
UNIVERSITÉ DE STRASBOURG
FACULTÉ DE MÉDECINE, MAÏEUTIQUE ET SCIENCES DE LA SANTÉ

ANNÉE : 2022

N° : 197

THÈSE
PRÉSENTÉE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Diplôme d'État
Mention Génétique Médicale

PAR

JAVEY Elodie, Lise, Marie
Née le 20 Juillet 1995 à Lons-le-Saunier

**Analyse de l'apport du séquençage de l'exome et de l'examen de fœtopathologie
dans une cohorte de fœtus présentant des malformations congénitales multiples**

Présidente de thèse : Maria Cristina ANTAL, Professeur
Directrice de thèse : Bénédicte GERARD, Docteur

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG
FACULTÉ DE MÉDECINE, MAÏEUTIQUE ET SCIENCES DE LA SANTÉ

ANNÉE : 2022

N° : 197

THÈSE
PRÉSENTÉE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Diplôme d'État
Mention Génétique Médicale

PAR

JAVEY Elodie, Lise, Marie
Née le 20 Juillet 1995 à Lons-le-Saunier

**Analyse de l'apport du séquençage de l'exome et de l'examen de fœtopathologie
dans une cohorte de fœtus présentant des malformations congénitales multiples**

Présidente de thèse : Maria Cristina ANTAL, Professeur

Directrice de thèse : Bénédicte GERARD, Docteur

FACULTÉ DE MÉDECINE, MAÏEUTIQUE ET SCIENCES DE LA SANTÉ

Edition MARS 2022
Année universitaire 2021-2022



- **Président de l'Université**
- **Doyen de la Faculté**
- **Premier Doyen de la Faculté**
- **Doyens honoraires :** (1976-1983)
(1983-1989)
(1989-1994)
(1994-2001)
(2001-2011)
- **Chargé de mission auprès du Doyen**
- **Responsable Administratif**

M. DENEKEN Michel
M. SIBILIA Jean
M. DERUELLE Philippe
M. DORNER Marc
M. MANTZ Jean-Marie
M. VINCENDON Guy
M. GERLINGER Pierre
M. LUDER Bertrand
M. VICENTE Gilbert
M. STEEGMANN Geoffroy



HOPITAUX UNIVERSITAIRES
DE STRASBOURG (HUS)
Directeur général : M. GALY Michaël

A1 - PROFESSEUR TITULAIRE DU COLLEGE DE FRANCE

MANDEL Jean-Louis Chaire "Génétique humaine" (à compter du 01.11.2003)

A2 - MEMBRE SENIOR A L'INSTITUT UNIVERSITAIRE DE FRANCE (I.U.F.)

BAHRAM Séiamak Immunologie biologique (01.10.2013 au 31.09.2018)
DOLLFUS Hélène Génétique clinique (01.10.2014 au 31.09.2019)

A3 - PROFESSEUR(E)S DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS (PU-PH)

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
ADAM Philippe P0001	NRPô CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service d'Hospitalisation des Urgences de Traumatologie / HP	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
AKLADIOS Cherif P0191	NRPô CS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique/ HP	54.03 Gynécologie-Obstétrique ; gynécologie médicale Option : Gynécologie-Obstétrique
ANDRES Emmanuel P0002	RPô CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Serv. de Médecine Interne, Diabète et Maladies métaboliques/HC	53.01 Option : médecine Interne
ANHEIM Mathieu P0003	NRPô NCS	• Pôle Tête et Cou-CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie
Mme ANTAL Maria Cristina M0003 / P0219	NRPô CS	• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hautepierre • Institut d'Histologie / Faculté de Médecine	42.02 Histologie, Embryologie et Cytogénétique (option biologique)
ARNAUD Laurent P0186	NRPô NCS	• Pôle MIRNED - Service de Rhumatologie / Hôpital de Hautepierre	50.01 Rhumatologie
BACHELLIER Philippe P0004	RPô CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Serv. de chirurgie générale, hépatique et endocrinienne et Transplantation / HP	53.02 Chirurgie générale
BAHRAM Seiamak P0005	NRPô CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil - Institut d'Hématologie et d'Immunologie / Hôpital Civil / Faculté	47.03 Immunologie (option biologique)
BAUMERT Thomas P0007	NRPô CS	• Pôle Hépatodigestif de l'Hôpital Civil - Institut de Recherche sur les Maladies virales et hépatiques/Fac	52.01 Gastro-entérologie ; hépatologie Option : hépatologie
Mme BEAU-FALLER Michèle M0007 / P0170	NRPô NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.03 Biologie cellulaire (option biologique)
BEAUJEU Rémy P0008	NRPô CS	• Pôle d'Imagerie - CME / Activités transversales • Unité de Neuroradiologie interventionnelle / Hautepierre	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
BECMEUR François P0009	NRPô NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie Pédiatrique / Hôpital Hautepierre	54.02 Chirurgie infantile
BERNA Fabrice P0192	NRPô CS	• Pôle de Psychiatrie, Santé mentale et Addictologie - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes ; Addictologie Option : Psychiatrie d'Adultes
BERTSCHY Gilles P0013	RPô CS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie II / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes
BIERRY Guillaume P0178	NRPô NCS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie II - Neuroradiologie-imagerie ostéoarticulaire-Pédiatrie / Hôpital Hautepierre	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (option clinique)
BILBAULT Pascal P0014	RPô CS	• Pôle d'Urgences / Réanimations médicales / CAP - Service des Urgences médico-chirurgicales Adultes / HP	48.02 Réanimation ; Médecine d'urgence Option : médecine d'urgence
BLANC Frédéric P0213	NRPô NCS	- Pôle de Gériatrie - Service Evaluation - Gériatrie - Hôpital de la Robertsau	53.01 Médecine interne ; addictologie Option : gériatrie et biologie du vieillissement
BODIN Frédéric P0187	NRPô NCS	• Pôle de Chirurgie Maxillo-faciale, morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Plastique et maxillo-faciale / Hôpital Civil	50.04 Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique ; Brûlologie
BONNEMAINS Laurent M0099 / P0215	NRPô NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie 1 - Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
BONNOMET François P0017	NRPô CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service d'Orthopédie-Traumatologie du Membre inférieur / HP	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
BOURCIER Tristan P0018	NRPô NCS	• Pôle de Spécialités médicales-Ophtalmologie / SMO - Service d'Ophtalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophtalmologie
BOURGIN Patrice P0020	NRPô CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie - Unité du Sommeil / Hôpital Civil	49.01 Neurologie
Mme BRIGAND Cécile P0022	NRPô NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale
BRUANT-RODIER Catherine P0023	NRPô CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie Plastique et Maxillo-faciale / HP	50.04 Option : chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
Mme CAILLARD-OHLMANN Sophie P0171	NRPô NCS	• Pôle de Spécialités médicales-Ophtalmologie / SMO - Service de Néphrologie-Dialyse et Transplantation / NHC	52.03 Néphrologie

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
CASTELAIN Vincent P0027	NRPô NCS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation médicale / Hôpital Hautepierre	48.02 Réanimation
CHAKFE Nabil P0029	NRPô CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Serv. de Chirurgie vasculaire et de transplantation rénale / NHC	51.04 Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire Option : chirurgie vasculaire
CHARLES Yann-Philippe M0013 / P0172	NRPô NCS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie du rachis / Chirurgie B / HC	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mme CHARLOUX Anne P0028	NRPô NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option biologique)
Mme CHARPIOT Anne P0030	NRPô NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Serv. d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale / HP	55.01 Oto-rhino-laryngologie
Mme CHENARD-NEU Marie-Pierre P0041	NRPô CS	• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Hautepierre	42.03 Anatomie et cytologie pathologiques (option biologique)
CLAVERT Philippe P0044	NRPô CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service d'Orthopédie-Traumatologie du Membre supérieur / HP	42.01 Anatomie (option clinique, orthopédie traumatologique)
COLLANGE Olivier P0193	NRPô NCS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimations chirurgicales / SAMU-SMUR - Service d'Anesthésiologie-Réanimation Chirurgicale / NHC	48.01 Anesthésiologie-Réanimation ; Médecine d'urgence (option Anesthésiologie- Réanimation - Type clinique)
COLLONGUES Nicolas M0016 / P0220	NRPô NCS	• Pôle Tête et Cou-CETD - Centre d'Investigation Clinique / NHC et HP	49.01 Neurologie
CRIBIER Bernard P0045	NRPô CS	• Pôle d'Urologie, Morphologie et Dermatologie - Service de Dermatologie / Hôpital Civil	50.03 Dermato-Vénéréologie
de BLAY de GAIX Frédéric P0048	RPô CS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Pneumologie / Nouvel Hôpital Civil	51.01 Pneumologie
de SEZE Jérôme P0057	NRPô CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Centre d'Investigation Clinique (CIC) - AX5 / Hôp. de Hautepierre	49.01 Neurologie
DEBRY Christian P0049	RPô CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Serv. d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale / HP	55.01 Oto-rhino-laryngologie
DERUELLE Philippe P0199	RPô NCS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique / Hôpital de Hautepierre	54.03 Gynécologie-Obstétrique; gynécologie médicale: option gynécologie-obstétrique
Mme DOLLFUS-WALTMANN Hélène P0054	NRPô CS	• Pôle de Biologie - Service de Génétique Médicale / Hôpital de Hautepierre	47.04 Génétique (type clinique)
EHLINGER Mathieu P0188	NRPô NCS	• Pôle de l'Appareil Locomoteur - Service d'Orthopédie-Traumatologie du membre inférieur / HP	50.02 Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
Mme ENTZ-WERLE Natacha P0059	NRPô NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie III / Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
Mme FACCA Sybille P0179	NRPô CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie de la Main - SOS Main / Hôp.Hautepierre	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mme FAFI-KREMER Samira P0060	NRPô CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire (Institut) de Virologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Bactériologie- Virologie ; Hygiène Hospitalière Option Bactériologie- Virologie biologique
FAITOT François P0216	NRPô NCS	• Pôle de Pathologie digestives, hépatiques et de la transplantation - Serv. de chirurgie générale, hépatique et endocrinienne et Transplantation / HP	53.02 Chirurgie générale
FALCOZ Pierre-Emmanuel P0052	NRPô NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Chirurgie Thoracique / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
FORNECKER Luc-Matthieu P0208	NRPô NCS	• Pôle d'Oncolo-Hématologie - Service d'hématologie / ICANS	47.01 Hématologie ; Transfusion Option : Hématologie
GALLIX Benoît P0214	NCS	• IHU - Institut Hospitalo-Universitaire - Hôpital Civil	43.02 Radiologie et imagerie médicale
GANGI Afshin P0062	RPô CS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie A interventionnelle / Nouvel Hôpital Civil	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
GARNON Julien P0221	NRPô NCS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie A interventionnelle / Nouvel Hôpital Civil	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
GAUCHER David P0063	NRPô NCS	• Pôle des Spécialités Médicales - Ophtalmologie / SMO - Service d'Ophtalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophtalmologie
GENY Bernard P0064	NRPô CS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option biologique)
GEORG Yannick P0200	NRPô NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Serv. de Chirurgie Vasculaire et de transplantation rénale / NHC	51.04 Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire/ Option : chirurgie vasculaire
GICQUEL Philippe P0065	NRPô CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie Pédiatrique / Hôpital de Hautepierre	54.02 Chirurgie infantile
GOICHOT Bernard P0066	NRPô CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine interne et de nutrition / HP	54.04 Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
Mme GONZALEZ Maria P0067	NRPô CS	• Pôle de Santé publique et santé au travail - Service de Pathologie Professionnelle et Médecine du Travail/HC	46.02 Médecine et santé au travail Travail
GOTTENBERG Jacques-Eric P0068	NRPô CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Rhumatologie / Hôpital Hautepierre	50.01 Rhumatologie
HANNEDOUCHE Thierry P0071	NRPô CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Néphrologie-Dialyse et Transplantation / NHC	52.03 Néphrologie
HANSMANN Yves P0072	RPô NCS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service des Maladies infectieuses et tropicales / NHC	45.03 Option : Maladies infectieuses
Mme HELMS Julie M0114 / P0209	NRPô NCS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation Médicale / Nouvel Hôpital Civil	48.02 Médecine Intensive-Réanimation
HIRSCH Edouard P0075	NRPô NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie
IMPERIALE Alessio P0194	NRPô NCS	• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine Nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
ISNER-HOROBETI Marie-Eve P0189	RPô CS	• Pôle de Médecine Physique et de Réadaptation - Institut Universitaire de Réadaptation / Clémenceau	49.05 Médecine Physique et Réadaptation
JAULHAC Benoît P0078	NRPô CS	• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie -virologie (biologique)
Mme JEANDIDIER Nathalie P0079	NRPô CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service d'Endocrinologie, diabète et nutrition / HC	54.04 Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
Mme JESEL-MOREL Laurence P0201	NRPô NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
KALTENBACH Georges P0081	RPô CS	• Pôle de Gériatrie - Service de Médecine Interne - Gériatrie / Hôpital de la Robertsau - Secteur Evaluation - Gériatrie / Hôpital de la Robertsau	53.01 Option : gériatrie et biologie du vieillissement

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
Mme KESSLER Laurence P0084	NRPô NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Serv. d'Endocrinologie, Diabète, Nutrition et Addictologie/ Méd.B/HC	54.04 Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
KESSLER Romain P0085	NRPô NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Pneumologie / Nouvel Hôpital Civil	51.01 Pneumologie
KINDO Michel P0195	NRPô NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie Cardio-vasculaire / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme KORGANOW Anne-Sophie P0087	NRPô CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne et d'Immunologie Clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
KREMER Stéphane M0038 / P0174	NRPô CS	• Pôle d'Imagerie - Service Imagerie II - Neuroradio Ostéoarticulaire - Pédiatrie / HP	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
KUHN Pierre P0175	NRPô CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Serv. de Néonatalogie et Réanimation néonatale (Pédiatrie II)/HP	54.01 Pédiatrie
KURTZ Jean-Emmanuel P0089	RPô NCS	• Pôle d'Onco-Hématologie - Service d'hématologie / ICANS	47.02 Option : Cancérologie (clinique)
Mme LALANNE Laurence P0202	NRPô CS	• Pôle de Psychiatrie, Santé mentale et Addictologie - Service d'Addictologie / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes ; Addictologie (Option : Addictologie)
LANG Hervé P0090	NRPô NCS	• Pôle de Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Chirurgie maxillofaciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Urologique / Nouvel Hôpital Civil	52.04 Urologie
LAUGEL Vincent P0092	RPô CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie 1 / Hôpital Hautepierre	54.01 Pédiatrie
Mme LEJAY Anne M0102 / P0217	NRPô NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale cardiovasculaire - Service de Chirurgie vasculaire et de Transplantation rénale / NHC	51.04 Option : Chirurgie vasculaire
LE MINOR Jean-Marie P0190	NRPô NCS	• Pôle d'Imagerie - Institut d'Anatomie Normale / Faculté de Médecine - Service de Neuroradiologie, d'imagerie Ostéoarticulaire et interventionnelle/ Hôpital de Hautepierre	42.01 Anatomie
LESSINGER Jean-Marc P0	RPô CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie générale et spécialisée / LBGS / NHC - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / Hautepierre	82.00 Sciences Biologiques de Pharmacie
LIPSKER Dan P0093	NRPô NCS	• Pôle de Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Chirurgie maxillofaciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Dermatologie / Hôpital Civil	50.03 Dermato-vénéréologie
LIVERNEAUX Philippe P0094	RPô NCS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie de la Main - SOS Main / Hôp. de Hautepierre	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
MALOUF Gabriel P0203	NRPô NCS	• Pôle d'Onco-hématologie - Service d'Oncologie médicale / ICANS	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option : Cancérologie
MARK Manuel P0098	NRPô NCS	• Pôle de Biologie - Département Génomique fonctionnelle et cancer / IGBMC	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
MARTIN Thierry P0099	NRPô NCS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne et d'Immunologie Clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
Mme MASCAUX Céline P0210	NRPô NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Pneumologie / Nouvel Hôpital Civil	51.01 Pneumologie ; Addictologie
Mme MATHELIN Carole P0101	NRPô CS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Unité de Sénologie / ICANS	54.03 Gynécologie-Obstétrique ; Gynécologie Médicale
MAUVIEUX Laurent P0102	NRPô CS	• Pôle d'Onco-Hématologie - Laboratoire d'Hématologie Biologique - Hôpital de Hautepierre - Institut d'Hématologie / Faculté de Médecine	47.01 Hématologie ; Transfusion Option Hématologie Biologique
MAZZUCOTELLI Jean-Philippe P0103	NRPô CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie Cardio-vasculaire / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
MENARD Didier P0222	NRPô NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale/PTM HUS	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
MERTES Paul-Michel P0104	RPô CS	• Pôle d'Anesthésiologie / Réanimations chirurgicales / SAMU- SMUR - Service d'Anesthésiologie-Réanimation chirurgicale / NHC	48.01 Option : Anesthésiologie-Réanimation (type mixte)
MEYER Alain M0093 / P0223	NRPô NCS	• Institut de Physiologie / Faculté de Médecine • Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option biologique)
MEYER Nicolas P0105	NRPô NCS	• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Laboratoire de Biostatistiques / Hôpital Civil • Biostatistiques et Informatique / Faculté de médecine / Hôp. Civil	46.04 Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication (option biologique)
MEZIANI Ferhat P0106	NRPô CS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation Médicale / Nouvel Hôpital Civil	48.02 Réanimation
MONASSIER Laurent P0107	NRPô CS	• Pôle de Pharmacie-pharmacologie - Labo. de Neurobiologie et Pharmacologie cardio-vasculaire- EA7295 / Fac	48.03 Option : Pharmacologie fondamentale
MOREL Olivier P0108	NRPô NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
MOULIN Bruno P0109	NRPô CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Néphrologie-Dialyse et Transplantation / NHC	52.03 Néphrologie
MUTTER Didier P0111	RPô NCS	• Pôle Hépto-digestif de l'Hôpital Civil - Service de Chirurgie Viscérale et Digestive / NHC	52.02 Chirurgie digestive
NAMER Izzie Jacques P0112	NRPô CS	• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine Nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
NOEL Georges P0114	NRPô NCS	• Pôle d'Imagerie - Service de radiothérapie / ICANS	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option Radiothérapie biologique
NOLL Eric M0111 / P0218	NRPô NCS	• Pôle d'Anesthésie Réanimation Chirurgicale SAMU-SMUR - Service Anesthésiologie et de Réanimation Chirurgicale - HP	48.01 Anesthésiologie-Réanimation
OHANA Mickael P0211	NRPô NCS	• Pôle d'Imagerie - Serv. d'Imagerie B - Imagerie viscérale et cardio-vasculaire / NHC	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
OHLMANN Patrick P0115	RPô CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
Mme OLLAND Anne P0204	NRPô NCS	• Pôle de Pathologie Thoracique - Service de Chirurgie thoracique / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme PAILLARD Catherine P0180	NRPô CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie III / Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
PELACCIA Thierry P0205	NRPô NCS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimation chirurgicales / SAMU-SMUR - Centre de formation et de recherche en pédagogie des sciences de la santé / Faculté	48.05 Réanimation ; Médecine d'urgence Option : Médecine d'urgences

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
Mme PERRETTA Silvana P0117	NRPô NCS	• Pôle Hépato-digestif de l'Hôpital Civil - Service de Chirurgie Viscérale et Digestive / Nouvel Hôpital Civil	52.02 Chirurgie digestive
PESSAUX Patrick P0118	NRPô CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie Viscérale et Digestive / Nouvel Hôpital Civil	52.02 Chirurgie Digestive
PETIT Thierry P0119	CDp	• ICANS - Département de médecine oncologique	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option : Cancérologie Clinique
PIVOT Xavier P0206	NRPô NCS	• ICANS - Département de médecine oncologique	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option : Cancérologie Clinique
POTTECHER Julien P0181	NRPô CS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimations chirurgicales / SAMU-SMUR - Service d'Anesthésie et de Réanimation Chirurgicale/Hautepierre	48.01 Anesthésiologie-réanimation ; Médecine d'urgence (option clinique)
PRADIGNAC Alain P0123	NRPô NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine interne et nutrition / HP	44.04 Nutrition
PROUST François P0182	NRPô CS	• Pôle Tête et Cou - Service de Neurochirurgie / Hôpital de Hautepierre	49.02 Neurochirurgie
Pr RAUL Jean-Sébastien P0125	NRPô CS	• Pôle de Biologie - Service de Médecine Légale, Consultation d'Urgences médico-judiciaires et Laboratoire de Toxicologie / Faculté et NHC • Institut de Médecine Légale / Faculté de Médecine	46.03 Médecine Légale et droit de la santé
REIMUND Jean-Marie P0126	NRPô NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Serv. d'Hépato-Gastro-Entérologie et d'Assistance Nutritive / HP	52.01 Option : Gastro-entérologie
Pr RICCI Roméo P0127	NRPô NCS	• Pôle de Biologie - Département Biologie du développement et cellules souches / IGBMC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
ROHR Serge P0128	NRPô CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale
ROMAIN Benoît M0061 / P0224	NRPô NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale
Mme ROSSIGNOL -BERNARD Sylvie P0196	NRPô NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie I / Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
ROUL Gérard P0129	NRPô NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civi	51.02 Cardiologie
Mme ROY Catherine P0140	NRPô CS	• Pôle d'Imagerie - Serv. d'Imagerie B - Imagerie viscérale et cardio-vasculaire / NHC	43.02 Radiologie et imagerie médicale (opt clinique)
SANANES Nicolas P0212	NRPô NCS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique/ HP	54.03 Gynécologie-Obstétrique ; gynécologie médicale Option : Gynécologie-Obstétrique
SAUER Arnaud P0183	NRPô NCS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service d'Ophtalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophtalmologie
SAULEAU Erik-André P0184	NRPô NCS	• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Service de Santé Publique / Hôpital Civil • Biostatistiques et Informatique / Faculté de médecine / HC	46.04 Biostatistiques, Informatique médicale et Technologies de Communication (option biologique)
SAUSSINE Christian P0143	RPô CS	• Pôle d'Urologie, Morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Urologique / Nouvel Hôpital Civil	52.04 Urologie
Mme SCHATZ Claude P0147	NRPô CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service d'Ophtalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophtalmologie
Mme SCHLUTH-BOLARD Caroline P0225	NRPô NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic Génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
SCHNEIDER Francis P0144	NRPô CS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation médicale / Hôpital de Hautepierre	48.02 Réanimation
Mme SCHRÖDER Carmen P0185	NRPô CS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychothérapie pour Enfants et Adolescents / HC	49.04 Pédopsychiatrie ; Addictologie
SCHULTZ Philippe P0145	NRPô NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Serv. d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale / HP	55.01 Oto-rhino-laryngologie
SERFATY Lawrence P0197	NRPô CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service d'Hépato-Gastro-Entérologie et d'Assistance Nutritive/HP	52.01 Gastro-entérologie ; Hépatologie ; Addictologie Option : Hépatologie
SIBILIA Jean P0146	NRPô NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Rhumatologie / Hôpital Hautepierre	50.01 Rhumatologie
STEPHAN Dominique P0150	NRPô CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Serv. des Maladies vasculaires-HTA-Pharmacologie clinique/NHC	51.04 Option : Médecine vasculaire
THAVEAU Fabien P0152	NRPô NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie vasculaire et de transplantation rénale / NHC	51.04 Option : Chirurgie vasculaire
Mme TRANCHANT Christine P0153	NRPô CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie
VEILLON Francis P0155	NRPô CS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie 1 - Imagerie viscérale, ORL et mammaire / HP	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
VELTEN Michel P0156	NRPô NCS	• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Département de Santé Publique / Secteur 3 - Epidémiologie et Economie de la Santé / Hôpital Civil • Laboratoire d'Epidémiologie et de santé publique / HC / Faculté	46.01 Epidémiologie, économie de la santé et prévention (option biologique)
VETTER Denis P0157	NRPô NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine Interne, Diabète et Maladies métaboliques/HC	52.01 Option : Gastro-entérologie
VIDAILHET Pierre P0158	NRPô CS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie d'Urgences, de liaison et de Psychotraumatologie / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes
VIVILLE Stéphane P0159	NRPô NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Pathologies tropicales /Faculté	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
VOGEL Thomas P0160	NRPô CS	• Pôle de Gériatrie - Serv. de soins de suite et réadaptation gériatrique/Hôp.Robertsau	51.01 Option : Gériatrie et biologie du vieillissement
WEBER Jean-Christophe Pierre P0162	NRPô CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne / Nouvel Hôpital Civil	53.01 Option : Médecine Interne

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
WOLF Philippe P0207	NRPô NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie Générale et de Transplantations multiorganes / HP - Coordonnateur des activités de prélèvements et transplantations des HU	53.02 Chirurgie générale
Mme WOLFF Valérie P0001	NRPô CS	• Pôle Tête et Cou - Unité Neurovasculaire / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie

HC : Hôpital Civil - HP : Hôpital de Hautepierre - NHC : Nouvel Hôpital Civil - PTM = Plateau technique de microbiologie

* : CS (Chef de service) ou NCS (Non Chef de service hospitalier) Cspi : Chef de service par intérim CSp : Chef de service provisoire (un an)

CU : Chef d'unité fonctionnelle

Pô : Pôle RPô (Responsable de Pôle) ou NRPô (Non Responsable de Pôle)

Cons. : Consultanat hospitalier (poursuite des fonctions hospitalières sans chefferie de service) Dir : Directeur

(1) En surnombre universitaire jusqu'au 31.08.2018

(3) (7) Consultant hospitalier (pour un an) éventuellement renouvelable --> 31.08.2017

(5) En surnombre universitaire jusqu'au 31.08.2019 (8) Consultant hospitalier (pour une 2ème année) --> 31.08.2017

(6) En surnombre universitaire jusqu'au 31.08.2017 (9) Consultant hospitalier (pour une 3ème année) --> 31.08.2017

A4 - PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
CALVEL Laurent	NRPô CS	• Pôle Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Soins palliatifs / NHC	46.05 Médecine palliative
HABERSETZER François	CS	• Pôle Hépto-digestif - Service de Gastro-Entérologie - NHC	52.01 Gastro-Entérologie
MIYAZAKI Toru		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie Biologique / HC	
SALVAT Eric	CS	• Pôle Tête-Cou - Centre d'Evaluation et de Traitement de la Douleur / HP	

B1 - MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS (MCU-PH)

MO142

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
AGIN Arnaud M0001		• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et Médecine nucléaire
Mme ANTONI Delphine M0109		• Pôle d'Imagerie - Service de Radiothérapie / ICANS	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie
Mme AYME-DIETRICH Estelle M0117		• Pôle de Pharmacologie - Unité de Pharmacologie clinique / Faculté de Médecine	48.03 Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie Option : pharmacologie fondamentale
Mme BIANCALANA Valérie M0008		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic Génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
BLONDET Cyrille M0091		• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire (option clinique)
BOUSIGES Olivier M0092		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
Mme BRU Valérie M0045		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale/PTM HUS • Institut de Parasitologie / Faculté de Médecine	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
Mme BUND Caroline M0129		• Pôle d'Imagerie - Service de médecine nucléaire et imagerie moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
CARAPITO Raphaël M0113		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil	47.03 Immunologie
CAZZATO Roberto M0118		• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie A interventionnelle / NHC	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
Mme CEBULA Hélène M0124		• Pôle Tête-Cou - Service de Neurochirurgie / HP	49.02 Neurochirurgie
CERALINE Jocelyn M0012		• Pôle de Biologie - Département de Biologie structurale Intégrative / IGBMC	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie (option biologique)
CHERRIER Thomas M0136		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil	47.03 Immunologie (option biologique)
CHOQUET Philippe M0014		• Pôle d'Imagerie - UF6237 - Imagerie Préclinique / HP	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
CLERE-JEHL Raphaël M0137		• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation médicale / Hôpital de Hautepierre	48.02 Réanimation
Mme CORDEANU Elena Mihaela M0138		• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Serv. des Maladies vasculaires-HTA-Pharmacologie clinique/NHC	51.04 Option : Médecine vasculaire
DALI-YOUCF Ahmed Nassim M0017		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
DELHORME Jean-Baptiste M0130		• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale
DEVYS Didier M0019		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
Mme DINKELACKER Véra M0131		• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie
DOLLÉ Pascal M0021		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
Mme ENACHE Irina M0024		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / IGBMC	44.02 Physiologie
Mme FARRUGIA-JACAMON Audrey M0034		• Pôle de Biologie - Service de Médecine Légale, Consultation d'Urgences médico-judiciaires et Laboratoire de Toxicologie / Faculté et HC • Institut de Médecine Légale / Faculté de Médecine	46.03 Médecine Légale et droit de la santé
FELTEN Renaud M0139		• Pôle Tête et Cou - CETD - Centre d'Investigation Clinique (CIC) - AX5 / Hôpital de Hautepierre	48.04 Thérapeutique, Médecine de la douleur, Addictologie
FILISSETTI Denis M0025	CS	• Pôle de Biologie - Labo. de Parasitologie et de Mycologie médicale / PTM HUS et Faculté	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
FOUCHER Jack M0027		• Institut de Physiologie / Faculté de Médecine • Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	44.02 Physiologie (option clinique)
GANTNER Pierre M0132		• Pôle de Biologie - Laboratoire (Institut) de Virologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Bactériologie- Virologie ; Hygiène Hospitalière Option Bactériologie- Virologie biologique
GIES Vincent M0140		• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne et d'Immunologie Clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
GRILLON Antoine M0133		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie -virologie (biologique)
GUERIN Eric M0032		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.03 Biologie cellulaire (option biologique)
GUFFROY Aurélien M0125		• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine interne et d'Immunologie clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
Mme HARSAN-RASTEI Laura M0119		• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine Nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
HUBELE Fabrice M0033		• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS - Service de Biophysique et de Médecine Nucléaire / NHC	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
KASTNER Philippe M0089		• Pôle de Biologie - Département Génomique fonctionnelle et cancer / IGBMC	47.04 Génétique (option biologique)
Mme KEMMEL Véronique M0036		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
KOCH Guillaume M0126		- Institut d'Anatomie Normale / Faculté de Médecine	42.01 Anatomie (Option clinique)
Mme KRASNY-PACINI Agata M0134		• Pôle de Médecine Physique et de Réadaptation - Institut Universitaire de Réadaptation / Clémenceau	49.05 Médecine Physique et Réadaptation
Mme LAMOUR Valérie M0040		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
Mme LANNES Béatrice M0041		• Institut d'Histologie / Faculté de Médecine • Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Hautepierre	42.02 Histologie, Embryologie et Cytogénétique (option biologique)
LAVAUX Thomas M0042		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.03 Biologie cellulaire

