variant hétérozygote pathogène SLC22A5
ANA-23	03/07/1977	Hôpital Armand Trousseau	IDUA NM_000203.4	c.250G>A	p.Gly84Ser	5	Un variant hétérozygote pathogène IDUA
ANA-24	22/04/1979	Hôpital Armand Trousseau	NPC2 NM_006432.3	c.441+1G>A	p.?	5	Un variant hétérozygote pathogène NPC2. Dosage des oxystérols
ANA-26	19/05/1981	Hôpital Armand Trousseau	PMM2 NM_00303.2	c.95T>G	p.Leu32Arg	5	un variant pathogène + un VSI PMM2. Dosage de l'activité PMM
ANA-43	14/06/2015		PMM2 NM_00303.2	c.255+2T>C	p.?	4	un variant hétérozygote pathogène PMM2. Dosage de l'activité PMM2
ANA-45	08/02/2017	CHU Caen	GBE1 NM_000158.3	c.1064G>A	p.Arg355His	4	un variant hétérozygote probablement pathogène GBE1
ANA-53	01/10/1974	Hôpital Robert Debré	GUSB	dup gene entier			Une duplication hétérozygote GUSB. Résultat à confronter à la clinique. Dosage de l'activité GUSB
ANA-56	05/04/1980	Hôpital Robert Debré	GNPTAB NP_0242312.4	c.922G>A	p.Ala308thr	4	Un variant probablement pathogène hétérozygote GNPTAB.

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD

N° de dossier	Date de naissance	Prescripteur	Gene	cDNA	protéine	Classe	CONCLUSION
ANA-58	11/03/1981	Hôpital Robert Debré	SLC22A5 NM_003060.3	c.396G>A	p.Trp132*	5	Un variant hétérozygote pathogène SLC22A5
ANA-64	14/01/2014	Hôpital Pellegrin	SMPD1 NM_000543.4	c.1550A>T	p.Glu517Val	5	Un variant pathogène hétérozygote et un variant probablement bénin SMPD1. Résultat à confronter à la clinique. Dosage de l'activité SMPD1
ANA-68	17/12/2014	Hôpital Pellegrin	GNPTAB NP_0242312.4	c.1042A>C	p.Ile348Leu	4	Un variant probablement pathogène GNTPAB. Dosage des activités des enzymes lysosomales au niveau plasmatique
ANA-69	21/05/2013	Hôpital Pellegrin	GNPTAB NP_0242312.4	c.676G>C	p.Asp226His	4	Un variant probablement pathogène GNTPAB. Dosage des activités des enzymes lysosomales au niveau plasmatique
ANA-70	17/04/1984	Hôpital Pellegrin	GNPTAB NP_0242312.4	c.676G>C	p.Asp226His	4	Un variant probablement pathogène GNTPAB. Dosage des activités des enzymes lysosomales au niveau plasmatique
ANA-73	24/04/2014	Hôpital Pellegrin	GLB1 NM_000404.2	c.912C>T	p.=	4	Un variant probablement pathogène GLB1 (impact sur l'épissage). Dosage de l'activité GLB1
ANA-83	25/08/2012	Hôpital Pellegrin	ALG1 NM_019109	c.1072+_1072+2ins27	p.?	4	Un variant pathogène hétérozygote ALG1 (impact sur l'épissage).
ANA-86	11/06/2015	Hôpital Pellegrin	IDUA 7 NM_NM_000203.3	c.36_44dup	p.(Leu13_Ala15dup)	4	Un variant probablement probablement pathogène IDUA. Dosage de l'activité IDUA

SOFFOET 21/06/2019
B SUDRIE ARNAUD