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
LENORMAND Cédric M0103		• Pôle de Chirurgie maxillo-faciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Dermatologie / Hôpital Civil	50.03 Dermato-Vénéréologie
LHERMITTE Benoît M0115		• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Hautepierre	42.03 Anatomie et cytologie pathologiques
LUTZ Jean-Christophe M0046		• Pôle de Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Chirurgie maxillofaciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Plastique et Maxillo-faciale / Hôpital Civil	55.03 Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
MIGUET Laurent M0047		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Hématologie biologique / Hôpital de Hautepierre et NHC	44.03 Biologie cellulaire (type mixte : biologique)
Mme MOUTOU Céline ép. GUNTNER M0049	CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic préimplantatoire / CMCO Schiltigheim	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
MULLER Jean M0050		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
Mme NICOLAE Alina M0127		• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Hautepierre	42.03 Anatomie et Cytologie Pathologiques (Option Clinique)
Mme NOURRY Nathalie M0011		• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Serv. de Pathologie professionnelle et de Médecine du travail/HC	46.02 Médecine et Santé au Travail (option clinique)
PENCREAC'H Erwan M0052		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
PFAFF Alexander M0053		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale /PTM HUS	45.02 Parasitologie et mycologie
Mme PITON Amélie M0094		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / NHC	47.04 Génétique (option biologique)
Mme PORTER Louise M0135		• Pôle de Biologie - Service de Génétique Médicale / Hôpital de Hautepierre	47.04 Génétique (type clinique)
PREVOST Gilles M0057		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie -virologie (biologique)
Mme RADOSAVLJEVIC Mirjana M0058		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil	47.03 Immunologie (option biologique)
Mme REIX Nathalie M0095		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire / NHC - Service de Chirurgie / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
Mme RIOU Marianne M0141		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option clinique)
ROGUE Patrick (cf. A2) M0060		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie Générale et Spécialisée / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire (option biologique)
Mme ROLLAND Delphine M0121		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Hématologie biologique / Hautepierre	47.01 Hématologie ; transfusion (type mixte : Hématologie)
Mme RUPPERT Elisabeth M0106		• Pôle Tête et Cou - Service de Neurologie - Unité de Pathologie du Sommeil / HC	49.01 Neurologie
Mme SABOU Alina M0096		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale/PTM HUS - Institut de Parasitologie / Faculté de Médecine	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
Mme SCHEIDECKER Sophie M0122		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique
SCHRAMM Frédéric M0068		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie -virologie (biologique)
Mme SOLIS Morgane M0123		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Virologie / Hôpital de Hautepierre	45.01 Bactériologie-Virologie ; hygiène hospitalière Option : Bactériologie-Virologie
Mme SORDET Christelle M0069		• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Rhumatologie / Hôpital de Hautepierre	50.01 Rhumatologie
Mme TALAGRAND-REBOUL Emilie M0142		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie -virologie (biologique)
TALHA Samy M0070		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option clinique)
Mme TALON Isabelle M0039		• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie Pédiatrique / Hôpital Hautepierre	54.02 Chirurgie infantile
TELETIN Marius M0071		• Pôle de Biologie - Service de Biologie de la Reproduction / CMCO Schiltigheim	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
VALLAT Laurent M0074		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie Biologique - Hôpital de Hautepierre	47.01 Hématologie ; Transfusion Option Hématologie Biologique
Mme VELAY-RUSCH Aurélie M0128		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Virologie / Hôpital Civil	45.01 Bactériologie- Virologie ; Hygiène Hospitalière Option Bactériologie- Virologie biologique
Mme VILLARD Odile M0076		• Pôle de Biologie - Labo. de Parasitologie et de Mycologie médicale / PTM HUS et Fac	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
Mme WOLF Michèle M0010		• Chargé de mission - Administration générale - Direction de la Qualité / Hôpital Civil	48.03 Option : Pharmacologie fondamentale
Mme ZALOSZYC Ariane ép. MARCANTONI M0116		• Pôle Médico-Chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie I / Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
ZOLL Joff rey M0077		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / HC	44.02 Physiologie (option clinique)

B2 - PROFESSEURS DES UNIVERSITES (monoappartenant)

B3 - MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES (monoappartenant)

Mr KESSEL Nils	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques
Mr LANDRE Lionel	ICUBE-UMR 7357 - Equipe IMIS / Faculté de Médecine	69.	Neurosciences
Mme MIRALLES Célia	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques
Mme SCARFONE Marianna	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques
Mme THOMAS Marion	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques
Mr VAGNERON Frédéric	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques
Mr ZIMMER Alexis	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques

C - ENSEIGNANTS ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE

C1 - PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES DE M. G. (mi-temps)

Pr Ass. GRIES Jean-Luc	M0084	Médecine générale (01.09.2017)
Pre Ass. GROB-BERTHOU Anne	M0109	Médecine générale (01.09.2015)
Pr Ass. GUILLOU Philippe	M0089	Médecine générale (01.11.2013)
Pr Ass. HILD Philippe	M0090	Médecine générale (01.11.2013)
Pr Ass. ROUGERIE Fabien	M0097	Médecine générale (01.09.2014)

C2 - MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE - TITULAIRE

Dre CHAMBE Juliette	M0108	53.03 Médecine générale (01.09.2015)
Dr LORENZO Mathieu		53.03 Médecine générale

C3 - MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES DE M. G. (mi-temps)

Dre DUMAS Claire	Médecine générale (01.09.2016 au 31.08.2019)
Dre SANSELMÉ Anne-Elisabeth	Médecine générale
Dr SCHMITT Yannick	Médecine générale

D - ENSEIGNANTS DE LANGUES ETRANGERES

D1 - PROFESSEUR AGREGÉ, PRAG et PRCE DE LANGUES

Mme ACKER-KESSLER Pia	M0085	Professeure certifiée d'Anglais (depuis 01.09.03)
Mme CANDAS Peggy	M0086	Professeure agrégée d'Anglais (depuis le 01.09.99)
Mme SIEBENBOUR Marie-Noëlle	M0087	Professeure certifiée d'Allemand (depuis 01.09.11)
Mme JUNGER Nicole	M0088	Professeure certifiée d'Anglais (depuis 01.09.09)
Mme MARTEN Susanne	M0098	Professeure certifiée d'Allemand (depuis 01.09.14)

E - PRATICIENS HOSPITALIERS - CHEFS DE SERVICE NON UNIVERSITAIRES

Dr ASTRUC Dominique	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Réanimation pédiatrique spécialisée et de surveillance continue / Hôpital de Hautepierre
Dr DE MARCHI Martin	• Pôle Oncologie médico-chirurgicale et d'Hématologie - Service d'Oncologie Médicale / ICANS
Mme Dre GERARD Bénédicte	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic Génétique / Nouvel Hôpital Civil
Mme Dre GOURIEUX Bénédicte	• Pôle de Pharmacie-pharmacologie - Service de Pharmacie-Stérilisation / Nouvel Hôpital Civil
Dr KARCHER Patrick	• Pôle de Gériatrie - Service de Soins de suite de Longue Durée et d'hébergement gériatrique / EHPAD / Hôpital de la Robertsau
Mme Dre LALLEMAN Lucie	• Pôle Urgences - SAMU67 - Médecine Intensive et Réanimation - Permanence d'accès aux soins de santé - La Boussole (PASS)
Dr LEFEBVRE Nicolas	• Pôle de Spécialités Médicales - Ophtalmologie - Hygiène (SMO) - Service des Maladies Infectieuses et Tropicales / Nouvel Hôpital Civil
Mme Dre LICHTBLAU Isabelle	• Pôle de Biologie - Laboratoire de biologie de la reproduction / CMCO de Schiltigheim
Mme Dre MARTIN-HUNYADI Catherine	• Pôle de Gériatrie - Secteur Evaluation / Hôpital de la Robertsau
Dr NISAND Gabriel	• Pôle de Santé Publique et Santé au travail - Service de Santé Publique - DIM / Hôpital Civil
Mme Dre PETIT Flore	• Pôle de Spécialités Médicales - Ophtalmologie - Hygiène (SMO) - UCSA
Dr PIRRELLO Olivier	• Pôle de Gynécologie et d'Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique / CMCO
Dr REY David	• Pôle Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - «Le trait d'union» - Centre de soins de l'infection par le VIH / Nouvel Hôpital Civil
Mme Dre RONDE OUSTEAU Cécile	• Pôle Locomax - Service de Chirurgie Séptique / Hôpital de Hautepierre
Mme Dre RONGIERES Catherine	• Pôle de Gynécologie et d'Obstétrique - Centre Clinico Biologique d'AMP / CMC
Dr TCHOMAKOV Dimitar	• Pôle Médico-Chirurgical de Pédiatrie - Service des Urgences Médico-Chirurgicales pédiatriques / Hôpital de Hautepierre
Mme Dre WEISS Anne	• Pôle Urgences - SAMU67 - Médecine Intensive et Réanimation - SAMU

F1 - PROFESSEURS ÉMÉRITES

- o **de droit et à vie (membre de l'Institut)**
CHAMBON Pierre (Biochimie et biologie moléculaire)
MANDEL Jean-Louis (Génétique et biologie moléculaire et cellulaire)
- o **pour trois ans (1er avril 2019 au 31 mars 2022)**
Mme STEIB Annick (Anesthésie, Réanimation chirurgicale)
- o **pour trois ans (1er septembre 2019 au 31 août 2022)**
DUFOR Patrick (Cancérologie clinique)
NISAND Israël (Gynécologie-obstétrique)
PINGET Michel (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques)
Mme QUOIX Elisabeth (Pneumologie)
- o **pour trois ans (1er septembre 2020 au 31 août 2023)**
BELLOCQ Jean-Pierre (Service de Pathologie)
DANION Jean-Marie (Psychiatrie)
KEMPF Jean-François (Chirurgie orthopédique et de la main)
KOPFERSCHMITT Jacques (Urgences médico-chirurgicales Adultes)
- o **pour trois ans (1er septembre 2021 au 31 août 2024)**
DANION Anne (Pédopsychiatrie, addictologie)
DIEMUNSCH Pierre (Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale)
HERBRECHT Raoul (Hématologie)
STEIB Jean-Paul (Chirurgie du rachis)

F2 - PROFESSEUR des UNIVERSITES ASSOCIE (mi-temps)

M. SOLER Luc CNU-31 IRCAD (01.09.2009 - 30.09.2012 / renouvelé 01.10.2012-30.09.2015-30.09.2021)

F3 - PROFESSEURS CONVENTIONNÉS* DE L'UNIVERSITE

Pr CHARRON Dominique	(2019-2020)
Pr KINTZ Pascal	(2019-2020)
Pr LAND Walter G.	(2019-2020)
Pr MAHE Antoine	(2019-2020)
Pr MASTELLI Antoine	(2019-2020)
Pr REIS Jacques	(2019-2020)
Pre RONGIERES Catherine	(2019-2020)

(* 4 années au maximum)

G1 - PROFESSEURS HONORAIRES

ADLOFF Michel (Chirurgie digestive) / 01.09.94
BABIN Serge (Orthopédie et Traumatologie) / 01.09.01
BALDAUF Jean-Jacques (Gynécologie obstétrique) / 01.09.21
BAREISS Pierre (Cardiologie) / 01.09.12
BATZENSCHLAGER André (Anatomie Pathologique) / 01.10.95
BAUMANN René (Hépto-gastro-entérologie) / 01.09.10
BERGERAT Jean-Pierre (Cancérologie) / 01.01.16
BERTHEL Marc (Gériatrie) / 01.09.18
BIENTZ Michel (Hygiène Hospitalière) / 01.09.04
BLICKLE Jean-Frédéric (Médecine Interne) / 15.10.17
BLOCH Pierre (Radiologie) / 01.10.95
BOEHM-BURGER Nelly (Histologie) / 01.09.20
BOURJAT Pierre (Radiologie) / 01.09.03
BOUSQUET Pascal (Pharmacologie) / 01.09.19
BRECHENMACHER Claude (Cardiologie) / 01.07.99
BRETTE Jean-Philippe (Gynécologie-Obstétrique) / 01.09.10
BURGHARD Guy (Pneumologie) / 01.10.86
BURSZTEJN Claude (Pédopsychiatrie) / 01.09.18
CANTINEAU Alain (Médecine et Santé au travail) / 01.09.15
CAZENAVE Jean-Pierre (Hématologie) / 01.09.15
CHAMPY Maxime (Stomatologie) / 01.10.95
CHAUVIN Michel (Cardiologie) / 01.09.18
CHELLY Jameleddine (Diagnostic génétique) / 01.09.20
CINQUALBRE Jacques (Chirurgie générale) / 01.10.12
CLAVERT Jean-Michel (Chirurgie infantile) / 31.10.16
COLLARD Maurice (Neurologie) / 01.09.00
CONSTANTINESCO André (Biophysique et médecine nucléaire) / 01.09.11
DIETEMANN Jean-Louis (Radiologie) / 01.09.17
DOFFOEL Michel (Gastroentérologie) / 01.09.17
DUCLOS Bernard (Hépto-Gastro-Hépatologie) / 01.09.19
DUPEYRON Jean-Pierre (Anesthésiologie-Réa.Chir.) / 01.09.13
EISENMANN Bernard (Chirurgie cardio-vasculaire) / 01.04.10
FABRE Michel (Cytologie et histologie) / 01.09.02
FISCHBACH Michel (Pédiatrie) / 01.10.16
FLAMENT Jacques (Ophtalmologie) / 01.09.09
GAY Gérard (Hépto-gastro-entérologie) / 01.09.13
GERLINGER Pierre (Biol. de la Reproduction) / 01.09.04
GRUCKER Daniel (Institut de Physique Biologique) / 01.09.21
GUT Jean-Pierre (Virologie) / 01.09.14
HASSELMANN Michel (Réanimation médicale) / 01.09.18
HAUPTMANN Georges (Hématologie biologique) / 01.09.06
HEID Ernest (Dermatologie) / 01.09.04
IMLER Marc (Médecine interne) / 01.09.98
JACQUIN Didier (Urologie) / 09.08.17
JAECK Daniel (Chirurgie générale) / 01.09.11
JESEL Michel (Médecine physique et réadaptation) / 01.09.04
KAHN Jean-Luc (Anatomie) / 01.09.18
KEHR Pierre (Chirurgie orthopédique) / 01.09.06
KREMER Michel / 01.05.98
KRETZ Jean-Georges (Chirurgie vasculaire) / 01.09.18
KRIEGER Jean (Neurologie) / 01.01.07
KUNTZ Jean-Louis (Rhumatologie) / 01.09.08
KUNTZMANN Francis (Gériatrie) / 01.09.07
KURTZ Daniel (Neurologie) / 01.09.98
LANG Gabriel (Orthopédie et traumatologie) / 01.10.98
LANGER Bruno (Gynécologie) / 01.11.19
LEVY Jean-Marc (Pédiatrie) / 01.10.95
LONSDORFER Jean (Physiologie) / 01.09.10
LUTZ Patrick (Pédiatrie) / 01.09.16
MAILLOT Claude (Anatomie normale) / 01.09.03
MAITRE Michel (Biochimie et biol. moléculaire) / 01.09.13
ORL / 01.09.10is (Génétique) / 01.09.16
MANGIN Patrice (Médecine Légale) / 01.12.14
MANTZ Jean-Marie (Réanimation médicale) / 01.10.94
MARESCAUX Christian (Neurologie) / 01.09.19
MARESCAUX Jacques (Chirurgie digestive) / 01.09.16
MARK Jean-Joseph (Biochimie et biologie cellulaire) / 01.09.99
MESSER Jean (Pédiatrie) / 01.09.07
MEYER Christian (Chirurgie générale) / 01.09.13
MEYER Pierre (Biostatistiques, informatique méd.) / 01.09.10
MONTEIL Henri (Bactériologie) / 01.09.11
MOSSARD Jean-Marie (Cardiologie) / 01.09.09
OUDET Pierre (Biologie cellulaire) / 01.09.13
PASQUALI Jean-Louis (Immunologie clinique) / 01.09.15
PATRIS Michel (Psychiatrie) / 01.09.15
Mme PAULI Gabrielle (Pneumologie) / 01.09.11
PINGET Michel (Endocrinologie) / 01.09.19
POTTECHER Thierry (Anesthésie-Réanimation) / 01.09.18
REYS Philippe (Chirurgie générale) / 01.09.98
RITTER Jean (Gynécologie-Obstétrique) / 01.09.02
RUMPLER Yves (Biol. développement) / 01.09.10
SANDNER Guy (Physiologie) / 01.09.14
SAUDER Philippe (Réanimation médicale) / 01.09.20
SAUVAGE Paul (Chirurgie infantile) / 01.09.04
SCHLAEDER Guy (Gynécologie-Obstétrique) / 01.09.01
SCHLIENGER Jean-Louis (Médecine Interne) / 01.08.11
SCHRAUB Simon (Radiothérapie) / 01.09.12
SICK Henri (Anatomie Normale) / 01.09.06
STIERLE Jean-Luc (ORL) / 01.09.10
STOLL Claude (Génétique) / 01.09.09
STOLL-KELLER Françoise (Virologie) / 01.09.15
STORCK Daniel (Médecine interne) / 01.09.03
TEMPE Jean-Daniel (Réanimation médicale) / 01.09.06
TONGIO Jean (Radiologie) / 01.09.02
TREISSER Alain (Gynécologie-Obstétrique) / 24.03.08
VAUTRAVERS Philippe (Médecine physique et réadaptation) / 01.09.16
VETTER Jean-Marie (Anatomie pathologique) / 01.09.13
VINCENDON Guy (Biochimie) / 01.09.08
WALTER Paul (Anatomie Pathologique) / 01.09.09
WATTIEZ Arnaud (Gynécologie Obstétrique) / 01.09.21
WILHM Jean-Marie (Chirurgie thoracique) / 01.09.13
WILK Astrid (Chirurgie maxillo-faciale) / 01.09.15
WILLARD Daniel (Pédiatrie) / 01.09.96
WOLFRAM-GABEL Renée (Anatomie) / 01.09.96

Légende des adresses :

FAC : Faculté de Médecine : 4, rue Kirschleger - F - 67085 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.68.85.35.20 - Fax : 03.68.85.35.18 ou 03.68.85.34.67

HOPITAUX UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG (HUS) :

- NHC : **Nouvel Hôpital Civil** : 1, place de l'Hôpital - BP 426 - F - 67091 Strasbourg Cedex - Tél. : 03 69 55 07 08
- HC : **Hôpital Civil** : 1, Place de l'Hôpital - B.P. 426 - F - 67091 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.11.67.68
- HP : **Hôpital de Hautepierre** : Avenue Molière - B.P. 49 - F - 67098 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.12.80.00
- **Hôpital de La Robertsau** : 83, rue Himmerich - F - 67015 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.11.55.11
- **Hôpital de l'Elsau** : 15, rue Cranach - 67200 Strasbourg - Tél. : 03.88.11.67.68

CMCO - Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical : 19, rue Louis Pasteur - BP 120 - Schiltigheim - F - 67303 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.62.83.00

C.C.O.M. - Centre de Chirurgie Orthopédique et de la Main : 10, avenue Baumann - B.P. 96 - F - 67403 Illkirch Graffenstaden Cedex - Tél. : 03.88.55.20.00

E.F.S. : Etablissement Français du Sang - Alsace : 10, rue Spielmann - BP N°36 - 67065 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.21.25.25

Centre Régional de Lutte contre le cancer "Paul Strauss" - 3, rue de la Porte de l'Hôpital - F-67085 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.25.24.24

IURC - Institut Universitaire de Réadaptation Clemenceau - CHU de Strasbourg et UGECAM (Union pour la Gestion des Etablissements des Caisses d'Assurance Maladie) - 45 boulevard Clemenceau - 67082 Strasbourg Cedex

RESPONSABLE DE LA BIBLIOTHÈQUE DE MÉDECINE ET ODONTOLOGIE ET DU DÉPARTEMENT SCIENCES, TECHNIQUES ET SANTÉ DU SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Monsieur Olivier DIVE, Conservateur

LA FACULTÉ A ARRÊTÉ QUE LES OPINIONS ÉMISES DANS LES DISSERTATIONS
QUI LUI SONT PRÉSENTÉES DOIVENT ÊTRE CONSIDÉRÉES COMME PROPRES
À LEURS AUTEURS ET QU'ELLE N'ENTEND NI LES APPROUVER, NI LES IMPROUVER

SERMENT D'HIPPOCRATE

« **A**u moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire. Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément. Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés. J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque ».

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Maria Cristina ANTAL,

Qui m'a fait l'honneur de présider cette thèse et de juger ce travail. L'ensemble des précisions que vous m'avez transmises ont été primordiales pour la réalisation de ce projet. Soyez assurée de ma profonde reconnaissance et de tout mon respect.

A Bénédicte,

Je te remercie d'avoir si bien encadré ce travail et d'avoir répondu à chacune de mes questions. L'ensemble des connaissances que tu m'as transmises et tes nombreux conseils m'ont permis de progresser sereinement. Travailler à tes côtés est une réelle chance.

A Madame le Professeur Caroline SCHLUTH BOLARD, Salima et Julia,

Vous m'avez chacune apportées votre aide au cours de ce travail, permettant ainsi d'en améliorer la qualité. Je vous remercie d'avoir accepté de siéger à ce jury, apportant ainsi vos expériences respectives dans les différents domaines de la génétique.

A Nadège, Sophie, Audrey, Marguerite, Elise, Benjamin, Aurélie, Rémi, aux conseillères en génétique, aux ingénieurs et techniciens du laboratoire de diagnostic génétique et à l'ensemble de l'équipe de génétique,

Grâce au temps que vous accordez à notre formation et grâce à la passion de votre travail que vous nous communiquez, nous avons la possibilité d'accéder à un apprentissage de qualité. Travailler auprès de chacun d'entre vous est toujours complémentaire et enrichissant.

A Stéphane et Özlem,

Pour l'ensemble de vos conseils, que ce soit pour ma thèse ou pour ce projet commun concernant les gènes impliqués dans l'infertilité féminine. Participer à un tel travail est extrêmement formateur et enrichissant. Prendre part à sa réalisation grâce à la confiance que vous m'avez accordée a été une réelle chance, et je vous en suis très reconnaissante.

A Céline, Philippe, Julia, Manu, Julie, Sarah, Karen, Nathalie, Jean-Christophe, Nicolas et à l'ensemble de l'équipe du laboratoire de DPI,

Pour m'avoir accueillie durant ce dernier semestre et avoir accordé du temps à mon apprentissage. J'ai réellement apprécié travailler dans votre équipe, que ce soit pour l'intérêt que je porte à la discipline, ou pour l'environnement de travail m'ayant permis une formation de qualité. Vous avez réussi à me transmettre cette passion, me permettant ainsi de trouver ma voie.

A Monsieur le Docteur Didier DEBIEUVRE, à Anthony, Mathieu, et à l'ensemble de l'équipe de pneumologie,

C'est auprès de vous que j'ai fait mes premiers pas d'interne, et que j'ai réellement découvert ce qu'était la médecine. Tout ce que j'ai appris m'a énormément servi, autant dans ma vie professionnelle que personnelle. Cette expérience était nécessaire à mon parcours, et j'ai réellement apprécié ce temps passé au sein de votre équipe.

A mes parents,

Ayant été témoin de votre union le 1er Octobre 2022, c'est aujourd'hui à vous de me faire l'honneur d'assister à ma thèse, dont on parle depuis si longtemps. Bien plus que des remerciements, c'est une éternelle reconnaissance que je vous adresse. Le soutien inestimable que vous m'apporté et l'environnement si protecteur que vous avez créé sont la source de ma présence ici aujourd'hui. Mes mots ne pourront jamais être à la hauteur des remerciements dont vous méritez, mais sachez que si je suis arrivée jusqu'ici, c'est bien grâce à vous.

A Sophie, Grégory, mes grands-parents et à l'ensemble de ma famille,

C'est en étant bien entourée que j'ai pu poursuivre cette voie et passer chacune des étapes.

Mention particulière à Francine, car cette discussion autour d'un repas au restaurant m'a redonnée du courage pour avancer vers ce fameux concours de première année de médecine.

A Sarah,

Pour tous les moments que l'on a partagés durant ces années à Besançon, les cours à la fac, les sorties sportives et les encouragements mutuels. Ton amitié a rendu ces années difficiles bien plus jolies.

A Angéline,

Pour tous les fou-rires dans les couloirs, les discussions en pré et post-PCR, l'ensemble des techniques que tu m'as apprises et ce fameux "Le séquençage pour les nuls", bien au chaud dans mon PC. Pour notre trek dans la neige (fromage et machine à raclette dans le sac), notre remix de "Qui veut gagner de l'argent en masse?", nos footings du matin pendant le confinement. Pour tes conseils, ta présence, et surtout, ton amitié.

A Tristan, Julien, Mathieu et Margaux,

Pour ce semestre passé à vos côtés, qui était "trop bien".

A l'équipe de « zadistes » mulhousiens et à mes zouz',

Des ami(e)s rencontré(e)s au cours d'une période marquante pour nous tous, mais que vous avez réussi à embellir. Vous m'avez accompagnée dans mon changement de spécialité : merci pour votre aide et votre présence si chaleureuse.

A tous et toutes mes ami(e)s d'enfance, mes colocataires, mes nouveaux ami(e)s alsaciens, et à toutes les personnes qui ont contribué à cette aventure,

Merci.

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS.....	17
I. INTRODUCTION.....	18
II. LES MALFORMATIONS CONGENITALES MULTIPLES	19
1. Définitions	19
2. Périodes.....	20
3. Les causes des malformations congénitales multiples.....	21
a. Causes génétiques.....	21
b. Causes non génétiques.....	26
III. GENETIQUE ET ETHIQUE	29
1. L'étude du développement de l'embryon humain.....	29
2. Exemples de modèles pour l'étude du développement	30
3. Les grandes classes de gènes du développement.....	31
a. Les gènes du génome maternel à expression embryonnaire	31
b. Les gènes du génome embryonnaire à expression précoce	34
IV. OUTILS DISPONIBLES POUR EXPLORER LES CAUSES GENETIQUES DES MALFORMATIONS CONGENITALES MULTIPLES	37
V. CONTRIBUTION DE L'EXAMEN DE FŒTOPATHOLOGIE ET DU SEQUENÇAGE DE L'EXOME AUX MALFORMATIONS CONGENITALES MULTIPLES.....	38
1. Matériel et méthode	39
a. Constitution de la cohorte.....	39
b. Recueil des données.....	40
c. Séquençage de l'exome et analyses bio-informatiques.....	41
d. Etudes fonctionnelles.....	44
2. Résultats	44
a. Caractéristiques générales de la cohorte.....	44
b. Description phénotypique des fœtus.....	45
c. Résultats du séquençage de l'exome	48

3.	Discussion	87
VI.	CONCLUSION	94
VII.	BIBLIOGRAPHIE	96

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU 1.	Grands systèmes anatomiques sélectionnés et exemples d'anomalies classées dans chacun des systèmes	46
TABLEAU 2.	Exemples d'anomalies secondaires au contexte fœtal	46
TABLEAU 3.	Résumé des caractéristiques phénotypiques de la cohorte	47
TABLEAU 4.	Statistiques concernant le nombre et le type de systèmes anatomiques atteints selon les catégories de résultats du séquençage	49
TABLEAU 5.	Résumés des phénotypes observés et attendus et description des variations génétiques des fœtus avec variations pathogènes ou probablement pathogènes.....	84
TABLEAU 6.	Résumés des phénotypes observés et description des variations génétiques des fœtus avec variations de signification clinique incertaine	85
TABLEAU 7.	Résumés des phénotypes observés des fœtus sans diagnostic	86

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1.	Statistiques du rendement diagnostique du séquençage de l'exome dans notre cohorte de 20 fœtus présentant des MCM	48
FIGURE 2.	Schématisation de l'effet de la variation du gène EPHB4 (NM_004444.5) : c.1297+5G>A, p.(Val406Tyrfs*10) sur l'épissage du gène, retrouvée chez F8.....	69

ABREVIATIONS

A_{CPA}: analyse chromosomique par puce à ADN

AMP: assistance médicale à la procréation

AR: acide rétinoïque

ARN m: ARN messenger

AVK: antivitamine K

B_{MP}: bone morphogenetic protein

C_{AV}: canal atrio-ventriculaire

CIA: communication interauriculaire

CIV: communication interventriculaire

CIVD: coagulation intravasculaire disséminée

CNV: copy number variation

CPDPN: centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal

E_{GA}: embryonic genome activation

F_{IV}: fécondation in vitro

M_{CM}: malformations congénitales multiples

MEC: matrice extracellulaire

MEG: maternal effect gene

MFIU: mort foetale *in utero*

MLID: multilocus imprinting disturbances

N_{AD}: nicotinamide adénine dinucléotide

NCVG: non compaction du ventricule gauche

O_G: oreillette gauche

OATS: oligo-astheno-térato-spermie

P_{CA}: persistance du canal artériel

pLi : probability of being loss-of-function intolerant

R_{AR}: récepteur nucléaire de l'acide rétinoïque

RARE: retinoic acid response element

RXR: récepteur X des rétinoïdes

S_A: semaine d'aménorrhée

SCMC: subcortical maternal complex

Shh: Sonic Hedgehog

SNV: single nucleotide variation

T_{AD}: topological associated domain

TSA : troubles du spectre de l'autisme

V_{CS}: veine cave supérieure

VD : ventricule droit

VDDI : ventricule droit à double issue

VG: ventricule gauche

VM : valve mitrale

I. INTRODUCTION

Les malformations congénitales concernent environ 2 à 3 % des naissances vivantes (1). Pour un pays comme la France, comptant 738.000 naissances en 2021 d'après l'Insee, cela concernerait un peu plus de 22.000 nouveau-nés chaque année (2).

Lorsqu'une étiologie génétique est suspectée, le schéma diagnostic actuel est de rechercher par caryotype et/ou analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) des anomalies du nombre et/ou de la structure des chromosomes. Cependant, près de 70% des fœtus demeurent sans étiologie après ces examens de première intention. Parmi ceux-ci, une part est vraisemblablement attribuable à une cause monogénique. Les phénotypes malformatifs associés à ces gènes sont parfois bien connus en postnatal, mais avec peu de données disponibles sur leur présentation prénatale. De nouveaux gènes sont sans doute à découvrir car les connaissances concernant la génétique du développement embryo-fœtal humain sont encore limitées : certaines variations survenant dans des gènes majeurs du développement embryonnaire peuvent être létales *in utero*, et donc non retrouvées en postnatal. De plus, la recherche sur embryons humains est strictement encadrée en France. Ainsi, une des solutions afin d'étendre les connaissances de la génétique du développement est d'étudier directement les fœtus présentant des malformations congénitales, et dont une étiologie génétique est fortement suspectée.

Nous avons donc constitué une cohorte de 20 fœtus présentant des malformations congénitales multiples (MCM), dont les résultats d'analyses génétiques préliminaires étaient non contributifs. Un séquençage de l'exome en trio a été réalisé chez chacun d'entre eux, accompagné par un examen de fœtopathologie. Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer l'apport du séquençage de l'exome et de l'examen de fœtopathologie chez des fœtus présentant des malformations congénitales multiples.

Au cours de cette présentation, nous commencerons par aborder des données générales concernant les malformations congénitales multiples et la génétique du développement embryofœtal. Nous verrons les moyens diagnostiques actuellement disponibles lors de la survenue de MCM. Nous développerons ensuite la constitution de notre cohorte, la stratégie mise en œuvre et les résultats obtenus à l'issue de notre étude. Nous terminerons par une discussion appuyée par les données de la littérature, et conclurons quant à nos objectifs initiaux.

II. LES MALFORMATIONS CONGENITALES MULTIPLES

1. Définitions

Les malformations congénitales résultent de tout arrêt ou déviation de la structure et/ou de la forme d'un organe ou d'une région du corps. Elles font suite à une anomalie du processus normal du développement, survenant durant la vie intra-utérine : leur détection peut se faire en anténatal, à la naissance ou même plus tard au cours de la vie (3).

Nous pouvons les caractériser comme :

- Structurelles ou fonctionnelles en fonction de leur impact sur la structure ou la fonction d'un organe ;
- Majeures ou mineures en fonction de leurs conséquences médicales, chirurgicales, sociales, cosmétiques et demandant une intervention médicale, ou au contraire si leur impact sur la santé, l'aspect social et cosmétique est limité ;
- Inscrites dans un contexte familial ou non.

Les malformations congénitales sont multiples (MCM) si elles concernent au moins 2 systèmes anatomiques distincts, que l'on peut définir comme un ensemble de tissus et d'organes assurant une même fonction.

Il existe 3 situations différentes de MCM :

- Les malformations multiples mais secondaires à une origine commune : par exemple, la survenue d'une cardiopathie peut provoquer une insuffisance cardiaque fonctionnelle fœtale à l'origine d'épanchements des séreuses. Dans ce cas, un épanchement pleural significatif peut entraîner une hypoplasie pulmonaire.
- Les malformations de plusieurs systèmes sans lien les uns avec les autres, mais statistiquement liés : par exemple, l'association VACTERL est caractérisée par la combinaison de malformations congénitales Vertébrales, atrésie Anale, Cardiopathie, fistule Trachéo Œsophagienne, anomalies Rénales et des membres (*Limbs* en anglais). Le diagnostic reposera alors sur la présence simultanée d'au moins 3 des composantes précédemment citées.(4)
- Les malformations de plusieurs systèmes sans lien les uns avec les autres, et non statistiquement liés.

2. Périodes

Le développement embryo-fœtal s'organise en deux périodes distinctes :

- La période embryonnaire, débutant lors de la fécondation et se terminant à la fin de la huitième semaine ;
 - Elle est marquée par la formation des organes.
 - Les processus majeurs de cette période sont la segmentation, la nidation, la gastrulation où l'embryon devient tridermique, la délimitation où il s'individualise, ainsi que la neurulation ;
- La période fœtale, prenant le relais au début de la neuvième semaine et se terminant lors de la naissance ;
 - Elle est consacrée à la croissance du fœtus et des organes précédemment mis en place et à la modification de l'aspect externe avec le modelage final.

Durant les quatorze premiers jours de la période embryonnaire, l'embryon obéit à la loi du "tout ou rien". Toute anomalie non réparée survenant durant cette période sera à l'origine d'une perte embryonnaire spontanée. En revanche, à partir de ce quatorzième jour, et jusqu'au début de la période fœtale, l'embryon sera extrêmement vulnérable. La majorité des malformations congénitales surviennent au cours de cette période (embryopathies), et peuvent être d'étiologies variées (5).

3. Les causes des malformations congénitales multiples

Nous pouvons diviser les causes des MCM en 2 grandes catégories, d'origine génétique ou non génétique.

a. Causes génétiques

Les causes génétiques peuvent impliquer le nombre (aneuploïdie) et/ou la structure des chromosomes (variation du nombre de copie (CNV pour *copy number variation*), translocation, inversion...). A contrario, elles peuvent concerner un seul ou quelques nucléotides d'un unique gène (variation d'un nucléotide (SNV pour *single nucleotide variation*), petites insertions/délétions).

i. Anomalies du nombre et/ou de la structure chromosomique

Les MCM sont principalement à ce jour associées à des aneuploïdies et CNV identifiées lors de la réalisation d'un caryotype ou d'une ACPA.

Nous pouvons ainsi observer:

- Des gains de matériel génétique impliquant un chromosome entier (les trisomies 13, 18, 21 étant les plus fréquentes), ou bien des duplications et triplications de grande taille ;
- Des pertes de matériel génétique impliquant un chromosome entier (syndrome de Turner ou monosomie X), ou délétions de grande taille (syndrome de Di George ou délétion 22q11, syndrome du Cri du chat ou monosomie 5p).

Les aneuploïdies sont à l'origine de syndromes polymalformatifs majeurs et de morts fœtales *in utero* (MFIU), liés à leur caractère multigénique. Cette létalité peut être atténuée par leur présence en mosaïque, comme nous pouvons l'observer dans le cas de trisomie 8.

Par ailleurs, les translocations ou inversions chromosomiques peuvent être à l'origine de pathologie génique (destruction de la structure du gène) ou être à l'origine de délétions, duplications aux points de cassures. Présentes de manière déséquilibrées, leur caractère viable ou létal dépendra de la quantité et de la qualité du matériel génétique impliqué.

ii. Maladies monogéniques

Les maladies héréditaires monogéniques sont la conséquence d'altérations de la séquence d'ADN d'un seul gène. Elles peuvent être à l'origine de MCM, possiblement détectées en prénatal. L'expression phénotypique de variations des gènes *PTPN11*, *KMT2D*, *GPC3*, et des ciliopathies est rapportée comme exemple ci-dessous.

Le syndrome de Noonan, lié à des variations de gènes impliqués dans la voie RAS (*PTPN11* et *SOS1* entre autres), se manifeste en postnatal par un retard de croissance, une dysmorphie faciale (face triangulaire, micrognathie, oreilles basses implantées en rotation postérieure, hypertélorisme, ptosis, fentes palpébrales tombantes, épicanthus, palais haut et arqué...), des malformations cardiovasculaires (sténose pulmonaire, cardiopathies, coarctation aortique...), génito-urinaires (cryptorchidie) et squelettiques (déformation du sternum, scoliose, anomalies des extrémités), parfois associés à une déficience intellectuelle. Une expression fœtale peut être mise en évidence chez certains patients avec une augmentation de la clarté nucale, un hygroma kystique, un polyhydramnios, ainsi que des malformations cardiaques et rénales (6).

Le syndrome de Kabuki provoqué par des variations du gène *KMT2D*, associe un retard de développement avec déficience intellectuelle, une hypotonie, de l'épilepsie, une microcéphalie, une dysmorphie faciale (grandes oreilles en rotation postérieure, fentes palpébrales allongées, éversion du tiers latéral de la paupière inférieure, ptosis, sourcils arqués, larges et clairsemés...), et des

malformations cardiovasculaires (communication interventriculaire (CIV), communication interauriculaire (CIA), coarctation de l'aorte), gastro-intestinales (malrotation intestinale, sténose et imperforation anale), génito-urinaires (cryptorchidie, micropénis, rein unique fusionné), squelettiques (scoliose, anomalies des extrémités), luxation congénitale de hanche et hyperlaxité. De nombreuses malformations non spécifiques peuvent être retrouvées chez les fœtus porteurs de mutations de ce gène aux échographies prénatales, comme une augmentation de la clarté nucale, un retard de croissance intra-utérin (RCIU), des anomalies cardiaques et rénales, et la présence d'une artère ombilicale unique (7).

Le syndrome Simpson-Golabi-Behmel de type I, de transmission liée à l'X, est principalement causé par des variations intragéniques de type délétions et duplications à l'origine d'une perte de fonction du gène *GPC3*. Ce gène, codant pour une protéoglycane de surface associée à un héparane sulfate, intervient dans la régulation plusieurs voies de signalisation, dont la voie Sonic Hedgehog (Shh). Les manifestations sont marquées par une macrosomie fœtale et avance staturo-pondérale postnatale, une macrocéphalie, une dysmorphie faciale (fentes palpébrales inclinées vers le bas, hypertélorisme, épicanthus, nez court aux narines antéversées, grande bouche avec macroglossie...), des malformations cardiovasculaires (sténose pulmonaire, cardiomyopathie, CIV, transposition des gros vaisseaux), des anomalies de la segmentation pulmonaire, des anomalies squelettiques (13 paires de côtes, déformation sternale, avance d'âge osseux, anomalies des extrémités, anomalies vertébrales), digestives (hépatosplénomégalie, polysplénie, hernie ombilicale, malrotation intestinale), génito-urinaires (cryptorchidie, hypospadias, hernie inguinale, reins kystiques) et cérébrales (agénésie du corps calleux, hypoplasie du vermis cérébelleux, hydrocéphalie). Il est également rapporté une augmentation de la fréquence des tumeurs embryonnaires. Souvent diagnostiquées après la naissance, certaines manifestations permettent d'orienter vers ce diagnostic dès la période fœtale (vers 20 semaines d'aménorrhées (SA) en moyenne) telles une macrosomie, une hyperclarté nucale, un hydramnios, et une augmentation du taux sérique de l'alpha-fœtoprotéine maternelle (8).

Un autre type de maladie monogénique à l'origine de MCM est représenté par les ciliopathies, caractérisées par une dysfonction des cils mobiles ou non mobiles.

Les cils non mobiles ou primaires fonctionnent comme des capteurs de molécules extracellulaires, intervenant ainsi dans la régulation de cascades de transduction de signaux intracellulaires. Ils seront dès lors impliqués dans de nombreuses réponses, comme la modulation des voies du développement (rôle dans la voie Shh par exemple), le contrôle de la polarité cellulaire, la transduction des stimuli sensoriels et la prolifération des cellules souches (9). Le syndrome de Bardet-Biedl est l'exemple type de pathologie génétique du cil primaire. Il se caractérise principalement par une atteinte rénale de type dysplasie multikystique, une rétinite pigmentaire, une polydactylie postaxiale, une obésité, un hypogonadisme et une déficience intellectuelle (10). Plus d'une vingtaine de gènes sont connus pour être impliqués (11). Des pathologies du cil primaire peuvent être ainsi à l'origine de malformations fœtales sévères, type syndrome de Meckel-Gruber associant une encéphalocèle, une dysplasie rénale multikystique, des anomalies du développement hépatique et fréquemment une polydactylie postaxiale (12).

Les cils mobiles sont quant à eux impliqués dans l'écoulement et la génération de mouvements des fluides. Une atteinte de ces mécanismes peut être à l'origine d'anomalies de la clairance du mucus, de la latéralité, de la fertilité et du développement cérébral (9). Nous pouvons citer comme exemple la dyskinésie ciliaire primitive, caractérisée principalement par des défauts de la latéralité, une atteinte des voies aériennes inférieures et supérieures et une infertilité. De nombreuses protéines interviennent dans le fonctionnement des cils mobiles, impliquant ainsi une quarantaine de gènes (13). En anténatal, une atteinte de ces cils peut être à l'origine d'hétérotaxie cardiaque ou d'un *situs inversus* comme dans le syndrome de Kartagener (13).

Nous pouvons donc voir que l'origine des malformations congénitales peut être variée sur le plan génétique. Principalement provoquées par des anomalies chromosomiques et donc multigéniques, elles peuvent également impliquer un gène unique aux fonctions multiples et

précoces. L'expression phénotypique est alors variable, allant de la forme postnatale compatible avec la vie à une létalité précoce *in utero*.

iii. Causes multifactorielles

Les maladies multifactorielles, appelées également maladies polygéniques ou à hérédité complexe, sont dues à la contribution simultanée de facteurs génétiques et non génétiques. Les variations ne sont alors pas délétères à elles seules, mais confèrent une susceptibilité accrue à la maladie selon l'interaction de l'individu avec son environnement (14). Cela concerne par exemple le diabète, l'obésité, l'asthme, les maladies auto-immunes, les pathologies psychiatriques...

Les MCM peuvent, elles aussi, être la conséquence de variations géniques modulées par des facteurs non génétiques comme le montre l'exemple du déficit en nicotinamide adénine dinucléotide (NAD). Il s'agit d'un cofacteur présent dans toutes les cellules vivantes, et intervenant dans de nombreuses réactions métaboliques. Durant l'embryogenèse précoce, le NAD produit provient exclusivement du métabolisme cellulaire embryonnaire. Lorsque les échanges via le placenta sont mis en place, il provient également de l'alimentation maternelle.

Une étude récente a été menée chez des fœtus présentant des MCM rentrant dans la séquence VACTERL. Le séquençage du génome fœtal a mis en évidence un nouveau mécanisme de MCM : des variations bi-alléliques chez le fœtus ont été retrouvées dans les gènes *HAAO* ou *KYNU*, impliqués dans le métabolisme du NAD. Les études chez le modèle murin ont pu démontrer que le déficit en NAD embryonnaire était à l'origine de malformations et d'une létalité embryonnaire précoce. Une supplémentation dès le début de la gestation en acide nicotinique permettait de prévenir ces malformations avec un effet dose-dépendant (15).

Ainsi, nous avons la démonstration que l'effet de certaines variations génétiques peut être modulé par des facteurs non génétiques, ici l'alimentation maternelle apportant du NAD. Un schéma comparable plus connu de nos jours est celui de l'acide folique, dont la carence au cours d'une grossesse peut être à l'origine d'absence de fermeture du tube neural et de retard de croissance.

Cette carence est prévenue par l'apport systématique de vitamine B9 avant et pendant les 2 premiers mois de toute grossesse. Néanmoins dans ce cas, aucune anomalie génétique récurrente n'a été clairement identifiée comme étant à l'origine des anomalies de fermeture du tube neural.

b. Causes non génétiques

Des causes non génétiques, notamment médicamenteuses et infectieuses, peuvent être également à l'origine de MCM. Nous prendrons l'exemple de l'acide rétinoïque, des antivitamines K et de la rubéole.

i. *L'acide rétinoïque*

L'acide rétinoïque (AR) est une molécule synthétisée à partir du rétinol (vitamine A). Il intervient dans la régulation de la transcription de gènes cibles par formation d'un complexe composé d'un récepteur nucléaire de l'acide rétinoïque (RAR) lié au ligand avec un récepteur X des rétinoïdes (RXR) attaché à l'élément de réponse à l'acide rétinoïque (RARE). Les rétinoïdes régulent ainsi l'expression de gènes *HOX* de manière temps- et dose-dépendante (16).

Chez la souris, un apport excessif d'acide rétinoïque provoque des fentes palatines, une micrognathie, une troncature des membres antérieurs et postérieurs, et des défauts d'ossification des os de la calvaria. A contrario, une carence en vitamine A entraîne également chez la souris la survenue de malformations multiples (fentes palatines, syndactylies, malformations cérébrales, digestives, rénales, oculaires, de l'oreille interne...). Un taux approprié d'AR est donc crucial pour un développement embryonnaire murin normal (17).

Chez la femme, durant les 2 premiers mois de la grossesse principalement (période embryonnaire), l'apport en isotrétinoïne, dérivé de synthèse de la vitamine A notamment utilisé dans le traitement de l'acné, peut avoir un effet tératogène par modification de la migration et de la différenciation cellulaire. Les malformations pouvant être observées chez le fœtus sont les suivantes : microcéphalie, hydrocéphalie, anomalies cérébelleuses et corticales, anomalies craniofaciales

(oculaires et auriculaires, fente palatine, micrognathie, hypertélorisme...), cardiopathies (tétralogie de Fallot, défaut septal, transposition des gros vaisseaux et hypoplasie de l'arc aortique), ou encore thymiques (hypoplasie voire aplasie, ectopie) (18).

La carence en vitamine A chez la femme serait également associée à la survenue de MCM, et a été proposée comme étiologie du syndrome PAGOD (Pulmonary hypoplasia, AGonadism, Omphalocele, Dextrocardia and Diaphragmatic defect) associant des anomalies cardiovasculaires, une hypoplasie pulmonaire, des anomalies diaphragmatiques et génitales (19).

Ainsi, chez l'être humain, un apport excessif de vitamine A durant la période embryonnaire peut induire des MCM. La carence pourrait également avoir un potentiel malformatif, mais ceci reste à confirmer.

ii. Les antivitamines K (AVK)

La vitamine K est un cofacteur enzymatique permettant la γ -carboxylation de protéines, tels les facteurs de coagulation II, VII, IX, X, permettant leur participation dans la cascade de la coagulation. Elle participe également au développement osseux en permettant la γ -carboxylation de l'ostéocalcine. La vitamine K étant produite par des bactéries du tube digestif, les carences sont exceptionnelles, et il n'est donc pas rapporté de malformations fœtales dans cette situation. Cependant, la warfarine est un anticoagulant bloquant l'enzyme vitamine K epoxide reductase. L'embryopathie à la warfarine est bien décrite, caractérisée par une hypoplasie nasale, une chondrodysplasie ponctuée, des phalanges distales hypoplasiques, et parfois une atrésie des choanes, des fentes palatines, des membres courts, ainsi que des malformations congénitales cardiaques, urogénitales, vertébrales et cérébrales. L'explication résiderait dans l'absence de maturation des protéines vitamine K-dépendantes contenant des résidus γ -glutamyl-carboxylés telle que l'ostéocalcine (20).

iii. *Le virus de la rubéole*

Le syndrome de rubéole congénitale est l'embryofoetopathie infectieuse la plus anciennement connue. Lors d'une infection maternelle survenant principalement au cours des dix premières semaines de grossesse, elle peut associer chez l'embryon ou le fœtus, une cataracte, une cardiopathie (persistance du canal artériel, sténoses des branches de l'artère pulmonaire, CIA et CIV), une surdité neurosensorielle et des atteintes cérébrales avec microcéphalie, déficience intellectuelle, troubles moteurs.

Plusieurs mécanismes induits par l'infection virale sont proposés pour expliquer ces conséquences:

- Les cellules embryonnaires infectées par le virus ont une activité mitotique réduite, avec un ralentissement des divisions cellulaires pouvant être induit par des cassures chromosomiques ou des ruptures des filaments d'actine du cytosquelette. Ceci pourrait expliquer les anomalies cérébrales et la présence d'organes avec des cellules réduites en taille et en nombre. Cette réduction des mitoses peut en partie être expliquée par le détournement de l'activité mitochondriale dont la production énergétique est mise au profit de la réplication virale ;
- L'augmentation d'interférons et de cytokines peut également entraver la croissance et la prolifération des cellules en cours de différenciation, à l'origine de malformations congénitales ;
- Le niveau d'expression de certains gènes est également impacté. Par exemple, il est abaissé pour des gènes impliqués dans le développement des organes des sens (*CLN8*, *FGFR2*, *FZD3*, *JAG2*, *MYO7A*, *NHS*, *NOG*, *SLC25A27*), et notamment dans le développement de l'œil et de l'oreille (21).

Le *rubivirus* peut donc induire des MCM en perturbant l'activité mitotique, le métabolisme et en modifiant le niveau d'expression génique. Il n'est pas l'unique virus à avoir un effet tératogène. Récemment, le virus Zika a également été tenu pour responsable d'anomalies du développement

cérébral avec microcéphalie chez les fœtus de femmes infectées. D'autres malformations ont également été rattachées à cette infection, comme la survenue d'arthrogrypose ou encore d'anomalies oculaires (22). L'infection maternelle à SARS-CoV-2 ne serait quant à elle pas responsable de MCM chez les fœtus (23).

Les causes non génétiques à l'origine de la survenue de MCM sont donc variées, et peuvent d'ailleurs se combiner à des facteurs génétiques. Les infections virales ou la prise de médicaments à potentiel malformatif durant la grossesse ne doivent pas faire exclure une intervention génétique supplémentaire, et inversement.

III. GENETIQUE ET ETHIQUE

1. L'étude du développement de l'embryon humain

L'étude du développement embryonnaire chez l'Homme est possible, mais strictement encadrée par la loi n° 2021-1017 du 2 août 2021 relative à la bioéthique. En effet, les articles 20 à 22 définissent ce qui est autorisé ou non concernant "les recherches sur l'embryon, les cellules souches embryonnaires et les cellules souches pluripotentes induites".

La loi précise qu'un protocole de recherche sur embryon humain ne peut être autorisé que si la pertinence est établie, s'inscrit dans une finalité médicale ou vise à améliorer les connaissances de la biologie humaine. Elle doit se faire dans le respect des principes fondamentaux du Code Civil, ainsi que les principes éthiques. Aucune intervention ayant pour objet de modifier le génome des gamètes ou de l'embryon ne peut être entreprise, et l'embryon devra être détruit passé un délai maximum de 14 jours après fécondation. Les embryons sont dans ce cas des embryons excédentaires suite à une

fécondation *in vitro* réalisée dans le cadre d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP), et ne font plus l'objet d'un projet parental (24).

Ainsi, afin d'étudier plus facilement les phases précoces du développement, des modèles, animaux ou non, sont largement utilisés.

2. Exemples de modèles pour l'étude du développement

Différents modèles animaux sont disponibles pour l'étude de la biologie du développement. Chacun présente des avantages qui lui sont propres, permettant d'étudier plus spécifiquement certains processus. Les deux modèles ancestraux sont la drosophile et la souris.

- La drosophile, *Drosophila melanogaster*, est le plus ancien modèle utilisé pour la recherche en génétique. Elle a apporté la preuve définitive que les gènes étaient portés par des chromosomes. Elle présente un temps de génération très court, un taux de fécondité élevé, et un développement externe facilement accessible. Les gènes régulateurs du développement ont pu être identifiés grâce à ce modèle, en étudiant le phénotype associé à certaines mutations, comme les gènes *Hox* (25).
- La souris domestique, *Mus musculus*, est le premier modèle mammifère qui a été utilisé afin de démontrer les lois de Mendel. Elle permet d'étudier les étapes précoces du développement, comme le clivage et la post-gastrulation (26).
- Le poisson zèbre, *Danio rerio*, est intéressant par son cycle de vie de 90 jours, son développement embryonnaire ultra rapide, la facilité de réalisation de lignées transgéniques, et son potentiel de régénérescence complète de plusieurs organes adultes et embryonnaires. Son corps transparent durant son développement larvaire permet d'en faciliter l'étude (27).

A côté des modèles animaux, des modèles *in vitro* ont été développés afin d'étudier certaines étapes du développement embryonnaire des mammifères, dont l'Homme. Prenons l'exemple de la gastrulation, processus à l'origine de la mise en place du plan corporel, précoce et difficile à étudier. Un modèle d'étude appelé "gastruloïde" a été récemment généré à partir de cellules souches

embryonnaires prétraitées avec un agoniste WNT, Chiron. Ce gastruloïde est un agrégat multicellulaires 3D, capable de se différencier en cellules mésodermiques, neuroectodermiques et endodermiques. Grâce à ce modèle, les chercheurs ont pu étudier l'élongation du gastruloïde selon l'axe antéropostérieur, et notamment l'expression génique (28).

Ainsi, afin de s'affranchir des limites imposées par la loi concernant l'étude du développement chez l'embryon humain, les modèles animaux sont largement utilisés et de nouveaux modèles *in vitro* sont développés. Ceux-ci permettent d'étudier les différentes étapes du développement, en s'approchant au plus près de la réalité du développement chez l'Homme.

3. Les grandes classes de gènes du développement

Le développement d'un organisme pluricellulaire à partir d'une seule cellule est un processus complexe. Les études menées chez les modèles ont permis d'identifier une partie des gènes du développement. Ils appartiennent à des classes fonctionnelles variées, comme des ligands, des récepteurs, des transporteurs, des molécules d'adhésion cellulaire, de transduction du signal... Ils interviennent dans de nombreux processus, tels que l'établissement de la polarité antéropostérieure et dorso-ventrale, de la latéralité, la mise en place du schéma corporel, la spécificité des cellules et des territoires.

Nous avons choisi de séparer les gènes du développement en deux grandes classes, selon leur appartenance au génome maternel ou au génome foetal.

a. Les gènes du génome maternel à expression embryonnaire

i. Généralités sur les gènes à effet maternel (maternal effect genes, MEG)

Le processus de fécondation conduit à l'association de 2 génomes haploïdes par réunion du spermatozoïde et de l'ovocyte. Quelle que soit l'espèce, aucune activité de transcription n'est observée au début du développement embryonnaire. Les premières divisions sont alors sous la dépendance des ARN messagers (ARNm) et protéines d'origine maternelle, synthétisés pendant

l'ovogenèse et présents dans le cytoplasme du zygote. Ainsi, les premiers stades du développement sont sous la dépendance de facteurs déterminés, les MEG.

Les MEG sont des gènes du génome maternel ayant un impact sur le développement embryonnaire précoce. Ils sont impliqués dans de nombreux processus, comme l'assemblage du cytosquelette, la méthylation de l'ADN, la régulation de la structure chromatinienne...

Aujourd'hui, 82 MEG ont été identifiés chez les mammifères. Parmi ceux identifiés chez l'Homme, 8 gènes seraient à l'origine de malformations fœtales. Ils sont impliqués dans la mise en place des marques de méthylation de l'ADN et de l'empreinte parentale. Dans ces cas, les variations hétérozygotes ou bi-alléliques sont présentes dans le génome maternel et ont pour conséquences des pertes post-implantatoires, une létalité embryonnaire précoce, des MCM (à type de non fermeture du tube neural, anomalies cardiaques et cérébrales, œdèmes péricardiques, malformations des membres et craniofaciales), ainsi que des perturbations de l'empreinte pouvant toucher divers loci (multilocus imprinting disturbances, MLID). Ces malformations surviennent alors chez des zygotes à génome "normal" (29).

ii. Focus sur NRLP7

Le gène *NRLP7* (Nucleotide-binding, Leucine-rich Repeat, Pyrin domains containing 7) est le premier MEG identifié dans le génome humain. Il code pour une protéine de la famille CATERPILLER, groupe de capteurs intracellulaires des pathogènes microbiens et viraux, impliqués dans les voies apoptotiques et inflammatoires.

NRLP7 aurait une action anti-inflammatoire ainsi qu'un rôle dans le développement embryonnaire préimplantatoire par son implication au sein du complexe maternel sous-cortical (subcortical maternal complex, SCMC). Ce complexe multi protéique est exprimé dans l'ovocyte et l'embryon à un stade précoce, et assume de multiples fonctions dans les premières étapes du développement (formation et positionnement des fuseaux, distribution des organelles, reprogrammation épigénétique, traduction...).

Les variations bi-alléliques de *NRLP7* dans le génome maternel sont à l'origine de mûles hydatiformes. Elles correspondent à un développement embryonnaire anormal avec excès de prolifération du trophoblaste, et sont caractérisées par une perte complète des marques de l'empreinte maternelle. Sont également rapportés des fausses-couches spontanées à répétition et des MLID. Finalement, peu de grossesses arrivent à terme. La littérature retrouve le cas d'un nouveau-né présentant un MLID et une cardiopathie associant une CIA et une CIV, laissant émerger l'hypothèse d'un caractère malformatif des mutations (30), (31).

Enfin, il est à noter que ce type de variations, présentes dans le génome maternel, sont importantes pour le conseil génétique, puisqu'elles ouvrent la voie au don d'ovocyte. Concernant *NRLP7*, 6 grossesses ont été observées en présence de variations bi-alléliques pathogènes : 3 par don d'ovocytes en présence de variations faux-sens, et 3 grossesses spontanées en présence de variations d'épissage bi-alléliques, laissant l'isoforme mineure intacte (32).

Dix autres MEG ont été identifiés dans notre espèce. Les études les concernant étant encore préliminaires et peu nombreuses, l'implication réelle de ces gènes dans le développement et la survenue de malformations n'est pas encore bien connue. Il reste néanmoins certain que les variations de ces gènes ne peuvent pas être dénuées d'impact sur le développement embryonnaire.

Progressivement, les ARNm maternels sont détruits, imposant la mise en route des gènes exprimés par le génome de l'embryon: c'est l'activation du génome embryonnaire (embryonic genome activation, EGA).

Elle se déroule en deux phases:

- La phase mineure, au stade 4 cellules, ne nécessitant pas de facteurs de transcription ;
- La phase majeure, au stade 8 cellules, où la synthèse de transcrit augmente rapidement.

Au terme de ces deux phases, l'embryon prend le contrôle de la poursuite de son propre développement (33).

b. Les gènes du génome embryonnaire à expression précoce

Les étapes suivantes du développement vont être sous la dépendance des gènes exprimés à partir du génome embryonnaire. Parmi eux, nous pouvons aborder les gènes homéotiques. Ils ont été découverts grâce aux phénotypes associés à leurs mutations, produisant une *homéose*, c'est-à-dire, l'apparition d'un organe bien formé, mais au mauvais endroit. Également appelés "gènes architectes", ils sont indispensables au développement normal de tout organe.

L'embryogenèse précoce va permettre la création du plan corporel, passant par la mise en place des axes, et par l'intervention de gènes architectes, faisant intervenir des gènes spécifiques.

i. *La mise en place des axes*

Différentes voies moléculaires participent à la mise en place des axes au cours du développement embryonnaire.

Les protéines BMP (bone morphogenetic protein) sont fortement impliquées dans la mise en place de l'axe dorso-ventral chez les vertébrés. Juste avant la gastrulation, l'activité BMP établit un gradient ventral (activité haute) à dorsal (activité basse):

- Au niveau ectodermique, une faible activité sur la face dorsale permet aux cellules d'acquérir un destin neuroectodermique, les autres cellules prenant un destin épidermique ;
- Au niveau mésodermique, la faible activité BMP spécifie des destinées dorsales, donnant par exemple les somites, alors qu'une haute activité BMP spécifie des destinées ventrales, à l'origine des lames latérales (34).

D'après des études du développement embryonnaire chez le poisson zèbre, les facteurs Activine/Nodal sont impliqués dans la mise en place de l'axe antéropostérieur, passant par l'établissement d'un gradient d'activité Activine/Nodal maximal à la marge de la blastula et décroissant progressivement en direction du pôle animal. Ainsi, les structures dérivant des territoires les plus marginaux sont induites par de fortes concentrations alors que celles dérivant du pôle animal

se développent en l'absence de stimulation. Les territoires intermédiaires sont déterminés en fonction de la stimulation des cellules par le gradient d'activité (35).

Enfin, les études murines concernant la polarité droite-gauche révèlent qu'elle résulterait d'un processus impliquant l'induction d'un signal asymétrique au niveau du nœud embryonnaire: la rotation de cils serait à l'origine d'un flux Nodal, orienté de la droite vers la gauche. L'expression de Nodal deviendrait ainsi plus intense du côté gauche, activant par la suite de façon asymétrique une série de gènes permettant la traduction du signal en une asymétrie morphologiques au cours de l'organogenèse (36).

ii. Exemples de gènes architectes

Les gènes homéotiques *HOX* ont initialement été identifiés par leur rôle majeur dans la segmentation de la drosophile, et sont extrêmement conservés au cours de l'évolution.

Ce groupe de facteurs de transcription à homéodomaine contrôle l'organisation de l'embryon selon l'axe antéropostérieur, de la région céphalique à la région caudale.

Ils s'organisent en 39 gènes répartis en 4 clusters (A, B, C, D) sur 4 chromosomes différents. Cette organisation leur permet de partager un espace nucléaire, la structure chromatinienne, et des éléments de régulation. L'ordre de cet alignement reflète la position des parties du corps que ces gènes contrôlent. On parlera alors de colinéarité spatiale, temporelle, et quantitative (37).

Ces gènes ont une implication en pathologie humaine. Par exemple, des mutations gain de fonction du gène *HOXD13* sont à l'origine de syndrome de transmission autosomique dominante, associant des brachydactylies, syndactylies, et synpolydactylies (38).

Les gènes *PAX* constituent une catégorie distincte de celle des gènes *HOX*, et ne sont pas considérés comme des gènes homéotiques.

Nous comptons 9 gènes *PAX* chez l'Homme (et la souris), numérotés de 1 à 9, classés en 4 groupes fondés sur les homologies de séquence (*PAX3/7*; *PAX4/6*, *PAX1/9*, *PAX2/5/8*), leur conférant une activité fonctionnelle redondante.

Les travaux réalisés chez les souris montrent que ces gènes interviennent dans la mise en place du système nerveux central, du dermamyotome (qui donnera le derme du tronc et les muscles de la colonne vertébrale), du sclérotome (destiné à former les vertèbres), la formation de l'œil, et interviennent également dans la différenciation des cellules pancréatiques, musculaires, gonadiques, dentaires... (39), (40).

Prenons l'exemple de *PAX6*. Ce gène contrôle l'activation en cascade de plus de 2500 autres gènes afin d'aboutir à la formation de l'œil chez de nombreuses espèces. Chez l'Homme, les mutations de *PAX6* sont à l'origine de phénotype oculaire à type d'aniridie, dysgénésie du segment antérieur, cataracte avec dystrophie cornéenne, hypoplasie fovéolaire, kératite, hypoplasie et colobome du nerf optique, tous de transmission autosomique dominante (41).

Ainsi, les différents processus du développement embryonnaire sont sous la dépendance de nombreux gènes, conservés au cours de l'évolution entre les espèces, maternels ou fœtaux, et dont les modalités d'expression sont finement régulées. Leur caractère redondant, l'organisation en cluster, les temporalités d'expression, la réalisation de gradient de concentration sont des caractéristiques particulières de ces gènes, indispensables au développement normal d'un embryon. Intervenant donc de manière précoce dans le développement embryonnaire, une atteinte de ces gènes pourra être à l'origine de MCM chez l'embryon. Le phénotype dépendra alors du degré d'implication du gène en cause dans le développement.

IV. OUTILS DISPONIBLES POUR EXPLORER LES CAUSES GENETIQUES DES MALFORMATIONS CONGENITALES MULTIPLES

Nous avons donc pu voir que les MCM pouvaient être de causes multiples et variées (génétiques, tératogéniques, infectieuses...). Une modulation peut être jouée par des facteurs externes (l'alimentation par exemple), mais également internes (le génome maternel, la température, un diabète...).

Devant ce caractère multifactoriel, une question récurrente est celle de la part réellement attribuable à la génétique. Des investigations approfondies dans un contexte de MCM offrirait d'une part la possibilité de découvrir de nouveaux gènes associés au développement embryonnaire, et non décrit en postnatal du fait de leur létalité précoce. Et d'autre part, cela permettrait d'élargir le spectre phénotypique de gènes connus en postnatal, mais peu décrit en prénatal ou dont l'expression est différente.

Aujourd'hui, lors de la mise en évidence de MCM aux décours des échographies obstétricales, à côté des prélèvements biochimiques et infectieux, la stratégie est de réaliser une ACPA, complétée selon le contexte par un caryotype.

L'analyse par séquençage du génome est actuellement accessible aux cliniciens uniquement dans des indications particulières préalablement définies. Cependant, le coût demeure élevé, le nombre de plateforme est restreint, et le délai de rendu des résultats est parfois trop long dans ces situations où un conseil génétique est attendu rapidement.

C'est donc une approche par séquençage de l'exome en trio, technologie disponible dans un laboratoire autorisé pour le diagnostic et aux avantages abordés plus loin, que nous avons décidé de mettre en œuvre pour la réalisation de ce projet.

V. CONTRIBUTION DE L'EXAMEN DE FŒTOPATHOLOGIE ET DU SÉQUENÇAGE DE L'EXOME AUX MALFORMATIONS CONGÉNITALES MULTIPLES

Les malformations congénitales multiples (MCM) sont des malformations présentes à la naissance, impliquant au moins 2 systèmes anatomiques distincts. Elles concernent 2 à 3% des naissances vivantes, et 20% des décès périnataux (1).

Lors de l'observation de MCM aux imageries anténatales, la stratégie actuelle consiste à réaliser un prélèvement invasif (principalement choriocentèse ou amniocentèse), sur lequel sera recherché une anomalie du nombre et/ou de la structure des chromosomes par ACPA et/ou caryotype. Dans ce contexte de MCM, une anomalie chromosomique est retrouvée dans près de 30% des cas (42), et l'ACPA met en évidence de plus petits remaniements déséquilibrés dans 6 à 7% des cas supplémentaires (43). Ainsi, près de 60 à 70% des fœtus présentant des MCM demeurent sans diagnostic à l'issue de ces examens de première intention.

Le séquençage de l'exome permet d'étudier l'ensemble des séquences codantes et des jonctions exons/introns des gènes connus dans le génome humain, qu'ils soient impliqués en pathologie humaine ou non. L'analyse de l'exome postnatal dans le cadre de malformations congénitales permet un rendement positif dans 25 à 30% des cas (44), (45). Devant l'amélioration des performances, notamment en terme de temps de rendu de résultat, son utilisation en diagnostic prénatal est en plein essor.

Sur le plan génétique, nous avons pu voir précédemment que certains gènes sont clairement identifiés comme étant à l'origine de MCM. D'autres sont associés à des phénotypes postnataux bien connus, mais sont pas ou peu décrits en prénatal, avec parfois des phénotypes extrêmes ou atypiques. Une hypothèse qui reste à démontrer serait que certains gènes, par leur implication dans

le développement de plusieurs systèmes, seraient à l'origine d'une létalité précoce, restant ainsi à découvrir.

Une des limites du séquençage de l'exome en prénatal est le manque de description précise clinique, le biologiste ayant accès uniquement aux données des imageries anténatales. L'examen de fœtopathologie, non systématiquement réalisé, permet de préciser voire corriger les anomalies décrites à l'imagerie fœtale et d'élargir la description des spectres phénotypiques. En outre, dans le cas des MFIU et des IMG, la réalisation d'une autopsie systématique en complément des imageries prénatales pourrait apporter une aide à l'interprétation de certaines variations de signification clinique incertaine ou à la découverte de nouveaux gènes et augmenter ainsi le rendement diagnostic.

Nous avons donc constitué une cohorte de 20 fœtus présentant des MCM et dont les parents ont accepté la réalisation d'un séquençage de l'exome couplé à un examen de fœtopathologie. Nous cherchons ainsi à évaluer l'apport de ces deux examens pour le diagnostic étiologique des malformations congénitales multiples sévères.

1. Matériel et méthode

a. Constitution de la cohorte

Foexome (FOetal EXOme for Malformations Etiological study) est une étude de cohorte française rétrospective multicentrique réalisée entre juillet 2019 et juillet 2021.

Les familles ont été recrutées par des médecins généticiens du Nouvel hôpital Civil de Strasbourg, de l'hôpital Emile Muller de Mulhouse, des Hospices civils de Lyon et du Centre hospitalier et universitaire de Rennes. Les couples ont reçu l'ensemble des informations concernant l'analyse de l'exome, les résultats possibles des examens, les limites du séquençage et de l'interprétation, ainsi que l'absence de rendu des données secondaires ou incidentes. Les fœtus ont été inclus après que chaque membre du couple ait signé un consentement écrit.

Vingt couples ont accepté de participer à cette étude. Les critères d'inclusion étaient les suivants:

- Les fœtus, issus d'IMG, de MFIU, ou de décès périnatal précoce, devaient présenter des malformations congénitales multiples, c'est-à-dire touchant au moins 2 systèmes anatomiques ;
- Les résultats de l'ACPA et/ou du caryotype devaient être non contributifs (normaux ou n'expliquant pas le phénotype observé) ;
- Un examen de fœtopathologie devait être réalisé ;
- L'ADN du fœtus et des 2 parents devaient être disponible en quantité et qualité suffisantes.

b. Recueil des données

i. Histoire familiale et obstétricale

Nous avons sollicité les médecins généticiens et gynécologues-obstétriciens en charge de chaque famille afin de nous fournir des informations complémentaires concernant l'histoire familiale, les antécédents parentaux, et le déroulement de la grossesse actuelle voire des grossesses précédentes.

ii. Examens d'imagerie

Les échographies prénatales ont été réalisées par des gynécologues-obstétriciens travaillant en collaboration avec un centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal (CPDPN), spécialisés dans le suivi des grossesses pathologiques. Si nécessaire, d'autres examens complémentaires étaient réalisés en complément (IRM cérébrales fœtales, scanner osseux fœtaux, échographies cardiaques fœtales).

iii. Caryotypes et ACPA

Les comptes rendus d'examens génétiques, notamment des caryotypes et ACPA, réalisés dans le laboratoire de diagnostic génétique respectif de chaque centre participant, ont été récupérés.

iv. *Examens de fœtopathologie*

Les autopsies complètes ont été réalisées par des médecins anatomopathologistes spécialisés en fœtopathologie des hôpitaux de Hautepierre à Strasbourg, de Pontchaillou à Rennes, ainsi que du centre de biologie et de pathologie Est à Bron. Dans tous les cas, l'examen de fœtopathologie comprenait des examens radiographiques, des photographies, un examen biométrique, un examen externe, un examen interne, un examen du système nerveux central en fonction du contexte, des prélèvements pour histopathologie ainsi que des prélèvements spécifiques en cas de nécessité. En cas de disponibilité, un examen du placenta avec cordon et membranes était pratiqué.

c. Séquençage de l'exome et analyses bio-informatiques

Les séquençages en trio ont été réalisés aux plateformes de séquençage des hôpitaux universitaires de Strasbourg et de Lyon.

i. *Recueil des échantillons d'ADN*

L'ADN fœtal a été extrait à partir du liquide amniotique, des villosités choriales, du sang de cordon fœtal ou de tissus congelés (reins ou poumons), en utilisant les kits *QIAamp DNA Blood* (Qiagen), *Flexigene* (Qiagen) ou *Chemagix Prepito* (Perkin Elmer) selon les protocoles fournis. L'ADN parental a été extrait du sang périphérique, en utilisant les kits *QIASymphony* (Qiagen), *Flexigene* (Qiagen) ou *Nucleospin Blood* (Macherey-Nagel).

Les concentrations d'ADN ont été déterminées par Qubit, en utilisant les kits *Qubit dsDNA broad range assay* ou *dsDNA high sensitivity assay*.

La bonne identité des échantillons et l'exclusion d'une contamination maternelle du prélèvement fœtal ont été réalisées en utilisant les kits *STR Promega PowerPlex 16 HS*, *QST*Rplusv2 Elucigene* ou *AmpFLSTR Identifier Plus Thermo Fisher Scientific*.

ii. Préparation des librairies et séquençage

Les régions exoniques et jonctions exon-intron ont été capturées à partir de 50 ng d'ADN génomique en utilisant le kit *Human Core Exome et Refseq* (Twist Biosciences) à Strasbourg et *SeqCap EZ MedExome* (Roche) à Lyon, selon les protocoles fournis.

Brièvement, l'ADN génomique du trio a été fragmenté par digestion enzymatique et des adaptateurs indexés ont été liés aux fragments d'ADN. Les librairies d'ADN génomique indexé ont été amplifiées par PCR (45 sec à 98°C ; [15 sec à 98°C, 30 sec à 60°C, 30 sec à 72°C] x 10 cycles; 1 min à 72°C). Les librairies indexées amplifiées ont été purifiées, et une électrophorèse capillaire a permis la vérification de la qualité et la quantification. Un total de 1.5 µg de 9 librairies indexées « poolées » (167 ng chacune) a été hybridé aux sondes d'ADN double-brin biotinylé du panel (36,8 Mb de régions codantes pour des protéines hautement conservées) à 70°C pendant 16h. Les librairies ainsi capturées ont été amplifiées par 8 cycles de PCR, purifiées, et une nouvelle électrophorèse a permis une vérification de la qualité et la quantification.

Le séquençage a été réalisé sur plateformes *Illumina HiSeq4000* et *NextSeq500* en lecture paired-end 100-base pair (bp) reads selon les indications fournies par *Illumina*. La génération des reads et le démultiplexage ont été réalisés en utilisant les logiciels RTA 2.7.7 et bcl2fastq 2.17.1.14. Les données de qualité de chaque lecture étaient obtenues par génération de statistiques de contrôle qualité grâce au logiciel FastQC.

iii. Pipeline bio-informatique

Les reads étaient alignés sur le génome de référence (GRCh37/hg19) grâce à l'outil *Burrows-Wheeler Aligner* (BWA-mem Version 0.7.17).

Des duplicats de PCR ont été marqués en utilisant l'outil *Picard* (<http://broadinstitute.github.io/picard/>).

L'outil *GATK HaplotypeCaller* (<https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us>) a permis de caller les SNV et indels. A Lyon, les annotations ont été réalisées en utilisant des outils *SnpEff* et *SnpSift*

(<https://pcingola.github.io/SnpEff/index.html>). A Strasbourg, le fichier *VaRank* (<https://www.lbgi.fr/VaRank/>) a permis d'incorporer directement les annotations d'*Alamut-HY* (effet présumptif sur la protéine, scores de conservation, prédictions des sites d'épissage, fréquence allélique dans la cohorte de patients et de contrôles). A Strasbourg, les CNV ont été de plus détectés en utilisant le fichier *CANOE* (<https://github.com/ShenLab/CANOES>) et rankés à l'aide du logiciel *AnnotSV* (<https://lbgi.fr/AnnotSV/>) (Geoffroy *et al.*, 2018). A Lyon, ce type de variation a été analysé uniquement par ACPA.

iv. *Interprétation des variations*

Pour l'analyse des SNV et des indels, les interfaces *Varank* et *Papillyon* ont permis de donner accès à de nombreuses bases de données à libre accès (*gnomAD* (Karczewski *et al.* 2020), *Clinvar* (Landrum *et al.*, 2020), *OMIM* (Amberger *et al.*, 2019) ainsi qu'à des bases de données internes, ou concernant l'impact protéique, les prédictions d'épissage, le statut de la variation.

Les critères de filtration suivant ont été appliqués afin de se focaliser sur les variants potentiellement pathogéniques: fréquence allélique de la base interne <2%, fréquence allélique *gnomAD* <1%, count homozygote *gnomAD* <2. Toutes les variations présentes dans des gènes référencés dans OMIM ou non, prédites comme affectant la protéine, ont été analysées.

L'interprétation biologique des variations s'est faite selon les critères standards décrits par les recommandations de l'ACMG (Richards *et al.*, 2015 ; Riggs *et al.*, 2020). Les résultats étaient analysés par 2 biologistes indépendants. Les fichiers .bam ont été regardés pour chaque variation et les variations douteuses ont été confirmées par analyse moléculaire standard avant toute analyse biologique (moins de 10 reads présentant la mutation pour un SNV, doute sur le caractère *de novo*, présence d'un biais de brin, délétion ou duplication douteuse...).

Pour les CNV, l'analyse cytogénétique comprenait l'utilisation de *Database of Genomic Variants* (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>), la revue du mode de transmission, de la récurrence, et du contenu en gènes.

Les SNV et petites indels étaient analysés suivant leur mode de transmission (autosomique dominant ou lié à l'*X de novo*, autosomique dominant transmis en cas de pénétrance incomplète ou suspicion de mosaïque parentale, maternelle liée à X pour les cas index masculin, homozygotes ou hétérozygotes composites pour le mode de transmission autosomique récessif). Cette approche nous a permis de s'assurer que les variations co-occurentes étaient bien identifiées.

d. Etudes fonctionnelles

Une étude des conséquences sur l'épissage d'une variation intronique du gène *ACTN2* a été réalisée au laboratoire de biologie médicale de Bron par technique *Minigene*.

Une technique de reverse transcription et de séquençage de l'ARN a été réalisée au laboratoire de diagnostic génétique de Strasbourg pour l'étude d'une variation intronique du gène *EPHB4*. Nous avons procédé à l'extraction de l'ARN à partir de poumon congelé du cas index et de 2 cas témoins en utilisant la technique au TRI Reagent pour la lyse, puis du Chloroforme et de l'Isopropanol pour la précipitation d'ARN. Nous avons analysé la qualité de l'ARN extrait en utilisant une puce RNase fournit par le kit *Agilent RNA 6000 Nano Reagent Part 1*. Nous avons réalisé une RT-PCR en 2 temps, en procédant d'abord par une reverse transcription avec des hexamères, des amorces oligos dT et l'enzyme SuperScript II. Ensuite, nous avons effectué une PCR classique après mise au point d'un couple d'amorces spécifiques à l'aide de l'outil *AmpliFix*.

2. Résultats

a. Caractéristiques générales de la cohorte

Vingt fœtus répondant aux critères d'inclusion et leurs parents ont participé à cette étude. Ils présentaient des MCM, mises en évidence lors des imageries prénatales, sauf pour 1 cas dont l'ensemble du phénotype a été décrit en postnatal. Les résultats de l'ACPA et/ou du caryotype étaient non contributifs. L'examen de fœtopathologie a été réalisé pour chacun d'entre eux. La

quantité et la qualité de l'ADN étant suffisantes, tous les fœtus ont pu bénéficier d'un séquençage de l'exome en trio.

L'âge gestationnel moyen lors de l'examen de fœtopathologie était de 25 semaines d'aménorrhée (SA) (allant de 11+6 SA à 39+6 SA). La majorité des fœtus était issue d'IMG (n=16, soit 80%), auxquelles s'ajoutaient 3 MFIU (15%) et 1 décès périnatal à quelques heures de vie (5%). Quinze sujets étaient de sexe féminin (75%) et 5 de sexe masculin (25%). Une consanguinité parentale était présente pour deux fœtus de la cohorte (10%).

b. Description phénotypique des fœtus

Les descriptions des phénotypes étaient obtenues des imageries prénatales et de l'examen de fœtopathologie. Nous avons pris l'initiative de regrouper les anomalies dans de grands systèmes anatomiques qui sont liés au cours du développement (tableau 1). Par exemple, nous avons regroupé l'œil, le pharynx, le thymus et les oreilles dans le système « face » étant donné leur développement conjoint. Nous avons également séparé les malformations primaires de celles liées à un contexte fœtal particulier (tableau 2). Le but de cette démarche était d'identifier la ou les malformations originelles chez ces fœtus.

Le tableau 3 résume les phénotypes présentés par les fœtus de la cohorte selon notre classification par grands systèmes anatomiques. Seules les malformations supposées primaires ont été retenues. Ainsi, le nombre moyen de systèmes atteints par fœtus est de 4,7 (allant de 2 à 8). Le système le plus souvent impliqué est la face (16 fœtus, soit 80% des cas) suivi par le système musculosquelettique (13 fœtus, soit 65% des cas) puis par le système rénal et urinaire (12 fœtus, soit 60% des cas). L'ensemble des statistiques concernant les phénotypes est résumé dans le tableau 4.

De prime abord, nous constatons que les anomalies sont très hétérogènes. Il ne semble pas y avoir d'associations malformatives entre certains systèmes. Le nombre de systèmes atteints par fœtus n'est pas corrélé au terme de la grossesse.

TABLEAU 1. Grands systèmes anatomiques sélectionnés et exemples d'anomalies classées dans chacun des systèmes

Grands systèmes anatomiques	Exemples d'anomalies
Système musculosquelettique et membres	Polydactylie, brachydactylie, platyspondylie, agénésie du sacrum
Système nerveux central et périphérique	Agénésie du corps calleux, hydrocéphalie, agénésie du bulbe olfactif, myeloméningocèle
Face (comprenant œil, pharynx, thymus, oreilles)	Anomalie d'orientation de la cornée, éléments de dysmorphie faciale (hyperlétorisme, épicanthus, microtie, racine du nez aplatie, rétrognathie, microstomie...)
Système cardiovasculaire et respiratoire	Anomalie d'Ebstein, communication interventriculaire, interauriculaire, canal atrioventriculaire, anomalies valvulaires, isomérisme pulmonaire, hypoplasie pulmonaire
Système gastro-intestinal	Mésentère commun complet et incomplet, mégadolichocôlon, sténose anale, imperforation de l'anus
Système endocrine	Nodule surrénalien
Système rénal et urinaire	Kystes rénaux, reins en fer à cheval, sténose sous-vésicale de l'urètre
Système génital et gonadique	Micropénis, utérus bifide, atrésie vaginale, ambiguïté des organes génitaux internes et/ou externes
Système lymphatique	Clarté nucale augmentée, hygroma kystique, polysplénie
Annexes embryonnaires	Artère ombilicale unique, petit placenta

TABLEAU 2. Exemples d'anomalies secondaires au contexte fœtal

Contexte clinique fœtal	Exemples d'anomalies
Insuffisance cardiaque	Anasarque avec épanchement pleural et péritonéal, hypoplasie pulmonaire
Hypoxie chronique, liée à une insuffisance cardiaque fonctionnelle ou à une anomalie de vascularisation du cordon et/ou du placenta	Retard de croissance intra-utérin, hypoplasie thymique, hypoplasie des surrénales, cytomégalies surrénaliennes, hypotrophie hépatique, dépôts de fer hépatiques
Anoxie aiguë, pouvant être en lien avec le décès	Infarctus hémorragique central surrénalien
Insuffisance rénale fonctionnelle	Anamnios, hypoplasie pulmonaire
Anomalie du développement thoracique ou hernie diaphragmatique	Hypoplasie pulmonaire, anomalie de développement de l'arbre trachéo-bronchique
Sténose digestive	Hydramnios

TABLEAU 3. Résumé des caractéristiques phénotypiques de la cohorte

N° du fœtus	Issue de grossesse	Terme (SA)	Sexe au caryotype (F/M)	Système musculosquelettique et membres	Système nerveux central et périphérique	Face	Système cardiovasculaire et respiratoire	Système gastrointestinal	Système endocrine	Système rénal et urinaire	Système génital et gonadique	Système lymphatique	Annexes embryonnaires	Nombre de systèmes atteints par fœtus (n)
F1	MFIU	23SA+5	F				•			•				2
F2	IMG	17SA+4	F		•	•		•		•		•		5
F3	IMG	29SA+2	F	•	•							•		3
F4	IMG	32SA+5	F	•	•	•	•			•		•	•	7
F5	IMG	28SA+2	M		•	•					•		•	4
F6	IMG	24SA+3	M			•	•		•			•		4
F7	IMG	18SA+3	F	•		•		•		•	•		•	6
F8	IMG	14SA+2	F	•			•	•				•	•	5
F9	IMG	11SA+6	F	•		•				•				3
F10	IMG	30SA+3	F	•	•	•	•			•				5
F11	DNN	39SA+6	F	•		•		•						3
F12	IMG	32SA+1	F	•		•	•	•		•			•	6
F13	IMG	25SA+5	M		•	•	•				•		•	5
F14	IMG	26SA+0	M	•	•	•		•		•		•		6
F15	IMG	16SA+6	M	•		•	•					•		4
F16	MFIU	16SA+2	F			•	•	•				•		4
F17	MFIU	34SA+5	F	•		•				•	•	•	•	6
F18	IMG	25SA+5	F		•				•	•				3
F19	IMG	25SA+2	F	•	•	•	•			•	•		•	7
F20	IMG	27SA+2	F	•	•	•		•		•	•	•	•	8
Nombre de fœtus atteints par système (n)				13	10	16	10	8	2	12	6	10	9	
Fréquence d'atteinte de chaque système (%)				65%	50%	80%	50%	40%	10%	60%	30%	50%	45%	

Mort fœtale *in utero* MFIU ; Interruption médicale de grossesse IMG ; Décès néonatal DNN ; Semaine d'aménorrhée SA ; Féminin F ; Masculin M

Concernant les résultats des examens de fœtopathologie, des anomalies supplémentaires, majeures ou mineures, ont été rapportées dans l'ensemble des cas. Par ailleurs, cet examen a permis de corriger certaines conclusions de l'imagerie pour 3 des fœtus (soit 15% de la cohorte) :

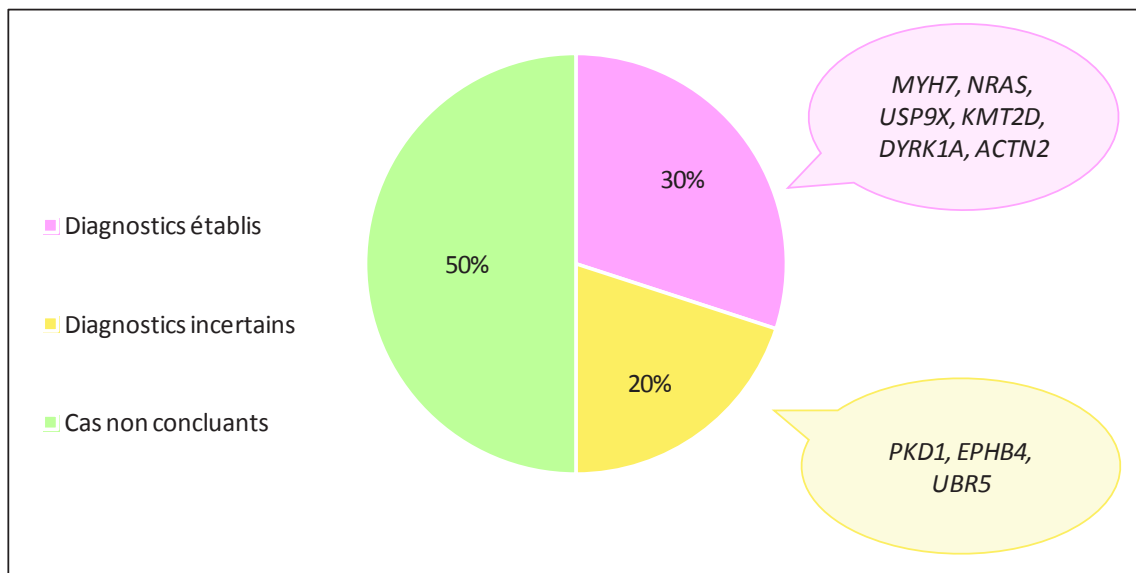
- F1 : agénésie du vermis cérébelleux infirmée par l'autopsie ;
- F3 : corps calleux décrit comme "fin" à l'échographie mais retrouvé normal à l'autopsie ;
- F20 : rein gauche annulaire et rein droit hypoplasique à la dissection alors que l'échographie décrivait des reins en fer à cheval.

c. Résultats du séquençage de l'exome

Le séquençage de l'exome a permis d'établir le diagnostic étiologique définitif chez 6 fœtus de la cohorte (30%) par la mise en évidence de variations de classe 4 ou 5 dans six gènes (*MYH7*, *NRAS*, *USP9X*, *KMT2D*, *DYRK1A* et *ACTN2*). Quatre de ces variations sont de transmission autosomique dominante (*MYH7*, *NRAS*, *KMT2D*, *DYRK1A*), la variation *USP9X* est de transmission dominante liée à l'X, et la variation *ACTN2* est transmise sur un mode récessif par chacun des parents qui présentaient un lien de parenté. Concernant l'hérédité, toutes, sauf une des variations, sont présumées *de novo* puisqu'elles n'ont pas été retrouvées chez les parents.

Quatre fœtus (20% de la cohorte) présentent des variations de signification clinique incertaine impliquant 3 gènes (*PKD1*, *EPHB4* et *UBR5*). Les 10 cas restants (50% de la cohorte) demeurent non résolus à l'heure actuelle. La figure 1 représente le rendement du séquençage de l'exome dans notre cohorte.

FIGURE 1. Statistiques du rendement diagnostique du séquençage de l'exome dans notre cohorte de 20 fœtus présentant des MCM



En classant les fœtus parmi les catégories suivantes : « diagnostics établis », « diagnostics incertains », et « cas non concluants », nous observons que le nombre moyen de systèmes anatomiques atteints est de 4 pour la catégorie « diagnostics établis » et de 5 pour les deux autres

catégories (Tableau 4). Cette analyse a montré que les fœtus les plus malformés n'ont à priori pas plus de chance d'avoir un diagnostic génétique positif.

Concernant les cas dont le diagnostic est établi (n=6), les systèmes les plus impliqués sont le système nerveux central, le système lymphatique et la face, chacun chez 4 fœtus (67%). Concernant les cas incertains (n=4), le système le plus touché est le système musculosquelettique et les membres (100% des cas), suivi par le système rénal et urinaire puis par la face, chacun dans 75% des cas. Enfin, concernant les cas non concluants (n=10), le système le plus atteint est la face (100% des cas), suivi par le système musculo-squelettique et les membres (60%) puis par le système rénal et urinaire (70%). Nous constatons que les anomalies concernant la face sont souvent rapportées, concernant d'ailleurs 80% des fœtus de notre cohorte (tableau 4).

TABLEAU 4. Statistiques concernant le nombre et le type de systèmes anatomiques atteints selon les catégories de résultats du séquençage

Catégories de résultats	Nombre moyen de systèmes atteints (min - max)	Systèmes les plus fréquemment malformés	Fréquence d'atteinte des systèmes (%)
Toutes confondues (n=20)	4,7 (2 - 8)	Face Système musculosquelettique et membres Système rénal et urinaire	80% 65% 60%
Diagnostics établis (n=6)	4 (2 - 7)	Système nerveux central et périphérique Système lymphatique Face	67% 67% 67%
Diagnostics incertains (n=4)	5 (3 - 6)	Système musculosquelettique et membres Système rénal et urinaire Face	100% 75% 75%
Cas non concluants (n=10)	5 (3 - 8)	Face Système musculosquelettique et membres Système rénal et urinaire	90% 70% 60%

Nous allons à présent aborder les résultats obtenus pour chaque fœtus, en les détaillant les uns après les autres. Nous verrons dans un premier temps les fœtus dont le diagnostic est établi, puis ceux ayant un diagnostic incertain. Nous terminerons avec la description phénotypique des cas sans diagnostic à l'heure actuelle.

i. *Les fœtus avec variations pathogènes et probablement pathogènes:
diagnostics établis*

Le séquençage a permis d'établir le diagnostic pour 6 fœtus de la cohorte, en mettant en évidence des variations classées probablement pathogènes (classe 4) ou pathogènes (classe 5) dans six gènes différents (*MYH7*, *NRAS*, *USP9X*, *KMT2D*, *DYRK1A* et *ACTN2*).

Le tableau 5 rapporte un résumé des signes cliniques retenus des imageries prénatales et de l'examen de fœtopathologie pour ces 6 fœtus, une description des variations génétiques retrouvées, ainsi qu'un résumé des phénotypes attendus.

❖ Fœtus 1 (F1) : *MYH7*

F1 est un fœtus de sexe féminin issu d'une mort fœtale *in utero* à 23+5 SA. Il s'agissait du premier enfant d'un couple non apparenté. L'histoire familiale maternelle retrouve un *situs inversus* chez un cousin germain et une surdité congénitale chez plusieurs membres de la famille.

L'échographie réalisée à 22 SA a mis en évidence un RCIU et une anasarque, secondaires à une anomalie d'Ebstein sévère avec fuite tricuspide massive et atrésie pulmonaire fonctionnelle, voire organique. Sur le plan cérébral, l'imagerie décrivait une dilatation modérée des ventricules latéraux et suspectait une agénésie du vermis cérébelleux. Une MFIU a été constatée lors du contrôle échographique ultérieure.

Pour rappel, la malformation d'Ebstein est une cardiopathie congénitale caractérisée par une valve tricuspide anormalement déplacée vers l'avant du ventricule droit (VD) par défaut de clivage de la valve durant la vie fœtale.

L'examen de fœtopathologie précise l'atteinte cardiaque, décrivant une maladie d'Ebstein sévère (oreillette et ventricule droits dilatés, valve tricuspide anormale avec un feuillet septal non délaminé (c'est-à-dire, non dédoublé) et un feuillet antérieur délaminé mais sans cordage ni pilier, et

un feuillet inférieur delaminé partiellement avec un cordage et un pilier), et infirme l'agénésie vermienne. De plus, l'examen décrit un fémur court, une duplication rénale et urétérale droite, un anus béant, un épanchement péritonéal et pleural bilatéral et une hypoplasie pulmonaire. L'histologie rapporte des dépôts d'hémosidérine au niveau des cortex cérébral et surrénalien, une surcharge ferrique hépatocytaire diffuse avec un aspect cirrhotique.

Ainsi, l'histoire foétale hypothétique est la survenue d'une cardiopathie à type d'Ebstein, à l'origine d'une insuffisance cardiaque fonctionnelle et d'anomalies secondaires (anasarque, épanchements avec hypoplasie pulmonaire). L'hypoxie chronique est à l'origine du RCIU avec fémur court, ainsi que de certaines anomalies histologiques. La duplication rénale et urétérale semble plus être une variante de la normale plutôt qu'une réelle malformation.

Le séquençage de l'exome met en évidence une variation au sein du gène *MYH7* (NM_000257.3): c.1640C>T, p.(Thr547Ile), hétérozygote et survenue *de novo*. Ce gène code pour la chaîne lourde de la myosine β , une des protéines motrices du sarcomère, ayant une activité essentielle pour la contraction musculaire du muscle squelettique et du muscle cardiaque. Cette variation touche un acide aminé conservé et est rapportée comme ayant un effet délétère sur la protéine par les logiciels de prédiction SIFT, MutationTaster et PolyPhen-2. Elle n'a jamais été rapportée dans les bases de données de sujets sains (gnomAD) ou atteints (HGMD pro).

Le gène *MYH7* est connu pour être associé à une cardiomyopathie dilatée, de transmission autosomique dominante. Elle peut se manifester par de nombreuses atteintes cardiovasculaires, telles qu'une dilatation du ventricule gauche (VG) et une non compaction du ventricule gauche (NCVG), une insuffisance cardiaque, de l'arythmie ventriculaire, une anomalie d'Ebstein, une régurgitation tricuspide, une CIA, une valve aortique bicuspidie, une coarctation de l'aorte, la survenue d'embolie pulmonaire, une hypoplasie de l'artère pulmonaire. La duplication rénale et urétérale n'est pas décrite.

Dans la littérature, des variations faux-sens et tronquantes ont déjà été rapportées chez des sujets présentant une cardiopathie hypertrophique ou dilatée, une NCVG, ou encore une myopathie.

Nous retrouvons une cohorte de 141 patients non apparentés et présentant une maladie d'Ebstein, dans laquelle le séquençage du gène *MYH7* a retrouvé une variation hétérozygote de ce gène chez 8 patients (6%), dont 7 variations faux-sens et 1 délétion de 3 bp. Quatre variations étaient héritées, 1 *de novo*, et 3 supposées sporadiques (pas d'analyse de ségrégation disponible). D'autres malformations congénitales étaient retrouvées chez ces patients (CIV, CIA, coarctation de l'aorte, bicuspidie aortique, foramen ovale perméable), et six d'entre eux présentaient également une NCVG. Parmi ces 8 cas, 1 était un nouveau-né de 4 mois, et présentait une anomalie d'Ebstein avec une NCVG, une hypoplasie de l'artère pulmonaire, et un shunt aorto-pulmonaire. La variation était héritée de son père, asymptomatique, mais présentant une NCVG lors du contrôle échographique qui a suivi le diagnostic. L'oncle paternel était suivi pour une insuffisance cardiaque. Ainsi, lorsque l'anomalie d'Ebstein est majeure, les manifestations de la pathologie peuvent être très précoces, voire prénatales. Par ailleurs, il est noté une hétérogénéité clinique intrafamiliale et une pénétrance réduite (46).

Nous avons essayé de comprendre comment des variations du gène *MYH7* pouvaient être à l'origine de la maladie d'Ebstein. Ainsi, le cœur humain débute son développement durant la troisième semaine de gestation. Le tube cardiaque initial est formé par une couche myocardique entourée par une couche épicardique externe et une couche endocardique interne. Les couches myocardiques et endocardiques sont séparées par de la matrice extracellulaire (MEC). Au début de la quatrième semaine, des cellules endocardiques vont subir une transformation endothélio-mésenchymateuse, envahissant la MEC, permettant d'initier la formation de la valve mitrale et de la valve tricuspide. Les fibroblastes cardiaques du myocarde en développement dérivent de la transition épithélio-mésenchymateuse de l'épicarde, et fournissent en parallèle les signaux pour le développement des valves atrioventriculaires et du myocarde compacté. Ces deux processus sont

gouvernés par de multiples voies impliquant TGF- β , Wnt, Notch... La valve tricuspide comprend un feuillet antérieur, septal et postérieur. Un trouble de la délamination résultera en une anomalie d'Ebstein, caractérisée par une valve tricuspide déplacée vers la position apicale. Le mécanisme physiopathologique de l'anomalie d'Ebstein et de la NCVG, souvent associées, demeure encore inconnu. Une hypothèse proposée serait que la NCVG provoquerait une arythmie, à l'origine de contractions aberrantes, entravant la contraction apicale, la dépolarisation, et la délamination ultérieure des cellules en cours de transitions épithélio- et endothélio-mésenchymateuses (47).

Cette variation du gène *MYH7* peut ainsi expliquer la malformation d'Ebstein, qui par sa sévérité est à l'origine d'une forme prénatale, sévère et létale. L'ensemble de ces éléments nous ont permis de classer cette variation comme probablement pathogène, de classe 4.

❖ Foetus 2 (F2) : *NRAS*

F2 est un fœtus de sexe féminin, issu d'une IMG à 17+4 SA. Il s'agit de la troisième grossesse d'un couple non apparenté, ayant une fille en bonne santé, suivie par une fausse-couche spontanée précoce. Du côté maternel, nous retrouvons plusieurs cas d'épilepsie ainsi qu'une MFIU chez une grand-mère, sans plus d'information.

L'échographie du 1^{er} trimestre réalisée à 13 SA rapportait un syndrome de Bonnevie-Ullrich, complété par l'observation de pieds bots bilatéraux lors d'une seconde échographie à 16 SA.

L'examen externe de fœtopathologie décrit en complément une dysmorphie faciale (hypertélorisme, oreilles basses implantées, rétrognathie). L'autopsie retrouve une hypoplasie des hémisphères cérébelleux et du vermis, une anomalie d'orientation cornéenne, une fente palatine postérieure, une hypoplasie thymique, un apex cardiaque bifide, un mésentère commun complet, une collection péritonéale et des uretères tortueux.

Le séquençage de l'exome met en évidence une variation au sein du gène *NRAS* (NM_002524.3): c.35G>C, p.(Gly12Ala), hétérozygote, survenue *de novo*. Ce gène code pour une GTPase impliquée dans la régulation des voies MAPK. Elle concerne un acide aminé conservé, et est rapportée délétère par MutationTaster et PolyPhen-2. Elle n'a jamais été rapportée dans gnomAD, mais des variations touchant le même acide aminé p.(Gly12Ser) et p.(Gly12Val) ont déjà été rapportées chez des sujets présentant un syndrome de Noonan. Ce gène est en effet impliqué dans cette pathologie, de transmission autosomique dominante. Le phénotype peut associer une petite taille, une macrocéphalie, une dysmorphie faciale (front haut, oreilles basses implantées, épicanthus, cils longs, fentes palpébrales orientées vers le bas, racine du nez large, pterygium colli), une atteinte cardiovasculaire (cardiomyopathie hypertrophique, sténose pulmonaire), une déformation thoracique, une cryptorchidie, ainsi que des particularités de la peau et des dérivés (hyperkératose, lentigines, taches café-au-lait, cheveux éparses et bouclés). Sur le plan neurologique, il peut exister un retard de développement psychomoteur et une hypotonie. Un hydramnios et une artère ombilicale unique sont également décrits.

Une revue de la littérature décrit le phénotype échographique et autopsique de 16 fœtus présentant un syndrome de Noonan, impliquant 12 variations du gène *PTPN11*, 2 de *RIT1*, une de *NRAS* et une de *RAF1*. Les phénotypes échographiques comprenaient en majorité une hyperclarté nucale (93% des cas), un épanchement pleural (63%), et des anomalies cardiovasculaires (38%). L'examen de fœtopathologie a révélé un épanchement pleural et une hypoplasie pulmonaire respectivement dans 47% et 67% des cas, ainsi que des malformations cardiaques dans 80% des cas. La dysmorphie faciale décrite comprenait principalement des oreilles basses implantées en rotation postérieure, un ptérygium colli, un hypertélorisme, un front haut et large une face aplatie et des narines antéversées. Par ailleurs, des signes cliniques, moins décrits dans la littérature mais retrouvés chez F2, étaient également rapportés dans cette cohorte (pieds bots bilatéraux, hypoplasie cérébelleuse, mésentère commun complet, ce dernier signe lié également à une variation *NRAS*). Mise

à part l'hydrops fœtale qui semble apparaître plus fréquemment avec des variations non *PTPN11*, il ne semble pas y avoir de corrélation phénotype-génotype (48).

La variation a été classée comme probablement pathogène, de classe 4. Cependant, certains signes cliniques de ce fœtus demeurent inexpliqués, tels que l'anomalie d'orientation de la cornée, la fente palatine postérieure et l'apex cardiaque bifide.

❖ Fœtus 3 (F3) : *USP9X*

F3 est de sexe féminin, issu d'une IMG à 29+2 SA. Il s'agit de la première grossesse d'un couple non apparenté, sans antécédent notable.

L'échographie fœtale du 1^{er} trimestre avait mis en évidence une hyperclarté nucale avec des logettes para-cervicales bilatérales, et suspectait une anomalie de la fosse postérieure. L'échographie de contrôle réalisée à 18 SA a permis de visualiser un kyste de la poche de Blake et une dilatation des ventricules latéraux. Lors des échographies suivantes, réalisées à 22 SA et 26 SA, des anomalies supplémentaires étaient décrites, avec un corps calleux paraissant court et fin et une polydactylie bilatérale des mains.

L'examen externe de fœtopathologie précise la polydactylie comme une hexadactylie postaxiale bilatérale des membres supérieurs, et décrit en complément des pieds bots bilatéraux. L'examen du cerveau précise l'anomalie du vermis cérébelleux, correspondant alors à une agénésie partielle, et retrouve un corps calleux sans particularité.

Les malformations cérébrales correspondent à une malformation de type Dandy-Walker, caractérisée par l'association de trois signes: une hydrocéphalie, l'absence partielle ou complète du vermis cérébelleux et un kyste de la fosse postérieure contigu au quatrième ventricule.

Après une étude moléculaire négative des gènes impliqués dans le syndrome de Bardet Biedl, le séquençage de l'exome retrouve une variation du chromosome X, intéressant le gène *USP9X*

(NM_001039590.2): c.5161C>T, p.(Gln1721*), hétérozygote, survenue *de novo*. Cette variation conduit à l'apparition d'un codon STOP prématuré en position 1721 d'une protéine qui compte 2554 acides aminés, emportant un des 2 sites catalytiques. Ce gène présente une forte probabilité d'intolérance à la perte de fonction (pLi=1, pLi pour *probability of being loss-of-function intolerant*). La variation n'a jamais été rapportée chez des sujets sains ou atteints, mais des variations faux-sens et tronquantes ont déjà été identifiées chez des sujets de sexe féminin présentant des malformations cérébrales, squelettiques et urinaires. En effet, ce gène, codant pour une déubiquitinase, est responsable d'une déficience intellectuelle syndromique liée à l'X, dont la forme de transmission dominante touche uniquement les sujets féminins. Ce syndrome se manifeste par une petite taille, des malformations cérébrales (hypoplasie calleuse et hypoplasie cérébelleuse, ventriculomégalie, gyration anormale, malformations de Dandy-Walker), une fossette sacrée, une dysmorphie faciale (asymétrie de la face, front proéminent, bosses bitemporales, philtrum lisse et long, sillons nasogéniens prononcés, oreilles basses implantées en rotation postérieure, petites fentes palpébrales inclinées vers le bas ou le haut, racine du nez large et enfoncée, nez proéminent et bulbeux, ailes nasales évasées), des malformations cardiaques (CIA, persistance du canal artériel (PCA)), des malformations squelettiques (polydactylie postaxiale avec acromicrie, dysplasie et luxation des hanches, scoliose), une cataracte, des anomalies dentaires, une atrésie des choanes, une atrésie anale, une dysplasie rénale avec hydronéphrose, ainsi que des anomalies thyroïdiennes. Des troubles de la pigmentation selon les lignes de Blaschko sont habituellement décrits, mais sont non visibles durant la période fœtale, la pigmentation n'étant pas encore développée.

La littérature rapporte le cas d'un fœtus de sexe féminin présentant aux imageries prénatales et à l'autopsie une dilatation ventriculaire bilatérale, un corps calleux non vu et une gyration anormale du lobe frontal. Le séquençage de l'exome en trio a retrouvé une variation du gène *USP9X*, survenue *de novo* (49). Une seconde publication décrit le cas d'une jeune patiente de 24 mois, dont l'échographie prénatale du 1^{er} trimestre avait noté une hyperclarté nucale, un défaut d'alignement du pied gauche, et un hydramnios. L'échographie du 3^{ème} trimestre avait révélé une

ventriculomégalie, avec ectasie du 3^{ème} ventricule et des ventricules latéraux. La naissance a été marquée par une prématurité, une hypotonie, et la présence d'une dysmorphie faciale. Le caryotype était normal. Le séquençage de l'exome a retrouvé une variation hétérozygote du gène *USP9X*, survenue *de novo*, classée probablement pathogène. Les auteurs font une revue des signes cliniques retrouvés chez 38 patientes avec variations *USP9X*. Concernant les manifestations prénatales, 4 ont présenté un hydramnios, 6 une prématurité. Il n'est pas rapporté d'autres anomalies prénatales (50).

Ainsi, F3 semble avoir un phénotype extrême et précoce, mais concordant avec ce qui est décrit dans le cas des variations du gène *USP9X*. Ceci a permis de classer cette variation comme pathogène, de classe 5.

❖ Foetus 4 (F4) : *KMT2D*

F4 est de sexe féminin, issu d'une IMG à 32+5 SA. Il s'agit de la troisième grossesse d'un couple non apparenté, dont une première fille est décédée à 8 mois de vie pour un syndrome de CHARGE provoqué par une variation pathogène du gène *CHD7*, survenue *de novo*.

L'échographie du 1^{er} trimestre décrivait une hyperclarté nucale. L'échographie de référence réalisée à 18+6 SA suspectait une cardiopathie au dépens du cœur gauche, et mettait en évidence une artère ombilicale unique, une kyste latéro-cervical gauche et un fémur court. La vésicule biliaire n'était pas visualisée. Lors des échographies réalisées à 22 SA et 27 SA, il était noté en complément une fente palatine postérieure médiane, un corps calleux court, ainsi que le développement d'un hydramnios.

Des échographies cardiaques fœtales ont été réalisées afin de décrire et suivre de manière plus précise la cardiopathie. Ces imageries décrivaient une cardiopathie complexe de type ventricule droit à double issue (VDDI) associant une CIV large, une hypoplasie du VG, une aorte horizontale, une veine cave supérieure (VCS) se jetant dans le sinus coronaire, une fuite valvulaire tricuspide, et possiblement une obstruction de la veine pulmonaire.

A l'examen de fœtopathologie, les radiographies du squelette relèvent en complément des doigts fuselés, une clinobrachymésophalangie des 5^{ème} doigts, des phalanges élargies, de petits ongles et un défaut d'ossification des phalanges P2 et P3 des pieds. La macroscopie décrit une dysmorphie faciale (face carrée, œdème préfrontal, petit nez aux narines antéversées, philtrum plat, petit menton pointu, bouche en chapeau de gendarme, sillons nasogéniens marqués, oreilles basses implantées sans relief de l'hélix et avec lobes charnus projetés vers l'avant et présentant une incisure). La dissection précise la cardiopathie (cardiopathie complexe avec large CIV conale avec aorte à cheval, interruption de l'arche aortique et hypoplasie du VG et de l'OG avec VM hypoplasique et dysplasique) et rapporte un isomérisme pulmonaire gauche (poumon gauche unilobé et droit bilobé), des anomalies rénales (hypoplasie rénale droite avec diminution du nombre de néphrons et dilatations tubulaires), une rate accessoire et précise une hypoplasie de la vésicule biliaire.

Concernant ce fœtus, il s'agit d'une véritable association polymalformative, où les signes cliniques semblent être indépendants les uns des autres.

Après une recherche négative de la variation du gène *CHD7* qui avait été retrouvée chez sa sœur aînée, le séquençage met en évidence une variation du gène *KMT2D* (NM_003482.3): c.6496C>T, p.(Gln2166*), hétérozygote, survenue *de novo*. Ce gène code pour une histone méthyl transférase, intervenant dans le remodelage de la chromatine. La variation est à l'origine de la survenue d'un codon STOP prématuré en position 2166 sur une protéine comptant 5537 acides aminés. Elle a déjà été rapportée dans la base de données de sujets atteints (HGMD pro). Ce gène est à l'origine du syndrome de Kabuki, de transmission autosomique dominante. Il se manifeste par un retard de croissance postnatal, une microcéphalie, une dysmorphie faciale (philtrum trapézoïde, grandes oreilles en rotation postérieure, pits pré-auriculaire, fentes palpébrales larges avec éversion du tiers latéral de la paupière inférieure, cils épais, ptosis, sourcils arqués, larges, éparses, petite columelle, pointe nasale déprimée, fente palatine, palais haut arqué), des anomalies cardiaques congénitales (CIA, CIV, coarctation de l'aorte), des malformations digestives (anomalies de la rotation intestinale,

sténose anale, imperforation anale, fistule ano-périnéale), des anomalies du système rénal et génito-urinaire (micropénis, cryptorchidie, rein unique fusionné, ectopie rénale, obstruction de la jonction pyelo-urétérale), des anomalies vertébrales, une luxation congénitale de hanche, une brachydactylie du 5^{ème} doigt, une persistance des fingerpads et autres particularités digitales, des tâches café-au-lait, un hirsutisme et parfois une hypothyroïdie congénitale. Sur le plan neurologique, il n'est pas noté de malformations particulières, mais la survenue d'un retard psychomoteur avec déficience intellectuelle, d'une épilepsie et d'une hypotonie.

Nous retrouvons dans la littérature une cohorte de 49 cas retraçant l'histoire prénatale et périnatale de patients atteints de syndrome de Kabuki. Parmi eux, 36 ont des mutations *KMT2D*, 2 *KDM6A* et 11 ont un diagnostic clinique. Des anomalies prénatales étaient rapportées dans 69% des cas, avec principalement un hydramnios, une artère ombilicale unique, des malformations cardiaques et rénales (7). Les malformations prénatales dans le cas d'un syndrome de Kabuki ne sont donc pas rares.

Par ailleurs, F4 présentant quelques signes peu décrits, nous avons effectué une recherche extensive dans la littérature afin de retrouver des descriptions similaires, ou de conclure à un potentiel élargissement du spectre phénotypique. Ainsi, nous avons retrouvé des cohortes dans lesquelles le séquençage a mis en évidence des variations de classe 4 ou 5 de *KMT2D* chez des fœtus présentant, entre autres, une hypoplasie de la vésicule biliaire (51) et une hétérotaxie avec polysplénie (52). Il a été également rapporté une hypoplasie calleuse chez plusieurs patients Kabuki épileptiques mais sans précision du gène en cause (53) ainsi qu'un isomérisme bronchique chez un patient avec une variation *MLL2*, gène également impliqué dans le syndrome de Kabuki (54).

L'ensemble du phénotype de ce fœtus est concordant, avec une bonne corrélation entre le génotype et le phénotype. Cela a ainsi permis de classer cette variation du gène *KMT2D* comme pathogène, de classe 5.

❖ Foetus 5 (F5) : *DYRK1A*

F5 est de sexe masculin, issu d'une IMG à 28+2 SA. Il s'agit de la première grossesse d'un couple non apparenté. L'histoire familiale rapporte une MFIU à 8 mois de grossesse dans les suites de la survenue d'anomalies cardiaques fœtales chez la grand-mère maternelle.

Après une échographie fœtale du 1^{er} trimestre sans particularité, l'échographie du 2nd trimestre réalisée à 23+2 SA a mis en évidence des anomalies principalement cérébrales avec une hypoplasie cérébelleuse et une anomalie calleuse (doute entre agénésie partielle ou hypoplasie du corps calleux), ainsi qu'une atteinte génitale à type d'anomalie de la différenciation sexuelle avec fusion postérieure incomplète et micropénis. Il était également décrit un RCIU sévère, et la présence d'une artère ombilicale unique.

L'autopsie fœtale confirme l'hypoplasie globale du cervelet mais ne permet pas de préciser l'anomalie calleuse du fait du mauvais état de conservation de l'encéphale, gênant l'interprétation. Elle décrit également une microcéphalie, une dysmorphie faciale (hypertélorisme, lèvres fines, micrognathie, racine du nez large, oreilles basses implantées). Par ailleurs, l'étude des organes génitaux externes rapporte effectivement une verge de petite taille mais des bourrelets génitaux bien formés et fusionnés. L'étude du placenta révèle la présence d'un nœud du cordon ombilical, qui associé à l'artère ombilicale unique, sont probablement responsables d'une anomalie des échanges materno-fœtaux et du RCIU avec foie hypotrophique.

Le séquençage de l'exome retrouve une variation intronique du gène *DYRK1A* (NM_001396.4): c.665-2A>G, hétérozygote, survenue *de novo*. Ce gène code pour une protéine à activité sérine/thréonine et tyrosine kinase, ayant un rôle important dans les réparations des cassures de l'ADN double brin. Cette variation est à l'origine d'une altération du site consensus accepteur d'épissage, et a déjà été rapportée dans la base de sujets atteints (HGMD pro). Ce gène est impliqué dans une déficience intellectuelle de transmission autosomique dominante, associée à un caractère malformatif. Le phénotype comprend un RCIU, une microcéphalie, une dysmorphie faciale

(micrognathie, grandes oreilles simplifiées avec hélix épais, hypotélorisme et yeux enfoncés, nez bulbeux ou pointu), des incisives proéminentes, l'ensemble accompagné par un retard de développement avec déficience intellectuelle et troubles du comportement. Des malformations cardiaques, urogénitales (dont micropénis) et musculosquelettiques sont également rapportées (55).

La littérature concernant ce gène est encore restreinte, et nous retrouvons peu de cas décrits. Il est cependant rapporté une possibilité de survenue anténatale de RCIU, microcéphalie et oligoamnios (56). Une cohorte de patients présentant des variations *DYRK1A* rapporte quelques cas d'anomalies prénatales (RCIU principalement, dilatation ventriculaire cérébrale, asymétrie des ventricules cardiaques, asymétrie rénale, artère ombilicale unique) (57). En postnatal, des anomalies du corps calleux ont déjà été retrouvées (58).

L'ensemble de ces éléments ont permis de classer la variation comme pathogène, de classe 5.

❖ Foetus 6 (F6) : *ACTN2*

F6 est de sexe masculin, issu d'une IMG à 24+3 SA. Il s'agit de la quatrième grossesse d'un couple apparenté au second degré. Ils sont les parents de 2 filles, dont l'une présente une encéphalopathie épileptique sans étiologie retrouvée. La troisième grossesse s'était interrompue au premier trimestre. La mère est suivie pour une hypothyroïdie, et a subi une sleeve gastrectomie au cours de la 9^{ième} semaine d'aménorrhée de cette quatrième grossesse. On retrouve une notion de trouble du neurodéveloppement chez une cousine paternelle.

L'échographie réalisée à 16+3 SA avait retrouvé chez ce fœtus une anasarque avec un épanchement pleural, une ascite et un œdème sous-cutané. La surveillance échographique a montré la persistance de cet état d'anasarque, et la survenue d'une dysfonction cardiaque ventriculaire droite, confirmée par une échographie cardiaque fœtale mettant en évidence un ventricule droit dilaté hypokinétique. La dernière imagerie retrouvait en supplément des reins non différenciés et micro kystiques.

A l'examen de fœtopathologie, la macroscopie décrit en complément une dysmorphie faciale avec des oreilles basses implantées. La dissection retrouve des cavités cardiaques très dilatées, un rétrécissement pulmonaire modéré et une oreillette droite volumineuse. Elle rapporte également une hypoplasie pulmonaire et thymique, des reins volumineux sans kyste, une vessie hypoplasique, une dilatation jéjunale, 2 rates accessoires, une surrénale droite hémorragique, et un défaut cutané de l'extrémité céphalique. L'histologie décrit une congestion des parenchymes pulmonaires, surrénaliens, rénaux et hépatiques, ainsi qu'un nodule surrénalien.

Chez ce fœtus, l'anomalie primaire semble être l'atteinte cardiaque, à l'origine d'une insuffisance cardiaque fonctionnelle et d'une anasarque (dont la dilation des parois digestives peut faire partie). L'épanchement pleural décrit n'était pas assez conséquent pour être à l'origine de l'hypoplasie pulmonaire, qui est alors une réelle malformation. L'hypoxie chronique secondaire explique l'hypoplasie thymique, les signes congestifs, ainsi que l'aspect volumineux des reins dont la taille est augmentée par la congestion. Enfin, l'infarctus hémorragique central surrénalien est secondaire à l'anoxie aigue, liée au décès.

Après une approche par panel anasarque sans résultat, le séquençage retrouve une variation intronique bi-allélique du gène *ACTN2* (NM_001103.2): c.1839+2T>C, héritée des parents. Ce gène code pour une protéine d'ancrage de l'actine à différentes structures intracellulaires. Le domaine fonctionnel concerné est une répétition de spectrine. Cette variation est absente des bases de données de sujets sains ou atteints. Les prédictions sont en faveur d'un effet délétère sur l'épissage par modification du site donneur d'épissage de l'intron 15.

Des variations ne touchant qu'un allèle de ce gène, et donc de transmission autosomique dominante, sont impliquées dans les cardiomyopathies dilatée ou hypertrophique avec ou sans NCVG. Les manifestations comprennent CIA, dilatation bi-ventriculaire, hypertrophie du VG, septum sigmoïdal, hypertrophie bi-ventriculaire, hypertrophie des cardiomyocytes, fibrose du myocarde et endocarde. On ne retrouve pas de notion d'hypoplasie pulmonaire, de polysplénie, de nodule surrénalien ou de

dysmorphie faciale. Par ailleurs, ce gène est également impliqué dans la survenue de myopathie congénitale ou de l'adulte.

Les variations rapportées à ce jour sont essentiellement à l'état hétérozygote. Une seule publication décrit le cas d'un fœtus présentant un état d'anasarque dans un contexte de tachycardie supra ventriculaire, chez qui a été retrouvé une variation faux-sens du gène *ACTN2*, homozygote, héritée de parents hétérozygotes sains avec un lien de parenté (59). Notons que des variations homozygotes dans les gènes de cardiomyopathies peuvent entraîner des formes graves prénatales ou néo-natales alors même que les parents sont encore asymptomatiques.

Ainsi, afin de déterminer la participation réelle de cette variation intronique au phénotype de ce fœtus, des études *in silico* et *in vitro* avec approche par minigène ont été entreprises au laboratoire de Lyon :

- Les études *in silico* suggèrent que cette variation pourrait diminuer l'utilisation du site donneur physiologique en c.1839+1 au profit de plusieurs autres sites cryptiques, notamment celui de l'exon 15 en c.1752 ou celui de l'intron 15 en c.1839+19.
- Les études *in vitro* par minigène ont permis de prouver que cette variation provoquait une abolition de l'utilisation du site physiologique donneur d'épissage au profit de 2 sites alternatifs, avec dans ces 2 cas conservation de la phase de lecture: utilisation d'un site donneur cryptique de l'exon 15 entraînant une perte de 29 acides aminés, ou saut de l'exon 15, soit 61 acides aminés. Cette variation implique le domaine spectrine numéro 3. Il est également noté qu'une proportion faible de transcrit est correctement épissée dans le minigène muté.

Cette variation est présente sur les 2 allèles du fœtus, et peut ainsi expliquer ce phénotype extrême par rapport à ses parents asymptomatiques. Le phénotype du fœtus est d'ailleurs possiblement « atténué et viable » par l'existence d'une faible proportion de synthèse de protéine normale, et la présence de protéines tronquées mais restant en phase et donc avec une activité

résiduelle potentielle. Elle a été classée comme probablement pathogène, de classe 4. Une échographie cardiaque a été recommandée chez les parents afin de rechercher une cardiomyopathie débutante.

En revanche, nous n'expliquons pas la survenue de l'hypoplasie pulmonaire, la polysplénie, le nodule surrénalien, et les oreilles basses implantées.

ii. Les fœtus avec variations de signification clinique incertaine: cas incertains

Six variations de signification clinique incertaine concernant 4 fœtus de la cohorte (20%) ont été retrouvées. Elles impliquent les gènes *PKD1* (un fœtus avec 3 variations *PKD1* et un fœtus avec 1 variation *PKD1*), *EPHB4* et *UBR5*. Les variations des gènes *EPHB4* et *UBR5* sont survenues *de novo*, et impliquent un mode de transmission dominant. Les variations du gène *PKD1* sont héritées des parents. Une des variations est impliquée dans une forme dominante. Les trois autres, présentes chez le même fœtus, seraient impliquées dans une forme récessive.

Le tableau 6 rapporte un résumé des signes cliniques retenus de l'imagerie prénatale et de l'examen de fœtopathologie, et une description de ces variations pour ces 4 fœtus.

❖ Fœtus 7 (F7) et fœtus 9 (F9) : *PKD1*

F7 est de sexe féminin, issu d'une IMG à 18+3 SA. Il s'agit de la première grossesse d'un couple non apparenté, et sans antécédent.

L'échographie du 1^{er} trimestre, réalisée à 13 SA, avait mis en évidence une mégavessie, se compliquant lors des contrôles ultérieurs par la survenue d'un anamnios complet.

L'examen de fœtopathologie complète ces signes cliniques en retrouvant des platyspondylies, des extrémités de côtes "soufflées", des ischions rapprochés sur la ligne médiane, un thorax court, des pieds bots bilatéraux, une dysmorphie faciale (narines antéversées, replis sous-orbitaires

marqués, phyltrum long, rétrognathie), une agénésie rénale gauche et un rein droit multikystique, des anomalies de l'appareil génital externe et interne (tubercule génital proéminent non fendu, bourrelets génitaux latéraux non fusionnés sur la ligne médiane, absence de corps utérin, présence de tissus érectile), une sténose de l'urètre, un méésentère commun complet, une imperforation anale avec atrésie du canal anal, et une artère ombilicale unique.

L'explication possible d'une partie de l'histoire malformative de ce fœtus serait que la sténose sous-vésicale de l'urètre ait provoqué la survenue d'une mégavessie et de l'anamios. La quantité insuffisante de liquide amniotique est peut-être à l'origine de malformations secondaires, regroupées sous le nom de « séquence de Potter », et s'exprimant ici par les replis sous-orbitaires marqués et la rétrognathie, les pieds bots bilatéraux, voire l'agénésie rénale (l'agénésie rénale habituellement retrouvée dans ce contexte est bilatérale). Par ailleurs, les anomalies osseuses vertébrales expliquent le thorax court.

Le séquençage met en évidence des variations bi-alléliques du gène *PKD1* (NM_001009944.2): c.10043G>A, p.(Arg3348Gln) et c.8293C>T, p.(Arg2765Cys) en *cis*, héritées du père, et associées en *trans* à la variation c.4546G>A, p.(Ala1516Thr), héritée de la mère.

Le gène *PKD1* code pour la polycystine 1, formant un complexe avec la polycystine 2, permettant la régulation de nombreuses voies nécessaire au maintien adéquat de la structure et de la fonction tubulaire rénale. Des variations majoritairement faux-sens et tronquantes ont déjà été rapportées chez des patients atteints de Polykystose rénale autosomique dominante, caractérisée par le développement et la progression de kystes rénaux à l'origine d'une insuffisance rénale terminale, et auxquels peuvent s'associer des kystes hépatiques, des diverticules coliques et des anévrismes cérébraux. Les atteintes prénatales sont généralement provoquées par des formes récessives de cette pathologie, ou par la présence de 2 variations autosomiques dominantes.

Les deux variations paternelles touchent chacune un acide aminé conservé, et sont prédites délétères par SIFT et probablement pathogènes par PolyPhen-2. Elles ont déjà été rapportées dans

les bases de données de sujets sains (gnomAD) et atteints (HGMD pro). En effet la variation p.(Arg3348Gln) a déjà été classée comme probablement pathogène chez un patient hétérozygote (60). La variation p.(Arg2765Cys) a déjà été décrite associée *en trans* à une variation tronquante chez des patients ayant présenté une atteinte rénale *in utéro*. Les autres membres de la famille présentant uniquement cette variation à l'état hétérozygote n'avaient pas de kystes rénaux. Ceci supporte la possibilité d'une variation hypomorphe pouvant avoir un rôle de modificateur génétique si elle est associée *en trans* à une variation inactivatrice, et être à l'origine d'un phénotype prénatal (61).

La variation d'origine maternelle p.(Ala1516Thr) touche un acide aminé non particulièrement conservé, et est prédite comme tolérée par les logiciels de prédiction. Elle a déjà été rapportée plusieurs fois dans gnomAD (1430 fois à l'état hétérozygote et 5 fois à l'état homozygote), et jamais chez des sujets atteints (HGMD pro). L'hypothèse serait que cette variation agisse de manière hypomorphe : chez ce fœtus, son association avec un allèle pathologique pourrait être à l'origine d'une forme de transmission récessive, plus sévère.

Ainsi, nous pouvons supposer que les 2 variations paternelles *en cis* associées à la variation maternelle *en trans* sont à l'origine d'une forme récessive de la pathologie. Ceci expliquerait l'atteinte rénale présentée par le fœtus. Cependant, elle n'explique pas les autres signes cliniques décrits, qui sont majeurs. Ainsi, les variations demeurent de signification clinique incertaine, de classe 3. Nous avons suggéré la réalisation d'une échographie rénale chez les parents, afin de détecter une potentielle atteinte asymptomatique.

F9 est un fœtus de sexe féminin, issu d'une IMG à 11+6 SA réalisée en raison du diagnostic d'une exencéphalie mise en évidence lors de l'échographie du 1^{er} trimestre. Il s'agit de la première grossesse d'un couple non apparenté, débutée sous contraception, sans bénéficier de supplémentation en acide folique, et avec consommation modérée d'alcool et de tabac.

L'examen de fœtopathologie retrouve, outre l'exencéphalie, une atteinte rénale avec de multiples kystes et dilatations tubulaires et glomérulaires, des anomalies folliculaires, une microstomie, ainsi qu'une incisive solitaire médiane supérieure.

Le séquençage de l'exome met en évidence une variation hétérozygote du gène *PKD1* (NM_001009944.2) : c.9484C>T, p.(Arg3162Cys), héritée du père. Cette variation touche un acide aminé conservé et est prédite comme ayant un effet délétère sur la protéine par les logiciels de prédiction SIFT, MutationTaster et PolyPhen-2. Elle est répertoriée 4 fois chez des sujets atteints (gnomAD). Cette même variation a été rapportée 1 fois pathogène chez un enfant de 8 ans présentant de multiples kystes rénaux avec une insuffisance rénale et une intolérance au glucose, mais associée dans ce cas en *trans* à une variation non-sens du gène *HNF1B*, également à l'origine de kystes rénaux et de diabète, entre autres (62). Une variation du même acide aminé c.9485G>T, p.(Arg3162Leu) est rapportée de signification clinique incertaine 1 fois dans HGMD pro, mise en évidence lors du séquençage de *PKD1* dans une cohorte de patients présentant un diagnostic échographique de polykystose autosomique dominante (63).

Une participation de la variation au phénotype rénal du fœtus n'est pas écartée, mais ne pourrait expliquer les autres signes cliniques (exencéphalie, microstomie, incisive solitaire médiane supérieure). Par ailleurs, cette variation étant héritée du père, une échographie rénale a été demandée afin de préciser une potentielle atteinte asymptomatique, qui pourrait dès lors influencer l'interprétation de ce variant.

❖ Fœtus 8 (F8) : *EPHB4*

F8 est de sexe féminin, issu d'une IMG à 14+2 SA. Il s'agissait de la première grossesse de ce couple, non apparenté. La mère rapporte la survenue d'un épisode de fièvre en début de grossesse et est suivie pour une hypothyroïdie. Le père a été pris en charge dans l'enfance devant des torticolis

à répétition provoqués par des ostéophytes vertébraux. Un frère paternel présente une polyarthrite rhumatoïde.

L'échographie réalisée à 13+3 SA retrouvait chez ce fœtus une anomalie sévère de la colonne vertébrale avec un hygroma colli.

L'examen de fœtopathologie a permis de mettre en évidence en complément une atteinte osseuse majeure avec des hémivertèbres thoraciques (T7, T8, T10 et T12) et lombaires (L2) à l'origine d'une incurvation de la colonne lombaire avec convexité gauche, une brachydactylie du premier doigt, une absence bilatérale de minéralisation de la 2^{ème} phalange du deuxième doigt, et de la 2^{ème} et 3^{ème} phalange du cinquième doigt. De plus, la dissection décrit une CIA de type I, des malformations digestives à type d'atrésie anale et d'atrésie du rectum, associées à une imperforation anale.

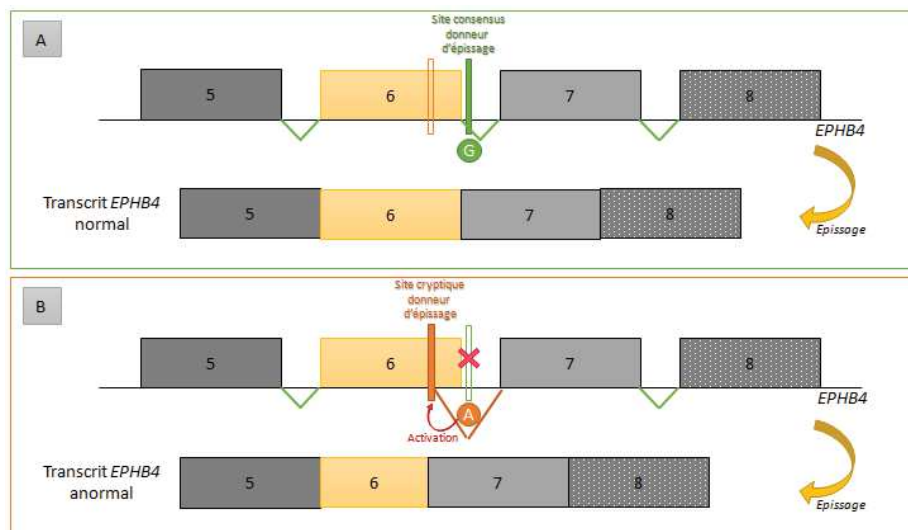
Le séquençage de l'exome retrouve une variation intronique du gène *EPHB4* (NM_004444.5): c.1297+5G>A, hétérozygote, survenue *de novo*. Ce gène code pour un récepteur à activité tyrosine kinase des ligands de l'éphrine et est impliqué dans les communications entre cellules adjacentes permettant une signalisation bidirectionnelle. Il participe à la régulation de l'adhésion et de la migration cellulaire, et joue un rôle central dans la morphogenèse du cœur, l'angiogenèse, le remodelage et la perméabilité des vaisseaux sanguins. Elle n'a jamais été rapportée dans les bases de données de sujets sains (gnomAD) ou de sujets atteints (HGMD pro). Cette variation est localisée en position +5 de l'intron 6. Les prédictions bio-informatiques sont en faveur d'une altération à 93% de la force du site donneur d'épissage (MaxEnt -100%, NNSPLICE -85.7%, SSF -15%).

Ce gène est connu pour être impliqué dans des malformations capillaires et artérioveineuses ainsi que dans des anomalies du système lymphatique, de transmission autosomique dominante. Ce dernier peut associer un œdème de la face et des tissus mous, des anomalies cardiovasculaires à type de CIA, une stase veineuse avec des varices, une atteinte respiratoire (survenue de chylothorax, hydrothorax, épanchement pleural, œdème pulmonaire, anomalies de la circulation lymphatique des

poumons), une distension abdominale, des diarrhées graisseuses, et parfois une anémie. Il a été noté une augmentation de la clarté nucale et un hydrops fœtal chez les fœtus, associés à une forte morbi-mortalité en période néonatale. Les variations rapportées sont généralement faux-sens et non-sens.

Afin de démontrer l'effet de cette variation sur l'épissage de l'ARN, et d'apporter des éléments en faveur de sa participation au phénotype du fœtus, nous avons réalisé une technique de RT-PCR et analyse par séquençage Sanger. Nous avons alors démontré que la variation était à l'origine d'une activation d'un site cryptique donneur d'épissage localisé dans l'exon 6, aboutissant à une protéine tronquée (Figure 3).

FIGURE 2. Schématisation de l'effet de la variation du gène *EPHB4* (NM_004444.5) : c.1297+5G>A, p.(Val406Tyrfs*10) sur l'épissage du gène, retrouvée chez F8



A – Représentation de l'épissage normal du gène *EPHB4* par activation du site consensus donneur d'épissage.

B – Représentation de l'épissage anormal du gène *EPHB4*, provoqué par la substitution nucléotidique (G en position 1297+5 devenant un A), entraînant l'activation d'un site cryptique donneur d'épissage localisé dans l'exon 6, rendant le site consensus non fonctionnel, aboutissant à une protéine tronquée au niveau de l'exon 6. Boîtes numérotées de 5 à 8 : exons de *EPHB4* ; Rectangle vert plein et vide : site consensus donneur d'épissage respectivement actif et inactif ; Rectangle orange plein et vide : site cryptique donneur d'épissage respectivement actif et inactif ; Rond vert et orange : nucléotide respectivement normal et muté

Nous avons partagé cette variation avec la communauté scientifique en passant par "GeneMatcher". Jusqu'à présent, 2 réponses nous sont parvenues. Une équipe a retrouvé une variation *EPHB4* : c.2098G>A, p.(Ala700Thr) chez un fœtus présentant des anomalies du système

lymphatique (chylothorax, hydrops fetalis) ainsi qu'une hypogammaglobulinémie. Cette variation est héritée de sa mère, dont nous ne connaissons pas le phénotype. Le second cas concerne un fœtus présentant un chylothorax, un épanchement pleural ainsi qu'une CIA avec insuffisance cardiaque, avec mise en évidence d'une variation *EPHB4* : c.2288G>A, p.(Arg763Gln). Ces réponses permettent d'étayer la participation de ce gène dans les atteintes lymphatiques, mais ne nous aident pas à expliquer les atteintes osseuses et digestives supplémentaires de F8.

La littérature rapporte une cohorte de 11 patients issus de 2 familles où les individus partagent un phénotype associant de manière variable un hydrops fœtal non immun, des œdèmes des membres inférieurs, des veines variqueuses, ainsi que des anomalies du drainage lymphatique asymptomatiques. Plusieurs patients présentent une CIA. Des fausse-couches précoces et MFIU sont également rapportées. Le séquençage de l'exome a mis en évidence des variations faux-sens hétérozygotes de *EPHB4*. Les études biochimiques ont montré que les 2 variations faux-sens entraînaient une disparition de l'activité tyrosine kinase des protéines. Le déficit en *EPHB4* serait à l'origine d'un défaut des valves lympho-veineuses, contribuant ainsi à la l'hydrops fœtal lymphatique non immun et à une dysplasie lymphatique généralisée. Il est noté une hétérogénéité d'expression intrafamiliale, allant de la CIA isolée à l'hydrops fœtal sévère (64).

En conclusion, nos analyses ont confirmé l'implication de cette variation dans le phénotype du fœtus, notamment l'hygroma colli et la cardiopathie. Cette variation, initialement classée comme de signification clinique incertaine, va être reclassée comme probablement pathogène, de classe 4. Cependant, elle n'explique pas l'atteinte osseuse majeure et l'atteinte digestive, laissant supposer la survenue d'un second évènement indéterminé à ce jour.

❖ Fœtus 10 (F10): *UBR5*

F10 est de sexe féminin, issu d'une IMG à 30+3 SA. Il s'agit de la première grossesse d'un couple non apparenté, obtenue par injection intracytoplasmique de spermatozoïde (ICSI) pour cause

d'asthenospermie. Le père présentait à la naissance une hexadactylie unilatérale et une fente labiale. La mère paternelle aurait eu une malposition bilatérale des pieds à la naissance. On retrouve enfin une agénésie du corps calleux avec déficience intellectuelle et troubles du spectre de l'autisme (TSA) chez la tante maternelle.

Chez ce fœtus, après une échographie du 1^{er} trimestre sans particularité, l'échographie réalisée à 18+2 SA a mis en évidence des reins hyperéchogènes avec un rein droit macro-polykystique. L'échographie de référence réalisée à 21 SA a décrit en complément des pieds bots bilatéraux et une difficulté de visualisation du corps calleux. Les échographies de contrôle suivantes n'ont pas rapporté de malformations supplémentaires. Une IRM cérébrale fœtale réalisée à 28 SA a permis de préciser une hypoplasie du corps calleux avec un bec non visible, sans autre anomalie morphologique.

L'examen de fœtopathologie confirme ces observations, et met en évidence une atteinte osseuse majeure (côtes horizontalisées, camptodactylie de la main droite, brachydactylie des orteils avec hypoplasies des phalanges distales voire aplasies de la majorité des phalanges P2 à P3, syndactylies en palmure des phalanges P1 et P2 des orteils (dont les ongles étaient irrégulièrement présents), une arhinencéphalie, une dysmorphie faciale (hypertélorisme, hélix gauche peu ourlée, nez pointu, philtrum court), une artère sous-clavière droite rétro-œsophagienne ainsi que des poumons unilobaires.

Le séquençage de l'exome retrouve une variation du gène *UBR5* (NM_015902.5): c.8139_8140dup, p.(Phe2714Cysfs*5), hétérozygote, survenue *de novo*. Ce gène code pour la protéine ubiquitine ligase E3, impliquée dans la maturation et la régulation de la transcription de l'ARNm. Elle pourrait également avoir un rôle dans le contrôle de la progression du cycle cellulaire, dans les réponses aux dommages à l'ADN, et possède un rôle suppresseur de tumeur. Elle serait essentielle au développement extra embryonnaire. Ce gène présente une forte intolérance à l'haplo-insuffisance (pLi=1). Cette variation n'a jamais été rapportée dans les bases de données de sujets

sains (gnomAD) ou atteints (HGMD pro). Elle entraînerait un décalage du cadre de lecture à partir de l'acide aminé 2714 d'une protéine qui en compte 2799, à l'origine d'un codon stop prématuré.

Un partage des données avec d'autres équipes de type « GeneMatcher » a été réalisé, et de nombreux résultats sont parvenus :

- Le premier cas est un patient de 11 ans présentant un retard de développement psychomoteur avec hypotonie, des troubles du comportement, des traits de dysmorphie faciale (grandes oreilles, fentes palpébrales orientées vers le bas et le dehors, racine du nez haute, lèvre supérieure fine, incisive proéminente, palais haut et arqué), ainsi que des doigts et des orteils longs ;
- Le second cas présente un retard de développement psychomoteur avec troubles du spectre de l'autisme, une surdité neurosensorielle ainsi que de multiples malformations congénitales (agénésie rénale, anomalies costales et vertébrales, sténose du sinus pyriforme, incisive maxillaire centrale solitaire) ;
- Le troisième cas présente également un retard de développement avec des troubles du spectre de l'autisme, ainsi qu'une petite taille ;
- Enfin, le quatrième cas présente un retard de développement psychomoteur avec déficience intellectuelle, des malformations génito-urinaires à type de cryptorchidie et phimosis, ainsi que des traits de dysmorphie faciale (épicanthus, fentes palpébrales asymétriques et orientées vers le haut, de petites oreilles avec plicature de l'hélix, lèvre inférieure épaissie, rétrognathie), un pectus excavatum, ainsi que des anomalies des extrémités (pouces larges, doigts longs avec syndactylies des 2^{ème} et 3^{ème} doigts, orteils longs avec brachymétatarsie des 4^{ème} et 5^{ème} orteils).

Ainsi, nous constatons que les phénotypes associés à ces variations *UBR5*, toutes survenues *de novo*, sont très hétérogènes. La constitution d'une cohorte de patients est en cours au Canada.

Ce fœtus présente donc un phénotype riche, principalement osseux et rénal, auquel s'ajoute une dysmorphie faciale, une arhinencéphalie, une hypoplasie cérébelleuse ainsi que des anomalies cardiovasculaires et pulmonaires. L'imputabilité de la variation *UBR5*, par son intolérance à la perte de fonction et sa survenue *de novo*, reste une hypothèse à approfondir. Ainsi, dans l'état actuel des connaissances, cette variation, impliquant un gène encore peu connu, demeure de signification clinique incertaine, de classe 3.

iii. Les fœtus sans diagnostic: cas non concluants

A l'issue du séquençage de l'exome, dix cas demeurent sans diagnostic étiologique, soit 50% de la cohorte. Le tableau 7 rapporte les résumés des signes cliniques retenus pour ces 10 fœtus.

❖ Fœtus 11 (F11): malformations osseuses et trachéo-bronchiques

F11 est un fœtus de sexe féminin, dont la naissance a été déclenchée à 39+6 SA suite à une altération du rythme cardiaque fœtal et un RCIU. Le décès est survenu dans les heures qui ont suivies. Il s'agit de la deuxième grossesse d'un couple non apparenté, dont la première avait été marquée par un oligoamnios et un nouveau-né hypotrophe. La mère est suivie pour une hernie hiatale et une colopathie fonctionnelle. Une MFIU est survenue chez une tante paternelle, sans plus d'information.

Aucune malformation n'avait été détectée lors des échographies prénatales de ce fœtus.

Les radiographies post-mortem permettent de visualiser des anomalies costo-vertébrales étendues (platyspondylies cervicales et thoraciques, hémivertèbres thoraciques et lombaires, synostoses costo-costales et anomalies des articulations spondylo-costales) associées à une incurvation du premier métacarpien. L'examen macroscopique externe retrouve un cou court, une hypoplasie de l'hémithorax droit avec un mamelon droit abaissé. La dissection rapporte une sténose

trachéale avec atrésie pulmonaire droite et poumon gauche hypoplasique, une hypoplasie de l'artère pulmonaire gauche et de 2 veines pulmonaires, un megadolichocôlon ainsi que 2 lobes thymiques arrêtés sur le trajet de migration au niveau cervical. Enfin, l'étude histologique retrouve des anomalies du développement du système alvéolaire.

L'hypothèse évoquée serait que l'ensemble des malformations trachéo-bronchiques soit secondaire à l'atteinte osseuse initiale, laissant alors peu de place au développement du système pulmonaire.

❖ Fœtus 12 (F12): association VA(C)TERL

F12 est un fœtus de sexe féminin issu d'une IMG à 32+1 SA. Il s'agissait du premier enfant d'un couple non apparenté, obtenu par fécondation *in vitro* (FIV) devant une oligo-asthéo-térato-spermie (OATS) paternelle. Le père du fœtus est porteur d'une délétion 10q26.3q26.3 en mosaïque, et a été pris en charge pour un dermatofibrosarcome.

L'échographie du 1^{er} trimestre de ce fœtus retrouvait un os long unique de la jambe gauche associé à une hypoplasie du pied. Ces malformations ont été confirmées à 15 SA, avec par ailleurs la présence d'une artère ombilicale unique. A 18 SA, le contrôle a permis de préciser l'anomalie du membre inférieur gauche, s'agissant alors d'une aplasie du péroné unilatérale avec amyotrophie du mollet, associées à une malformation et malposition du pied présentant seulement 2 orteils. Il était également noté un bourgeon caudal persistant. Au contrôle échographique réalisé à 22 SA, le cœur était décalé en rétro sternal et un hydramnios commençait à se développer. Trois semaines plus tard, l'hydramnios était en progression, et le rein droit paraissait multikystique et associé à une urétéro-hydronéphrose droite. Il était également suspecté une atrésie œsophagienne.

Par ailleurs, une IRM et un scanner fœtal ont confirmé l'aplasie unilatérale de la fibula gauche, associée à une agénésie des os du pied.

L'imagerie postnatale confirme l'ectromélie longitudinale externe gauche, et décrit en complément une absence des rayons II a V du membre inférieur gauche et une brachymésophalangie bilatérale du cinquième doigt. L'examen macroscopique et la dissection rapportent une hyperplasie thymique, un sillon supplémentaire du poumon gauche, une atrésie œsophagienne, une atrésie duodénale et une atrésie anale, un méésentère commun complet, une anomalie de rotation du bourgeon pancréatique et un utérus bifide.

Ce fœtus présente un phénotype se rapprochant d'une association VA(C)TERL, avec notamment les anomalies vertébrales, l'atrésie anale, la sténose œsophagienne (habituellement, c'est une fistule trachéo-œsophagienne qui est rapportée, mais les sténoses œsophagiennes sont également décrites), l'atteinte rénale kystique ainsi que les malformations des membres. Le cœur est décalé mais aucune cardiopathie n'est rapportée à l'autopsie. L'hydramnios est consécutif à l'atrésie duodénale et œsophagienne.

❖ Fœtus 13 (F13): cardiopathie complexe, malformations cérébrales et génitales

F13 est de sexe masculin, issu d'une IMG à 25+5 SA. Il s'agit de la troisième grossesse d'un couple non apparenté, après une fausse-couche spontanée et 1 garçon en bonne santé. On ne relève pas d'antécédent majeur chez les parents.

A la suite d'une échographie du 1^{er} trimestre sans particularité, l'échographie réalisée à 23 SA a mis en évidence un RCIU sévère possiblement d'origine vasculaire, et suspectait une hypoplasie aortique, une agénésie du corps calleux et une anomalie des organes génitaux externes. Par la suite, l'échographie de contrôle a permis de décrire une cardiopathie sévère à type de rétrécissement de la valve aortique avec un ventricule gauche hypertrophique akinétique.

L'examen macroscopique post-mortem retrouve en effet des anomalies des organes génitaux externes, présentant un tubercule génital proéminent incomplètement fermé et des bourrelets génitaux non-fusionnés sur la ligne médiane, ainsi qu'une microcéphalie et une rétrognathie. La

dissection précise la cardiopathie en décrivant un foramen ovale restrictif et un sinus coronaire ouvert dans l'oreillette gauche, confirme l'agénésie du corps calleux, et décrit de manière supplémentaire une hypoplasie thymique et une hypoplasie surrénalienne.

Ainsi, l'hypoxie chronique secondaire à la cardiopathie est à l'origine du RCIU et de l'hypoplasie thymique et surrénalienne. Elle n'est pas en lien avec les autres signes cliniques. Un syndrome de Smith-Lemli-Opitz a été proposé comme hypothèse. Ce syndrome, de transmission autosomique récessive, est provoqué par des variations du gène *DHCR7*, et est caractérisé par l'association d'un retard de croissance avec microcéphalie, une dysmorphie faciale, une atteinte cardiovasculaire (CIV, CIA, coarctation de l'aorte, persistance du canal artériel), une atteinte génitale (hypospade, ambiguïté, micropénis, scrotum hypoplasique et/ou bifide, microuretere, cryptorchidie), des anomalies des extrémités (polydactylies, syndactylies). Les dosages biochimiques retrouvent habituellement une élévation du 7-dehydrocholestérol (65). Ainsi, nous retrouvons des signes cliniques commun avec F13, telles que l'atteinte cardiaque et génitale, la microcéphalie, voire la rétrognathie. Des anomalies du corps calleux ont également déjà été rapportées. Cependant, les dosages biochimiques se sont révélés normaux, et aucune variation du gène *DHCR7* n'a été retrouvée lors du séquençage de l'exome.

❖ Fœtus 14 (F14): anomalies étagées de fermeture du tube neural et polymalformations

F14 est de sexe masculin, issu d'une IMG à 26 SA. Il s'agit de la première grossesse d'un couple non apparenté. La mère est suivie pour une hypothyroïdie. On note l'absence de supplémentation en acide folique ainsi qu'une perte de poids périconceptionnelle.

L'échographie morphologique réalisée à 23 SA a mis en évidence une myéloméningocèle étendue de la neuvième vertèbre thoracique (T9) à la deuxième vertèbre lombaire (L2), associé à une malformation d'Arnold-Chiari, une hydrocéphalie bilatérale et symétrique avec engagement du cervelet, une agénésie rénale droite et une malposition des pieds.

Pour rappel, les malformations désignées sous le nom de "malformations de Chiari" sont caractérisées par une descente des amygdales cérébelleuses à travers le foramen magnum. Le type I ne concerne que les amygdales, tandis que le type II implique le vermis cérébelleux, le quatrième ventricule et le bulbe. C'est ce type II que l'on retrouve en association à une myéloméningocèle et une hydrocéphalie (66).

L'examen macroscopique décrit en complément des traits de dysmorphie faciale avec une micrognathie et un nez aquilin. La dissection rapporte également une anomalie de fermeture de la suture sagittale avec issue de matériel, 3 nodules thymiques ectopiques, un mésentère commun incomplet, un pancréas court, une polysplénie et une dilatation de l'uretère gauche.

Nous pouvons émettre l'hypothèse que l'anomalie de fermeture du tube neural soit la conséquence d'une carence en acide folique. Mais ceci ne pourrait expliquer qu'une partie du phénotype.

❖ Fœtus 15 (F15): anomalies des membres récidivantes

F15 est de sexe masculin, issu d'une IMG à 16+6 SA. Il s'agit de la cinquième grossesse d'un couple de cousins issus de germain, ayant 1 enfant. L'histoire obstétricale rapporte 2 MFIU de fœtus ayant présentés un phénotype commun à type de mains bottes et pieds bots bilatéraux, avec hydramnios et RCIU. L'un des deux fœtus présentait également une asymétrie ventriculaire et des anomalies digestives. Un troisième nouveau-né est décédé à 15 jours de vie dans les suites d'une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) sans plus d'information. La grand-mère maternelle a également perdu 3 enfants de cause inconnue. Le frère du père de F15 présenterait une déficience intellectuelle ainsi que des traits de dysmorphie faciale (asymétrie de la face avec malformation auriculaire unilatérale), ainsi qu'une malformation d'un pouce, sans plus d'information.

L'échographie réalisée à 13+5 SA mettait en évidence des pieds bots bilatéraux et des mains bottes radiales bilatérales. La seconde échographie réalisée à 16 SA décrivait en supplément une amyotrophie ainsi qu'une CIV.

Les radiographies post-mortem mettent en évidence une brachymésophalangie bilatérale du cinquième doigt. L'examen macroscopique décrit un hygroma colli avec un cou court, un palais arqué, une ankyloglossie ainsi que des traits de dysmorphie faciale (rétrognathie, oreilles basses implantées). A la dissection, il est noté une rate accessoire.

Sur le plan génétique, devant la récurrence de grossesses pathologiques avec des fœtus présentant un phénotype similaire, et dans ce contexte de lien de parenté étroit, l'hypothèse principale serait une pathologie génétique se transmettant sur un mode récessif. Le séquençage de l'exome n'ayant pas permis de retrouver une variation potentiellement causale, nous suspectons l'implication d'un gène encore inconnu ou un mécanisme non identifié par la technique. La réalisation d'un séquençage du génome pourrait s'avérer utile dans ce contexte.

❖ Fœtus 16 (F16): anomalies étagées de la latéralisation

F16 est de sexe féminin, issu d'une MFIU à 16+2 SA. Le couple, non apparenté, a un premier enfant en bonne santé. La grossesse a été marquée par la survenue d'une mononucléose infectieuse à 5 SA chez la mère ainsi que par des vomissements gravidiques entraînant une perte de poids de 20kg. Elle est également suivie pour une hypothyroïdie, et a connu un épisode de cytolyse et cholestase hépatique sans étiologie retrouvée.

L'échographie réalisée à 12+6 SA décrivait un syndrome de Bonnevie-Ullrich avec une cardiopathie de type CAV, ainsi que des troubles du rythme cardiaque.

L'examen macroscopique de fœtopathologie décrit une dysmorphie faciale (oreilles basses implantées, nez court avec narines antéversées, microstomie). La dissection retrouve une agénésie

pancréatique ainsi qu'une anomalie étagée de la latéralisation avec un isomérisme pulmonaire gauche, une hétérotaxie duodénale, une hétérotaxie gastrique et une hétérotaxie splénique. L'histologie rapporte quelques caryocytomégalias surrénaliennes, ainsi que du tissu pancréatique localisé dans le cadre duodénal.

L'examen du cœur permet de comprendre l'histoire malformative de la cardiopathie: elle résulterait d'une anomalie de la migration vers la droite de l'orifice atrio-ventriculaire primitif, aboutissant à une transposition des vaisseaux de la base et des troncs supra-aortiques. Ceci a eu pour conséquence l'impossibilité de formation du septum inter-auriculaire et de la partie haute du septum inter-ventriculaire. L'insuffisance cardiaque fonctionnelle résultant de cette cardiopathie a provoqué une anoxie chronique, comme le montre les anomalies histologiques surrénaliennes.

L'hypothèse serait l'implication d'un facteur précoce, possiblement génétique, ayant perturbé la latéralisation lors du développement embryonnaire. Nous pourrions évoquer par exemple un facteur interagissant avec la voie de signalisation Nodal, étant donné son rôle bien connu dans la mise en place de la polarité droite-gauche. Cependant, la littérature rapporte que des variations pathogènes des gènes impliqués dans cette voie sont retrouvées chez seulement 5 à 10% des patients présentant une hétérotaxie (52).

❖ Fœtus 17 (F17): hernie diaphragmatique et poly malformations

F17 est de sexe féminin, issu d'une MFIU survenue à 34+5 SA. Il s'agit de la troisième grossesse de ce couple, après une fausse-couche spontanée et un garçon en bonne santé. La mère a présenté un fibroadénome du sein droit. Le père est suivi pour un adénocarcinome composite de type intestinal et neuroendocrine œsophagien.

Après une échographie du 1^{er} trimestre sans particularité, l'échographie morphologique du 2nd trimestre réalisée à 26 SA a mis en évidence un hydramnios dans un contexte d'hernie

diaphragmatique droite (incluant le lobe hépatique droit, le pancréas, des anses grêles et l'angle colique droit) déviant le cœur à gauche, et une asymétrie rénale.

L'autopsie fœtale retrouve une hypoplasie pulmonaire, une hypertrophie rénale bilatérale, une hypertrophie splénique avec une rate accessoire. L'analyse histologique décrit des follicules ovariens multi-ovocytaires, une dilatation des tubes collecteurs, une hyalinose scléreuse, segmentaire et focale ainsi qu'une augmentation de la granulopoïèse hépatique.

La hernie diaphragmatique est à l'origine de l'hypoplasie pulmonaire, de la déviation médiastinale et de l'hydramnios. Elle n'explique cependant pas les autres signes cliniques, et nous n'avons pas d'hypothèse particulière concernant ce fœtus.

❖ Fœtus 18 (F18): syndrome d'excès de croissance

F18 est un fœtus de sexe féminin, obtenu par FIV, issu d'une IMG à 25+5 SA. Il s'agit de la cinquième grossesse de ce couple en parcours d'AMP pour OATS. En effet, après l'obtention d'un premier enfant, les 3 tentatives suivantes se sont soldées par 2 grossesses biochimiques et 1 œuf clair. La mère est suivie pour une insuffisance veineuse. Le père a été opéré à la naissance d'une atrésie de l'œsophage.

Après une échographie du 1^{er} trimestre sans particularité, l'échographie réalisée à 23 SA a mis en évidence une agénésie du corps calleux et une hydronéphrose gauche.

A l'examen de fœtopathologie, la dissection révèle une hypertrophie rénale bilatérale, une hypertrophie thymique, une hypertrophie surrénalienne, une dilatation symétrique des ventricules latéraux et des noyaux gris centraux légèrement hypoplasiques. L'histologie décrit de nombreuses caryocytomégalias surrénaliennes, un nodule surrénalien accessoire, une dilatation des voies excrétrices intra-rénales gauches, ainsi que des signes d'hypoxie chronique (surcharge ferrique diffuse hépatique).

L'ensemble du phénotype est très évocateur d'un syndrome de Beckwith-Wiedemann, syndrome génétique lié à l'empreinte parentale de la région 11p15.5, impliquant plusieurs gènes (*IGF2*, *H19*, *KCNQ1OT1*, *CDKN1C*). Il est caractérisé par une croissance excessive, ainsi qu'une prédisposition tumorale et des malformations congénitales (dysmorphie faciale, omphalocèle, hernie ombilicale, diastasis des droits, viscéromégalies abdominales, malformations rénales et cardiaques. Les cytomégalies corticosurréniennes fœtales sont pathognomoniques. Les altérations génétiques retrouvées majoritairement sont les pertes de la méthylation de la région IC2 du chromosome maternel (50% des cas), une disomie uniparentale paternelle de la région 11p15.5 (20%), les gains de méthylation de la région IC1 du chromosome maternel (5%), des variations du gène *CDKN1C* de l'allèle maternel (5%). La cause demeure inconnue dans 20% des cas. Ainsi, la technique de séquençage de l'exome ne mettant pas en évidence les anomalies de la méthylation, il est possible que ce mécanisme explique le phénotype du fœtus (67). Notons par ailleurs que la grossesse avait été obtenue par technique d'AMP, à l'origine d'une légère majoration du risque d'anomalie de la méthylation chez les fœtus.

Cependant, après l'analyse de l'exome, les parents ont souhaité interrompre les investigations génétiques.

❖ Fœtus 19 (F19): Syndrome poly malformatif

F19 est de sexe féminin, issu d'une IMG à 25+2 SA. Il s'agit de la deuxième grossesse du couple, après une fausse-couche spontanée. La mère a 3 filles en bonne santé d'une précédente union. Le père présenterait des anomalies au spermogramme sans plus d'information.

Après une échographie du 1^{er} trimestre sans particularité, l'échographie du 2nd trimestre a mis en évidence chez ce fœtus une dilatation ventriculaire unilatérale, une dextrocardie et un doute sur une anomalie du corps calleux. L'échographie ultérieure réalisée à 25+1 SA a permis de préciser

une hypoplasie du corps calleux et a décrit en complément une fusion antérieure des thalami, une malformation auriculaire, et une hypodysplasie rénale gauche.

Les radiographies squelettiques postnatales révèlent 10 paires de côtes à droite et 12 à gauche avec présence d'hémivertèbres thoraciques et lombaires. L'examen externe décrit une dysmorphie faciale (front haut, racine du nez large, narines antéversées, épicanthus, philtrum bombé, lèvres fines horizontales, microtie avec oreilles basses implantées et orifices borgnes). Les organes génitaux externes paraissent légèrement masculinisés (fourchette vulvaire réduite avec orifice très postérieur et petites lèvres prolabées, fusionnées en antérieure). A la dissection, il est retrouvé un isomérisme pulmonaire droit, des reins en fer à cheval avec un rein droit hyperlobulé et kystique. L'examen met également en évidence des foyers d'hétérotopies dans le vermis cérébelleux. Le placenta présente une artère ombilicale unique et des signes d'hypoxie chronique.

Ce fœtus associe de nombreuses malformations squelettiques, cérébrales, rénales, avec une dysmorphie faciale, une anomalie de la latéralisation du cœur et des poumons ainsi qu'une ambiguïté sexuelle. Cette association de malformations congénitales, impliquant divers systèmes d'origine embryologique différente, semble résulter d'un ou plusieurs facteurs ayant perturbés le développement embryonnaire de manière très précoce. Nous n'avons pas d'hypothèse plus spécifique. Un séquençage du génome pourrait être envisagé dans ce contexte.

❖ Fœtus 20 (F20): anomalies du pôle caudal

F20 est de sexe féminin, issu d'une IMG à 27+2 SA. Il s'agit de la première grossesse d'un couple non apparenté, obtenue par FIV. Nous notons la présence d'épilepsie chez un oncle maternel et son fils, et une IMG pour spina bifida chez une cousine maternelle. Le père de F20 présentait à la naissance un hypospade, une duplication du pouce gauche avec un appendice au dépend de la première phalange. Son frère aurait une déformation thoracique à type de pectus carinatum.

L'échographie du 1^{er} trimestre de ce fœtus retrouvait une hyperclarté nucale ainsi qu'une petite omphalocèle. Lors des échographies réalisées à 25 et 26 SA, il était rapporté en supplément une ventriculomégalie, une moelle attachée basse, une dilatation digestive avec imperforation anale, des reins en fer à cheval, des bourrelets génitaux fusionnés en arrière ainsi que des anomalies squelettiques (dernière phalange du pouce bifide à droite, déformation de l'avant-pied droit en coup de vent). Par ailleurs, il était noté un kyste du cordon ombilical et une artère ombilicale unique.

L'examen de fœtopathologie rapporte une ambiguïté sexuelle avec des organes génitaux externes masculinisés, un utérus surdéveloppé et la partie distale du vagin atrésique. Ceci est associé à la coexistence d'une trompe et d'un épидidyme sans gonade à droite, et d'un ovaire à gauche. Par ailleurs, l'examen macroscopique décrit des oreilles asymétriques, un chevauchement des os du crâne, des anomalies des membres (membre inférieure droit atrophié, pieds creux, clinodactylie de l'hallux, chevauchements des orteils). La dissection ne retrouve pas de reins en fer à cheval, mais un rein gauche en anneau et une hypoplasie rénale droite avec un uretère droit dilaté. Le colon sigmoïde est dilaté, avec un rectum se terminant en cul de sac et présentant une fistule recto-utérine. Enfin, l'histologie rapporte quelques kystes glomérulaires, des suffusions hémorragiques du cortex rénal et sous-capsulaires hépatiques secondaires l'hypoxie chronique, probablement par la présence d'une artère ombilicale unique.

Ce fœtus présente des malformations principalement du pôle caudal (moelle attachée basse, déformation du membre inférieure droit, anomalies rénales, digestives avec imperforation anale, et ambiguïté génitale externe et interne). Nous n'avons pas d'hypothèse particulière à évoquer dans ce contexte.

TABLEAU 5. Résumés des phénotypes observés et attendus et description des variations génétiques des fœtus avec variations pathogènes ou probablement pathogènes

N°	Issue de grossesse	Terme (SA)	Sexe	Résumé des signes cliniques échographiques et autopsiques retenus	Gène (N°OMIM)	Variant et transcrit	Transmission	Zygote	Origine (héritée ou de novo)	Pathologie (n°OMIM)	Phénotype malformatif décrit dans la littérature (OMIM)	Signes non décrits	Classe ACMG
F1	MFIU	23SA+5	F	Anomalie d'Ebstein	<i>MYH7</i> (160760)	NM_000257.3: c.1640C>T, p.(Thr547Ile)	AD	Htz	de novo	Cardiomyopathie dilatée (613426)	Dilatation du VG, insuffisance cardiaque, NCVG, arythmie ventriculaire, anomalie d'Ebstein, régurgitation tricuspide, CIA, valve aortique bicuspidie, coarctation de l'aorte, embolie pulmonaire, hypoplasie de l'artère pulmonaire	-	4
F2	IMG	17SA+4	F	Syndrome de Bonnevie-Ullrich, pieds bots bilatéraux, hypoplasie cérébelleuse, hypoplasie vermine, anomalie d'orientation de la cornée, dysmorphie faciale, fente palatine postérieure, apex cardiaque bifide, mésentère commun complet, uretères tortueux	<i>NRAS</i> (164790)	NM_002524.3: c.35G>C, p.(Gly12Ala)	AD	Htz	de novo	Syndrome de Noonan (613224)	Hydramnios, artère ombilicale unique, petite taille, macrocéphalie, ptérygium colli, dysmorphie faciale (oreilles basses implantées, hypertélorisme, cils longs, fentes palpébrales orientées vers le bas), cardiomyopathie hypertrophique, sténose pulmonaire, déformation thoracique, cryptorchidie, particularités de la peau et des dérivés	Anomalie d'orientation de la cornée, fente palatine postérieure, apex cardiaque bifide	4
F3	IMG	29SA+2	F	Hyperclarté nucala avec logettes para cervicales bilatérales, anomalies de la fosse postérieure avec kyste de la poche de Blake, dilatation ventriculaire, agénésie partielle du vermis cérébelleux, hexadactylie post-axiale bilatérale des membres supérieurs, pieds bots bilatéraux	<i>USP9X</i> (300072)	NM_001039590.2: c.(5161C>T), p.(Gln1721*)	XLD	Htz	de novo	Déficience intellectuelle syndromique (300968)	Hypoplasie du corps calleux, hypoplasie cérébelleuse, ventriculomégalie, gyration anormale, malformations de Dandy-Walker, dysmorphie faciale, malformations cardiaques congénitales, anomalies thyroïdiennes, dysplasie rénale, hydronéphrose, atrésie anale, polydactylie postaxiale, petites mains et petits pieds, dysplasie et luxation des hanches, scoliose, fossette sacrée, petite taille	-	5
F4	IMG	32SA+5	F	Hyperclarté nucala, anomalies squelettiques mains/pieds, fossette sacrée, corps calleux court, dysmorphie faciale, fente palatine postérieure, kyste latéro-cervical, cardiopathie complexe, poumon gauche unilobé et droit bilobé (isomérisme gauche), rate accessoire, hypoplasie de la vésicule biliaire, hypoplasie rénale droite avec diminution du nombre de néphrons et dilatations tubulaires, artère ombilicale unique	<i>KMT2D</i> (602113)	NM_003482.3 : c.6496C>T, p.(Gln2166*)	AD	Htz	de novo	Syndrome de Kabuki (147920)	Microcéphalie, dysmorphie faciale (grands oreilles en rotation postérieur, pits pré-auriculaires, éversion du tiers latéral de la paupière inférieure, sourcils arqués, ptosis, cils épais), anomalies cardiaques congénitales, anomalie de la rotation intestinale, sténose anale, imperforation anale, micropénis, cryptorchidie, rein unique fusionné, ectopie rénale, obstruction de la jonction pyelo-urétérale, anomalies vertébrales, brachydactylie du 5 ^{ème} doigt, persistance des fingerpads, luxation congénitale de hanche, tâches café-au-lait, hirsutisme, hypothyroïdie congénitale	-	5
F5	IMG	28SA+2	M	Atrophie cérébrale avec anomalie du corps calleux, hypoplasie cérébelleuse, hypoplasie génitale externe, microcéphalie, dysmorphie faciale, artère ombilicale unique	<i>DYRK1A</i> (600855)	NM_001396.4: c.665-2A>G, p.?	AD	Htz	de novo	Déficience intellectuelle (614104)	RCIU, dysmorphie faciale (hypotélorisme, enophtalmie, nez bulbeux, micrognathie, grandes oreilles simplifiées, hélix épais), incisives proéminentes, microcéphalie, anomalies cérébrales (hypomyélinisation, atrophie cérébrale, anomalies du corps calleux), cardiaques (CIA, CIV), urogénitales (micropénis), musculo squelettiques (scoliose, pectus excavatum)	-	5
F6	IMG	24SA+3	M	Cardiopathie avec anomalie de fonction du VD, hypoplasie pulmonaire, oreilles basses implantées, défaut cutané de l'extrémité céphalique, nodule surrénalien, polysplénie	<i>ACTN2</i> (102573)	NM_001103.2: c.1839+2T>C, p.?	AD AR	Hmz	père et mère	Cardiomyopathie dilatée/hypertrophique +/- NCVG (612158)	CIA, dilatation bi-ventriculaire, hypertrophie du VG, septum sigmoïdal, hypertrophie bi-ventriculaire, hypertrophie de cardiomyocytes, fibrose du myocarde et endocarde	Hypoplasie pulmonaire, polysplénie, nodule surrénalien, oreilles basses	4

TABLEAU 6. Résumés des phénotypes observés et description des variations génétiques des fœtus avec variations de signification clinique incertaine

N°	Issue de grossesse	Terme (SA)	Sexe	Résumé des signes cliniques échographiques et autopsiques retenus	Gène (N°OMIM)	Variant et transcrit	Transmission	Zygote	Origine (héritée ou de novo)	Pathologie (n°OMIM)	Classe ACMG
F7	IMG	18SA+3	F	Dysmorphie faciale, anomalies osseuses axiales, pieds bots bilatéraux, imperforation anale, atrésie du canal anal, méésentère commun complet, sténose sous-vésicale de l'urètre, agénésie rénale gauche et rein droit multikystique, anomalies génitales externes, absence de corps utérin, présence de tissus érectile, artère ombilicale unique	<i>PKD1</i> (601313)	NM_001009944.2:c.[10043G>A;8293C>T];[c.4546G>A],p.[(Arg3348Gln);(Arg2765Cys)];[(Ala1516Thr)]	AR	Htz comp	2 du père et 1 de la mère	Syndrome des reins polykystiques autosomique récessif (173900)	3
F8	IMG	14SA+2	F	Hygroma colli, anomalies osseuses vertébrales et phalangiennes, CIA, imperforation anale avec atrésie du canal anal et du rectum	<i>EPHB4</i> (600011)	NM_004444.5: c.1297+5G>A, p.?	AD	Htz	de novo	Malformations lymphatiques (617300)	3
F9	IMG	11SA+6	F	Exencephalie, microstomie, kystes tubulaires et glomérulaires avec anomalies folliculaires, incisive solitaire médiane supérieure	<i>PKD1</i> (601313)	NM_001009944.2: c.9484C>T, p.(Arg3162Cys)	AD	Htz	père	Syndrome des reins polykystiques autosomique dominant (173900)	3
F10	IMG	30SA+3	F	Pieds bots bilatéraux, hypoplasie du corps calleux, arhinencéphalie, anomalies costales, brachydactylies, syndactylies, camptodactylies, dysmorphie faciale, artère sous-clavière droite rétro-œsophagienne, poumons unilobaires, reins hyperéchogènes avec rein droit macro-polykystique	<i>UBR5</i> (608413)	NM_015902.5: c.8139_8140dupGT, p.(Phe2714Cysfs*5)	-	Htz	de novo	-	3

TABLEAU 7. Résumés des phénotypes observés des fœtus sans diagnostic

N°	Issue de grossesse	Terme (SA)	Sexe	Résumé des signes cliniques échographiques et autopsiques retenus
F11	Décès périnatal	39SA+6	F	Anomalies osseuses costales, vertébrales et métacarpiennes, nodules thymiques ectopiques, mégadolichocôlon
F12	IMG	32SA+1	F	Anomalies squelettiques des membres inférieurs et supérieurs avec amyotrophie, sillon supplémentaire du poumon gauche, hyperplasie thymique, atrésie œsophagienne et duodénale, mésentère commun complet, atrésie anale, anomalie de rotation du bourgeon pancréatique, dilatation des voies biliaires, urétéro-hydronéphrose droite, appendice caudal, utérus bifide, artère ombilicale unique
F13	IMG	25SA+5	M	Agénésie du corps calleux, cardiopathie, anomalies des organes génitaux externes, microcéphalie, rétrognathie
F14	IMG	26SA	M	Myéloméningocèle avec malformation Arnold-Chiari et hydrocéphalie bilatérale, malposition des pieds, anomalie des sutures du crâne, dysmorphie faciale, tissus thymique ectopique, mésentère commun incomplet, pancréas court, polysplénie, agénésie rénale droite, dilatation de l'uretère gauche sans obstruction
F15	IMG	16SA+6	M	Pieds bots bilatéraux, mains bottes radiales, brachymésophalangie bilatérale du 5 ^{ème} doigt, arthrogrypose, amyotrophie généralisée, hygroma colli, dysmorphie faciale, CIV, rate accessoire
F16	MFU	16SA+2	F	Syndrome de Bonnevie-Ullrich, cardiopathie malformative avec transposition des vaisseaux et canal atrio-ventriculaire, dysmorphie faciale, anomalie étagée de la latéralisation (isomérisme pulmonaire gauche, hétérotaxie duodénale et gastrique, isomérisme splénique), agénésie pancréatique, tissus pancréatique ectopique
F17	MFU	34SA+5	F	Dysmorphie faciale, hernie diaphragmatique droite, néphromégalie, hypertrophie splénique, rate accessoire, dilatation des tubules rénaux, hyalinose scléreuse, glomérulaire et focale, augmentation de la granulopoïèse hépatique, follicules ovariens multiovocytaires
F18	IMG	25SA+5	F	Agénésie du corps calleux, noyaux gris centraux hypoplasiques, dilatation des ventricules latéraux, hypertrophie rénale bilatérale, hypertrophie thymique, hypertrophie surrénalienne, nodule surrénalien accessoire, caryocytomégalies surrénaliennes
F19	IMG	25SA+2	F	Anomalies osseuses costales et vertébrales, hypoplasie du corps calleux, ventriculomégalie, fusion antérieure des thalami, dysmorphie faciale, isomérisme pulmonaire droit, dextrocardie, reins en fer à cheval, rein droit hyperlobulé et kystique, organes génitaux externes masculinisés, artère ombilicale unique
F20	IMG	27SA+2	F	Hyperclarté nucale, phalange du pouce bifide, déformation de l'avant-pied droit, agénésie sacrée, atrophie du membre inférieure droit, pieds creux, anomalies des orteils, chevauchement des os du crâne, ventriculomégalie, moelle attachée basse, omphalocèle, oreilles asymétriques, diverticule de Meckel, imperforation anale avec dilatation digestive basse, rein gauche annulaire, rein droit hypoplasique, hydro uretère droit, quelques kystes rénaux, hypoplasie de la vessie, ambiguïté des organes génitaux externes et internes, artère ombilicale unique avec kyste du cordon

3. Discussion

Les malformations congénitales multiples concernent près de 2.5% des naissances vivantes en Europe (1) et sont la cause d'une morbi-mortalité majeure. Parvenir à un diagnostic permettra à court terme de fournir des informations plus complètes aux parents, leur apportant une aide dans leur choix de poursuite ou d'interruption médicale de grossesse. A moyen terme, cela peut aider les équipes médicales dans la prise en charge de la grossesse puis du nouveau-né. Enfin, sur le long terme, le diagnostic permettra d'adapter le conseil génétique concernant le risque de récurrence pour les enfants à venir.

En vue de parvenir à un diagnostic étiologique, la difficulté réside dans la multiplicité des causes pouvant être à l'origine de malformations fœtales : génétiques (chromosomiques, monogéniques et génome maternel), infectieuses, médicamenteuses, nutritionnelles, physiques (température)... Ces facteurs pourront également se combiner dans le cadre d'étiologies multifactorielles.

Au cours de cette étude, nous avons cherché à démontrer l'apport du séquençage de l'exome en trio et de l'examen de fœtopathologie aux malformations congénitales multiples.

Nous avons ainsi constitué une cohorte de 20 fœtus présentant des malformations congénitales multiples, et dont les résultats d'ACPA étaient non contributifs. Les fœtus présentaient des phénotypes hétérogènes, dont les malformations les plus rapportées concernaient la face (dans 80% des cas), le système musculosquelettique (65%) et le système rénal et urinaire (60%).

Le rendement diagnostique du séquençage dans notre cohorte a été de 30% (n=6). Diderich *et al.* ont réalisé une analyse rétrospective du rendement du séquençage de l'exome dans un contexte similaire de malformations congénitales de découverte prénatale avec ACPA normale. Parmi 391 fœtus inclus, 93 présentaient au moins 2 malformations majeures dans différents systèmes. Le taux de diagnostic dans cette catégorie s'est élevé à 29% (21%-39%) (68). De plus, la revue systématique et la méta-analyse réalisée par l'équipe de Mellis *et al.* concernant le taux diagnostique du séquençage

de l'exome dans le cadre des malformations congénitales prénatales avec ACPA et/ou caryotypes normaux a retrouvé un taux diagnostique de 31% (26%-36%), parmi 4350 fœtus inclus. En réalisant une analyse par sous-groupes, ils ont déterminé que le taux diagnostique dans le cadre de malformations fœtales multi-systémiques était de 29% (69). Ainsi, nos résultats sont comparables à ce qui est retrouvé dans la littérature. Concernant le taux de rendement diagnostique en fonction du système anatomique impliqué, étant donné la taille de notre cohorte limitée à 20 fœtus, les données ne peuvent pas être statistiquement significatives. Nous pouvons cependant nous intéresser à ce qui est rapporté dans la littérature. Normand *et al.*, ont réalisé une analyse rétrospective de 146 exomes prénataux, dont les fœtus présentaient au moins une anomalie structurelle détectée à l'imagerie ou à l'autopsie. Leur analyse statistique a révélé que les fœtus présentant une anomalie cranio-faciale avaient significativement plus de chance d'avoir un diagnostic positif (46%, 22/48) (70). De la même manière, la revue systématique et méta-analyse réalisée par Pauta *et al.* retrouve un rendement plus élevé lorsque les malformations concernent des anomalies cranio-faciales (47%), du système nerveux central (45%) et du système musculosquelettique (43%) (71). Dans ces 2 études, le système cranio-facial semble avoir le meilleur taux de rendement. Cependant, nous devons garder un regard critique quant à la définition des systèmes anatomiques. Par exemple, concernant notre cohorte, nous avons utilisé nos propres regroupements, qui peuvent différer des autres études : nous avons pris l'initiative de séparer le système digestif et endocrine, ou encore, de séparer le système rénal et génital, ce qui n'est pas toujours le cas pour d'autres études.

Dans notre cohorte, les variations pathogènes et probablement pathogènes concernaient les gènes *MYH7*, *NRAS*, *USP9X*, *KMT2D*, *DYRK1A* et *ACTN2*. Les gènes retrouvés dans la littérature sont très variés, apportant un élément supplémentaire pour la réalisation d'un séquençage d'exome, et non de panel de gènes, ces derniers étant trop restrictifs. La revue de la littérature menée par Pauta *et al.*, révèle que le gène *KMT2D* est celui qui est le plus souvent impliqué dans la survenue de malformations congénitales prénatales. Parmi 213 fœtus ayant un diagnostic positif, 11 variations pathogènes de ce gène ont été retrouvées. Par ailleurs, le groupe de gènes le plus impliqué est celui des RASopathies, qui concernait alors 22 fœtus parmi 213 (71). Le gène *KMT2D* et le gène *NRAS*, ce

dernier appartenant à la famille des RASopathies, sont justement retrouvés responsables des malformations congénitales de 2 fœtus de notre cohorte.

Concernant les phénotypes des fœtus ayant un diagnostic positif, on constate que malgré un caractère parfois extrême, certains sont en adéquation avec ce qui est connu. C'est par exemple le cas pour la maladie d'Ebstein liée à *MYH7* de F1, ou encore les anomalies cérébrales et la polydactylie impliquant *USP9X* chez F3. D'autres phénotypes diffèrent parfois considérablement de ce qui est connu en postnatal. Prenons l'exemple du syndrome de Kabuki provoqué par l'haplo-insuffisance de *KMT2D*, que nous avons retrouvé chez F4. Le phénotype postnatal est bien décrit, associant une dysmorphie faciale caractéristique, une microcéphalie, des anomalies des membres, une petite taille, des atteintes rénales et cardiaques, accompagnés d'une déficience intellectuelle mineure à modérée. Ces atteintes ne sont pas superposables à ce qui est observé chez F4. Le cas de notre cohorte présentait principalement une cardiopathie complexe et une atteinte rénale, ainsi que quelques signes atypiques peu rapportés (hypoplasie de la vésicule biliaire, isomérisme pulmonaire, hypoplasie du corps calleux). Normand *et al.*, décrivent également 4 fœtus avec variations pathogènes *KMT2D* ayant une cooccurrence d'anomalies cardiaques (n=4/4) et rénales (n=3/4), ce qui semblent être une association commune en prénatal dans ce contexte (70). Enfin, pour certains gènes, tels *NRAS* ou *ACTN2* de notre cohorte, certains signes cliniques n'avaient, à notre connaissance, encore jamais été rapportés, laissant supposer la présence potentielle d'un événement supplémentaire, génétique ou non, indéterminé à ce jour. C'est le cas par exemple pour F2 qui présente une anomalie d'orientation de la cornée, une fente palatine postérieure et un apex cardiaque bifide, non rapportés dans la littérature chez les patients présentant des variations du gène *NRAS*. C'est également le cas pour F6, présentant une hypoplasie pulmonaire, une polysplénie, un nodule surrénalien ainsi que oreilles basses implantées, non rapportés dans les phénotypes associés aux variations d'*ACTN2*.

Les variations de signification clinique incertaine sont celles pour lesquelles la pathogénicité n'est pas établie. Six de ces variations ont été retrouvées dans 3 gènes (*PKD1*, *EPHB4* et *UBR5*) et

concernent 4 fœtus, soit 20% de notre cohorte. La variation *de novo* retrouvée dans *EPHB4* est une variation intronique, dont des études fonctionnelles ont permis de prouver son effet délétère sur l'épissage par l'activation d'un site cryptique donneur, apportant un élément de preuve en faveur de son implication dans une partie du phénotype. Elle n'explique cependant pas l'atteinte osseuse majeure du fœtus, ainsi que les malformations digestives. Les variations du gène *PKD1* retrouvées chez F7 (2 variations faux-sens héritées du père en *cis*, et 1 variation faux-sens héritée de la mère en *trans*) ainsi que chez F9 (1 variation faux-sens héritée du père) sont toutes héritées de parents asymptomatiques. Ces 2 fœtus présentent une dysplasie rénale multikystique, mais associée à d'autres éléments malformatifs majeurs. Une participation de *EPHB4* et *PKD1* à ces phénotypes polymalformatifs est donc plausible, mais l'implication d'un second évènement indéterminé à l'heure actuelle n'est pas écartée. *UBR5* est un gène de découverte récente, dont le phénotype associé n'est pas encore décrit, mais dont l'implication dans le développement embryonnaire est suspectée. Cette variation, communiquée à l'équipe de recherche dédiée, va donc permettre des analyses supplémentaires et aider à l'extension des connaissances concernant ce gène.

La mise en évidence de variations de signification clinique incertaine peut être source d'anxiété pour les parents, et peuvent mettre en difficulté le clinicien. Cependant, leur caractérisation contribue à la description de nouveaux gènes et nouveaux phénotypes, et à terme, elles permettront de nouveaux diagnostics. La création d'une base de données spécifique pour les variations retrouvées en prénatal pourraient être un support utile dans ce contexte (72).

Les malformations congénitales peuvent être détectées lors des échographies prénatales, et certaines de façon très précise. Ces échographies donnent accès aux grosses structures, comme le cœur, les reins, le cerveau... D'autres techniques d'imagerie sont envisageables afin d'affiner le diagnostic, comme l'IRM cérébrale fœtale ou le scanner osseux fœtal. Cependant, malgré le perfectionnement des techniques, chacune d'entre elles possèdent des limites, et certaines malformations peuvent ainsi être non vues ou constituer de faux-positifs. Ainsi, les anomalies concernant le squelette, le tractus digestif et le système génito-urinaire sont souvent difficiles à

apprécier en échographie. Aux limites de la technique vont s'ajouter d'autres contraintes, comme la présence d'oligo ou d'anamnios, l'âge gestationnel, la position fœtale, l'index de masse corporelle de la mère, le terme de la grossesse et l'expérience de l'échographiste. Ainsi, la seule description d'anomalies échographiques peut limiter la description phénotypique des fœtus, et potentiellement écarter la suspicion d'une étiologie génétique.

L'examen de fœtopathologie est considéré comme le gold standard dans le diagnostic des malformations congénitales. Il offre l'opportunité d'aller au-delà des limites imposées par l'approche échographique prénatale, et apporte une confirmation, précision, correction des anomalies détectées à l'imagerie. La description phénotypique est alors étendue et affinée, permettant une orientation diagnostique à priori ou par reverse phenotyping. Cependant, comme pour tout examen, des limites existent, et doivent être prises en compte : certaines malformations peuvent être induites par le décès, la macération, l'anoxie et l'hypoxie...

Au sein de notre cohorte, l'examen de fœtopathologie a apporté des signes cliniques supplémentaires, majeurs et/ou mineurs, dans l'ensemble des cas, et a permis de corriger 3 signes décrits à l'échographie chez 3 fœtus, soit 15% de la cohorte (une agénésie du vermis cérébelleux infirmée, un corps calleux décrit comme "fin" à l'échographie mais retrouvé normal à l'autopsie, et un rein gauche annulaire avec rein droit hypoplasique à la dissection alors que l'échographie décrivait des reins en fer à cheval). Une revue systématique de la littérature réalisée par Rossi *et al.* compare la corrélation entre l'autopsie fœtale et les malformations fœtales détectées par l'échographie prénatale de 3534 fœtus. L'autopsie a confirmé les anomalies échographiques dans 68% des cas, a apporté des informations supplémentaires dans 22.5%, et a infirmé des anomalies dans 9.2% (73).

Aarabi *et al.*, ont réalisé une analyse rétrospective de l'utilité diagnostique et des limites du séquençage de l'exome de 20 fœtus présentant des malformations congénitales multiples avec ACPA normale, qu'ils ont réinterprété avec les données issues de l'autopsie. L'analyse initiale n'avait retrouvé aucune variation pathogène. Lors de la réinterprétation avec les données de fœtopathologie, une variation pathogène a été retrouvée (1/20, 5%), ainsi que 2 variations de

signification clinique incertaine (2/20, 10%). Une seconde variation pathogène a été mise en évidence par panel suite à la description de signes cliniques particuliers à l'autopsie. L'utilité de l'autopsie a ainsi été largement confirmée (74).

Récemment, une étude concernant les limites du phénotype fœtal à l'interprétation du séquençage de l'exome a été publiée. Dans cette étude, les auteurs sont repartis d'une cohorte de 32 fœtus pour lesquels un diagnostic avait été posé par séquençage de l'exome. Une relecture a été organisée, sans avoir accès aux données de fœtopathologie : un taux de diagnostic similaire en trio a été retrouvé pour les variations de classe 4 ou classe 5, mais non pour celle de classe 3 (50%). Les auteurs concluent à une utilité limitée de l'autopsie fœtale dans les cas où des variations probablement pathogènes et pathogènes sont retrouvées, mais une utilité essentielle pour l'interprétation des variations de signification incertaine, des cas négatifs, et des cas diagnostiqués mais atypiques (75). Ainsi, l'examen de fœtopathologie, permettant une description approfondie du phénotype fœtal, apporte une aide à l'interprétation des données du séquençage, que ce soit dans le cas d'un diagnostic génétique évident en vérifiant que l'ensemble des signes cliniques sont expliqués par la ou les variations retenues (exclusion d'un double diagnostic) ; en permettant de retenir certaines variations de signification clinique incertaine dans des gènes dont l'implication est fortement suspectée ; et enfin en apportant une première description clinique lors de la découverte de nouveaux gènes. Le rendement diagnostique ne peut être que potentialisé. Elle permet de plus d'étendre les spectres phénotypiques des syndromes connus et bien décrits en postnatal, et de décrire des phénotypes associés à des syndromes existants uniquement en prénatal car létaux. L'apport de cette analyse est beaucoup plus important pour les cas où un diagnostic étiologique certain n'est pas établi : lors de l'identification d'une variation de signification clinique incertaine ou d'un nouveau gène, la description phénotypique du cas permettra d'apporter des éléments essentiels à l'interprétation en vue de la reclassification ultérieure du variant ; pour les cas sans diagnostic, elle permettra peut-être d'orienter vers une cause autre que génétique.

Les forces de notre étude résident d'une part dans la stratégie en trio, permettant une interprétation plus efficiente des variations. L'analyse de l'exome en trio permet en effet de détecter très rapidement les variations *de novo*, et de déterminer l'origine parentale dans le cas des variations de transmission récessive, permettant un diagnostic de certitude immédiat. Cette approche permet également d'identifier des variations de signification incertaine, ou des nouveaux gènes. Par exemple, la survenue *de novo* de la variation du gène *UBR5* a permis d'apporter des éléments supplémentaires quant à l'implication potentielle d'*UBR5* dans le phénotype du fœtus. Ceci a ainsi participé à la découverte potentielle d'un nouveau gène.

De plus, les fœtus de notre cohorte présentaient des malformations variées, dont les descriptions ont été précisées, complétées et parfois corrigées par l'autopsie. L'examen de fœtopathologie est complémentaire à l'imagerie prénatale, et indispensable à une description précise des phénotypes ainsi qu'à la compréhension de l'histoire développementale des fœtus. Elle permet par ailleurs d'apporter une aide conséquente à l'interprétation des variations.

La faiblesse principale de notre cohorte réside dans sa taille, puisque seulement 20 fœtus ont été inclus. Nos statistiques sont ainsi peu significatives, malgré leur concordance avec ce qui est annoncé avec des cohortes de plus grandes tailles.

VI. CONCLUSION

Nos résultats sont en faveur de la réalisation d'un séquençage de l'exome en trio et d'un examen de fœtopathologie en complément des imageries prénatales, chez les fœtus présentant des malformations congénitales multiples et dont l'ACPA et/ou le caryotype sont non contributifs. En effet, l'analyse des séquences codantes des gènes humains, qu'ils soient connus ou non en pathologie humaine, a permis d'obtenir un taux diagnostique non négligeable de 30% dans cette cohorte. L'approche en trio a été efficiente pour établir rapidement les diagnostics de certitude pour ces familles, et a aidé à l'interprétation de variations de signification clinique incertaine dont l'une va être reclassée, ainsi qu'à l'identification d'un nouveaux gène d'intérêt.

L'examen de fœtopathologie reste un examen central qui doit être associé aux analyses génétiques en cas de malformations congénitales multiples. Grace à la description approfondie du phénotype fœtal, cet examen permet d'améliorer l'analyse génétique dans tous les cas : i) en cas de diagnostic génétique évident, il permet de vérifier que le phénotype fœtal est entièrement expliqué par la ou les variations rapportées, et d'exclure ainsi un double diagnostic ii) lors de l'analyse, il permet de retenir des variations de signification clinique incertaine pour des gènes ayant une présentation clinique fortement compatible iii) il permet d'apporter des éléments de description clinique indispensables pour les nouveaux gènes découverts.

Pour les fœtus présentant des malformations congénitales multiples dont le séquençage de l'exome demeure non concluant malgré une origine génétique fortement suspectée (50% de notre cohorte), le séquençage du génome pourrait constituer l'étape ultérieure. En effet, cette approche nous donnerait accès à d'autres régions non analysables par exome, telles que les variations en zones introniques profondes ou intergéniques pouvant avoir une action sur des éléments régulateurs ou être impliquées dans des TAD (topological associated domain). Cette approche permettrait également de

mettre en évidence des mécanismes pathogènes non détectables par l'exome, comme les translocations équilibrées, les inversions, les expansions, ou encore les anomalies de la méthylation...

Cependant, nous devons garder à l'esprit que le génome fœtal n'est pas à lui seul à l'origine de la survenue de toutes ces malformations. D'autres causes sont à considérer comme le génome maternel dont une implication semble de plus en plus évidente dans la survenue de certaines malformations congénitales, mais aussi certaines infections virales, ou encore les molécules tératogènes.



VU

Strasbourg, le 05-09-22

La présidente du jury de thèse

Professeur Maria Cristina ANTAL

VU et approuvé

Strasbourg, le 06 SEP 2022

Le Doyen de la Faculté de

Médecine, Maïeutique et Sciences de la Santé

Professeur Jean SIBILA



VII. BIBLIOGRAPHIE

1. Dolk H, Loane M, Garne E. The Prevalence of Congenital Anomalies in Europe. In: Posada de la Paz M, Groft SC, éditeurs. *Rare Diseases Epidemiology* [Internet]. Dordrecht: Springer Netherlands; 2010 [cité 14 août 2022]. p. 349-64. (Advances in Experimental Medicine and Biology). Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-90-481-9485-8_20
2. Naissances et taux de natalité | Insee [Internet]. [cité 14 août 2022]. Disponible sur: <https://www.insee.fr/fr/statistiques/2381380>
3. Anomalies et malformations congénitales [Internet]. [cité 13 août 2022]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-de-la-mere-et-de-l-enfant/anomalies-et-malformations-congenitales>
4. Solomon BD. VACTERL/VATER Association. 2011;12.
5. Accueil | embryology.ch [Internet]. [cité 13 août 2022]. Disponible sur: <https://embryology.ch/>
6. Matyášová M, Dobšáková Z, Hiemerová M, Kadlecová J, Nikulenkov Grochová D, Popelínská E, et al. Prenatal diagnosis of Noonan syndrome in fetuses with increased nuchal translucency and a normal karyotype. *Ceska Gynekol*. 2019;84(3):195-200.
7. So PL, Luk HM, Cheung KW, Hui W, Chung MY, Mak ASL, et al. Prenatal phenotype of Kabuki syndrome: A case series and literature review. *Prenat Diagn*. 2021;41(9):1089-100.
8. Magini P, Palombo F, Boito S, Lanzoni G, Mongelli P, Rizzuti T, et al. Prenatal diagnosis of Simpson-Golabi-Behmel syndrome. *Am J Med Genet A*. déc 2016;170(12):3258-64.
9. Mitchison HM, Valente EM. Motile and non-motile cilia in human pathology: from function to phenotypes. *J Pathol*. 2017;241(2):294-309.
10. Beales P, Elcioglu N, Woolf A, Parker D, Flinter F. New criteria for improved diagnosis of Bardet-Biedl syndrome: results of a population survey. *J Med Genet*. juin 1999;36(6):437-46.
11. Forsyth R, Gunay-Aygun M. Bardet-Biedl Syndrome Overview. :22.
12. Hartill V, Szymanska K, Sharif SM, Whewey G, Johnson CA. Meckel–Gruber Syndrome: An Update on Diagnosis, Clinical Management, and Research Advances. *Front Pediatr*. 20 nov 2017;5:244.
13. Leigh MW, Horani A, Kinghorn B, O'Connor MG, Zariwala MA, Knowles MR. Primary Ciliary Dyskinesia (PCD): A genetic disorder of motile cilia. *Transl Sci Rare Dis*. 2019;4(1-2):51-75.
14. Maladies multifactorielles / Histoire de l'Inserm [Internet]. [cité 14 août 2022]. Disponible sur: <https://histoire.inserm.fr/les-domaines-de-recherche/maladies-multifactorielles>

15. Shi H, Enriquez A, Rapadas M, Martin EMMA, Wang R, Moreau J, et al. NAD Deficiency, Congenital Malformations, and Niacin Supplementation. *N Engl J Med*. 10 août 2017;377(6):544-52.
16. L'acide rétinoïque [Internet]. Biologie cellulaire et génétique du Développement. 2021 [cité 14 août 2022]. Disponible sur: <https://bcgdevelop.fr/lacide-retinoique/>
17. Bastos Maia S, Rolland Souza AS, Costa Caminha M de F, Lins da Silva S, Callou Cruz R de SBL, Carvalho Dos Santos C, et al. Vitamin A and Pregnancy: A Narrative Review. *Nutrients*. 22 mars 2019;11(3):E681.
18. Lammer EJ, Chen DT, Hoar RM, Agnish ND, Benke PJ, Braun JT, et al. Retinoic acid embryopathy. *N Engl J Med*. 3 oct 1985;313(14):837-41.
19. Gavrilova R, Babovic N, Lteif A, Eidem B, Kirmani S, Olson T, et al. Vitamin A deficiency in an infant with PAGOD syndrome. *Am J Med Genet A*. oct 2009;149A(10):2241-7.
20. Cassina M, Cagnoli GA, Zuccarello D, Di Gianantonio E, Clementi M. Human teratogens and genetic phenocopies. Understanding pathogenesis through human genes mutation. *Eur J Med Genet*. janv 2017;60(1):22-31.
21. George S, Viswanathan R, Sapkal GN. Molecular aspects of the teratogenesis of rubella virus. *Biol Res*. 28 août 2019;52:47.
22. Freitas DA, Souza-Santos R, Carvalho LMA, Barros WB, Neves LM, Brasil P, et al. Congenital Zika syndrome: A systematic review. *PLOS ONE*. 15 déc 2020;15(12):e0242367.
23. Wastnedge EAN, Reynolds RM, van Boeckel SR, Stock SJ, Denison FC, Maybin JA, et al. Pregnancy and COVID-19. *Physiol Rev*. 1 janv 2021;101(1):303-18.
24. LOI n° 2021-1017 du 2 août 2021 relative à la bioéthique (1). 2021-1017 août 2, 2021.
25. La drosophile [Internet]. Biologie cellulaire et génétique du Développement. 2021 [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://bcgdevelop.fr/la-drosophile/>
26. La souris [Internet]. Biologie cellulaire et génétique du Développement. 2021 [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://bcgdevelop.fr/la-souris/>
27. Le poisson zèbre [Internet]. Biologie cellulaire et génétique du Développement. 2021 [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://bcgdevelop.fr/le-poisson-zebre/>

28. Moris N, Anlas K, van den Brink SC, Alemany A, Schröder J, Ghimire S, et al. An in vitro model of early anteroposterior organization during human development. *Nature*. juin 2020;582(7812):410-5.
29. Mitchell LE. Maternal effect genes: Update and review of evidence for a link with birth defects. *HGG Adv*. 13 janv 2022;3(1):100067.
30. Qian J, Cheng Q, Murdoch S, Xu C, Jin F, Chebaro W, et al. The genetics of recurrent hydatidiform moles in China: correlations between NLRP7 mutations, molar genotypes and reproductive outcomes. *Mol Hum Reprod*. oct 2011;17(10):612-9.
31. Nguyen NMP, Zhang L, Reddy R, Déry C, Arseneau J, Cheung A, et al. Comprehensive genotype-phenotype correlations between NLRP7 mutations and the balance between embryonic tissue differentiation and trophoblastic proliferation. *J Med Genet*. sept 2014;51(9):623-34.
32. Akoury E, Gupta N, Bagga R, Brown S, Déry C, Kabra M, et al. Live births in women with recurrent hydatidiform mole and two NLRP7 mutations. *Reprod Biomed Online*. 1 juill 2015;31(1):120-4.
33. Jeanblanc M, Salvaing J, Mason K, Debey P, Beaujean N. Activation du génome embryonnaire. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. 1 nov 2008;36(11):1126-32.
34. Mise en place des axes chez les Vertébrés [Internet]. *Biologie cellulaire et génétique du Développement*. 2021 [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://bcgdevelop.fr/mise-en-place-des-axes-chez-les-vertebres/>
35. Thisse B, Thisse C. Établissement des axes embryonnaires au cours du développement du poisson zèbre. *médecine/sciences*. 1 févr 2002;18(2):193-204.
36. Vincent S. Mise en place de l'asymétrie droite-gauche : notch et Nodal dans le nœud embryonnaire. *médecine/sciences*. 1 déc 2003;19(12):1188-90.
37. Montavon T, Soshnikova N. Hox gene regulation and timing in embryogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. oct 2014;34:76-84.
38. Goodman F, Scambler P. Human HOX gene mutations. *Clin Genet*. 2001;59(1):1-11.
39. Thompson B, Davidson EA, Liu W, Nebert DW, Bruford EA, Zhao H, et al. Overview of PAX gene family: analysis of human tissue-specific variant expression and involvement in human disease. *Hum Genet*. mars 2021;140(3):381-400.
40. Babinet C. Une famille de gènes du développement : les gènes Pax. *MS Médecine Sci Rev Pap* ISSN 0767-0974 1993 Vol 9 N° 1 P87-91 [Internet]. 1993 [cité 15 août 2022]; Disponible sur: <https://www.ipubli.inserm.fr/handle/10608/2793>

41. Développement de l'œil et ses anomalies héréditaires – Académie nationale de médecine | Une institution dans son temps [Internet]. [cité 15 août 2022]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/developpement-de-lil-et-ses-anomalies-hereditaires/>
42. Nicolaides KH, Snijders RJ, Gosden CM, Berry C, Campbell S. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet Lond Engl*. 19 sept 1992;340(8821):704-7.
43. Callaway JLA, Shaffer LG, Chitty LS, Rosenfeld JA, Crolla JA. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature. *Prenat Diagn*. 2013;33(12):1119-23.
44. Yang Y, Muzny DM, Reid JG, Bainbridge MN, Willis A, Ward PA, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders. *N Engl J Med*. 17 oct 2013;369(16):1502-11.
45. Lee H, Deignan JL, Dorrani N, Strom SP, Kantarci S, Quintero-Rivera F, et al. Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders. *JAMA*. 12 nov 2014;312(18):1880-7.
46. Postma AV, Van Engelen K, Van De Meerakker J, Rahman T, Probst S, Baars MJH, et al. Mutations in the sarcomere gene MYH7 in Ebstein anomaly. *Circ-Cardiovasc Genet*. févr 2011;4(1):43-50.
47. Thareja SK, Frommelt MA, Lincoln J, Lough JW, Mitchell ME, Tomita-Mitchell A. A Systematic Review of Ebstein's Anomaly with Left Ventricular Noncompaction. *J Cardiovasc Dev Dis*. 13 avr 2022;9(4):115.
48. Lamouroux A, Dauge C, Wells C, Mousty E, Pinson L, Cavé H, et al. Extending the prenatal Noonan's phenotype by review of ultrasound and autopsy data. *Prenat Diagn*. mai 2022;42(5):574-82.
49. Lenberg JL, Pretorius DH, Rupe ES, Jones MC, Ramos GA, Andreasen TS. Whole-exome sequencing reveals novel USP9X variant in female fetus with isolated agenesis of the corpus callosum. *Clin Case Rep*. avr 2019;7(4):656-60.
50. Meira JGC, Magalhães BS, Ferreira IBB, Tavares DF, Kobayashi GS, Leão EKEA. Novel USP9X variant associated with syndromic intellectual disability in a female: A case study and review. *Am J Med Genet A*. 2021;185(5):1569-74.
51. Quinlan-Jones E, Lord J, Williams D, Hamilton S, Marton T, Eberhardt RY, et al. Molecular autopsy by trio exome sequencing (ES) and postmortem examination in fetuses and neonates with prenatally identified structural anomalies. *Genet Med*. mai 2019;21(5):1065-73.

52. Yi T, Sun H, Fu Y, Hao X, Sun L, Zhang Y, et al. Genetic and Clinical Features of Heterotaxy in a Prenatal Cohort. *Front Genet.* 19 avr 2022;13:818241.
53. Lodi M, Chifari R, Parazzini C, Viri M, Beccaria F, Lorenzetti ME, et al. Seizures and EEG pattern in Kabuki syndrome. *Brain Dev.* 1 nov 2010;32(10):829-34.
54. Cappuccio G, Rossi A, Fontana P, Acampora E, Avolio V, Merla G, et al. Bronchial isomerism in a Kabuki syndrome patient with a novel mutation in MLL2 gene. *BMC Med Genet.* 28 janv 2014;15:15.
55. pnds-dyrk1a_manuscrit_final-sept2021.pdf [Internet]. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2021-10/pnds-dyrk1a_manuscrit_final-sept2021.pdf
56. Bon BW van, Coe BP, Vries BB de, Eichler EE. DYRK1A Syndrome [Internet]. GeneReviews® [Internet]. University of Washington, Seattle; 2021 [cité 18 août 2022]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK333438/>
57. Courraud J, Chater-Diehl E, Durand B, Vincent M, Del Mar Muniz Moreno M, Boujelbene I, et al. Integrative approach to interpret DYRK1A variants, leading to a frequent neurodevelopmental disorder. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* nov 2021;23(11):2150-9.
58. Ji J, Lee H, Argiropoulos B, Dorrani N, Mann J, Martinez-Agosto JA, et al. DYRK1A haploinsufficiency causes a new recognizable syndrome with microcephaly, intellectual disability, speech impairment, and distinct facies. *Eur J Hum Genet.* oct 2015;23(11):1473-81.
59. Jelin AC, Sobreira N, Wohler E, Solomon B, Sparks T, Sagaser KG, et al. The utility of exome sequencing for fetal pleural effusions. *Prenat Diagn.* avr 2020;40(5):590-5.
60. Chang MY, Chen HM, Jenq CC, Lee SY, Chen YM, Tian YC, et al. Novel PKD1 and PKD2 mutations in Taiwanese patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Hum Genet.* nov 2013;58(11):720-7.
61. Rossetti S, Kubly VJ, Consugar MB, Hopp K, Roy S, Horsley SW, et al. Incompletely penetrant PKD1 alleles suggest a role for gene dosage in cyst initiation in polycystic kidney disease. *Kidney Int.* avr 2009;75(8):848-55.
62. Bergmann C, von Bothmer J, Ortiz Bröchle N, Venghaus A, Frank V, Fehrenbach H, et al. Mutations in multiple PKD genes may explain early and severe polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol JASN.* nov 2011;22(11):2047-56.

63. Audrézet MP, Cornec-Le Gall E, Chen JM, Redon S, Quéré I, Creff J, et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: comprehensive mutation analysis of PKD1 and PKD2 in 700 unrelated patients. *Hum Mutat.* août 2012;33(8):1239-50.
64. Martin-Almedina S, Martinez-Corral I, Holdhus R, Vicente A, Fotiou E, Lin S, et al. EPHB4 kinase-inactivating mutations cause autosomal dominant lymphatic-related hydrops fetalis. *J Clin Invest.* 1 août 2016;126(8):3080-8.
65. Nowaczyk MJ, Wassif CA. Smith-Lemli-Opitz Syndrome. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., éditeurs. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cité 20 août 2022]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1143/>
66. Speer MC, Enterline DS, Mehlretter L, Hammock P, Joseph J, Dickerson M, et al. Review Article: Chiari Type I Malformation with or Without Syringomyelia: Prevalence and Genetics. *J Genet Couns.* 2003;12(4):297-311.
67. Shuman C, Beckwith JB, Weksberg R. Beckwith-Wiedemann Syndrome [Internet]. *GeneReviews®* [Internet]. University of Washington, Seattle; 2016 [cité 20 août 2022]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1394/>
68. Diderich K, Romijn K, Joosten M, Govaerts L, Polak M, Brüggewirth H, et al. The potential diagnostic yield of whole exome sequencing in pregnancies complicated by fetal ultrasound anomalies. *Acta Obstet Gynecol Scand.* juin 2021;100(6):1-10.
69. Mellis R, Oprych K, Scotchman E, Hill M, Chitty LS. Diagnostic yield of exome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies: A systematic review and meta-analysis. *Prenat Diagn.* 2022;42(6):662-85.
70. Normand EA, Braxton A, Nassef S, Ward PA, Vetrini F, He W, et al. Clinical exome sequencing for fetuses with ultrasound abnormalities and a suspected Mendelian disorder. *Genome Med* [Internet]. déc 2018 [cité 13 nov 2021];10(1). Disponible sur: <https://genomemedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13073-018-0582-x>
71. Pauta M, Martinez-Portilla RJ, Borrell A. Diagnostic yield of exome sequencing in fetuses with multisystem malformations: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2022;59(6):715-22.
72. Best S, Wou K, Vora N, Van der Veyver IB, Wapner R, Chitty LS. Promises, pitfalls and practicalities of prenatal whole exome sequencing. *Prenat Diagn.* janv 2018;38(1):10-9.

73. Rossi AC, Prefumo F. Correlation between fetal autopsy and prenatal diagnosis by ultrasound: A systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* mars 2017;210:201-6.
74. Aarabi M, Sniezek O, Jiang H, Saller DN, Bellissimo D, Yatsenko SA, et al. Importance of complete phenotyping in prenatal whole exome sequencing. *Hum Genet.* févr 2018;137(2):175-81.
75. Bourgon N, Garde A, Bruel AL, Lefebvre M, Mau-Them FT, Moutton S, et al. Same performance of exome sequencing before and after fetal autopsy for congenital abnormalities: toward a paradigm shift in prenatal diagnosis? *Eur J Hum Genet EJHG.* août 2022;30(8):967-75.

DÉCLARATION SUR L'HONNEUR



Faculté de médecine
maïeutique et sciences de la santé
Université de Strasbourg

Document avec signature originale devant être joint :

- à votre mémoire de D.E.S.
- à votre dossier de demande de soutenance de thèse

Nom : JANEY..... Prénom : Glodie.....

Ayant été informé(e) qu'en m'appropriant tout ou partie d'une œuvre pour l'intégrer dans mon propre mémoire de spécialité ou dans mon mémoire de thèse de docteur en médecine, je me rendrais coupable d'un délit de contrefaçon au sens de l'article L335-1 et suivants du code de la propriété intellectuelle et que ce délit était constitutif d'une fraude pouvant donner lieu à des poursuites pénales conformément à la loi du 23 décembre 1901 dite de répression des fraudes dans les examens et concours publics,

Ayant été avisé(e) que le président de l'université sera informé de cette tentative de fraude ou de plagiat, afin qu'il saisisse la juridiction disciplinaire compétente,

Ayant été informé(e) qu'en cas de plagiat, la soutenance du mémoire de spécialité et/ou de la thèse de médecine sera alors automatiquement annulée, dans l'attente de la décision que prendra la juridiction disciplinaire de l'université

J'atteste sur l'honneur

Ne pas avoir reproduit dans mes documents tout ou partie d'œuvre(s) déjà existante(s), à l'exception de quelques brèves citations dans le texte, mises entre guillemets et référencées dans la bibliographie de mon mémoire.

A écrire à la main : « J'atteste sur l'honneur avoir connaissance des suites disciplinaires ou pénales que j'encours en cas de déclaration erronée ou incomplète ».

« J'atteste sur l'honneur avoir connaissance des suites disciplinaires ou pénales que j'encours en cas de déclaration erronée ou incomplète ».

Signature originale : 

À Strasbourg....., le 05 septembre 2022.....

Photocopie de cette déclaration devant être annexée en dernière page de votre mémoire de D.E.S. ou de Thèse.

RÉSUMÉ :

Introduction – Les malformations congénitales concernent 2,5% des naissances en Europe, et peuvent être de causes variées. Aucune étiologie n'est retrouvée dans près de 70% des cas après les examens génétiques de première intention. Parvenir à un diagnostic étiologique permet d'apporter un conseil génétique approprié, mais également d'étendre les spectres phénotypiques prénataux de gènes connus en postnatal, et de découvrir de nouveaux gènes impliqués dans le développement embryo-fœtal. Ces nouvelles expressions phénotypiques fœtales doivent s'appuyer sur une description clinique approfondie. L'objectif principal de ce travail a été d'évaluer l'apport du séquençage de l'exome et de l'examen de fœtopathologie dans une cohorte de fœtus présentant des malformations congénitales multiples (MCM).

Matériel et méthode – Nous avons constitué une cohorte française multicentrique de 20 fœtus présentant des MCM, et dont l'ACPA et/ou le caryotype étaient non contributifs. Chacun a bénéficié d'un séquençage de l'exome en trio et d'un examen de fœtopathologie.

Résultats – Le taux de diagnostic est de 30% (n=6), avec mise en évidence de variations pathogènes ou probablement pathogènes dans les gènes *MYH7*, *NRAS*, *USP9X*, *KMT2D*, *DYRK1A* et *ACTN2*. Des variations de signification clinique incertaine sont retrouvées dans les gènes *PKD1*, *EPHB4* et *UBR5*, et concernent 20% des fœtus (n=4). Les cas non concluants représentent 50% de la cohorte. L'examen de fœtopathologie apporte des éléments cliniques supplémentaires dans l'ensemble des cas, corrige certaines conclusions échographiques, et apporte une aide à l'interprétation des variations de signification clinique incertaine et à l'identification d'un nouveau gène.

Conclusion – Le séquençage de l'exome dans le contexte de MCM permet d'augmenter le rendement diagnostique chez des fœtus dont les résultats des examens de première intention sont non concluants. Lorsque le diagnostic génétique était évident, l'examen de fœtopathologie permet de confirmer que l'atteinte fœtale peut être probablement expliquée par la seule cause génétique identifiée (*MYH7*, *USP9X*, *KMT2D*, *DYRK1A*) mais pas dans le cas de la variation du gène *NRAS*. L'exome et l'examen de fœtopathologie permettent d'étendre le spectre phénotypique du gène *ACTN2*, connu en postnatal mais peu décrit en prénatal. Enfin, l'examen de fœtopathologie se révèle important dans les cas où le diagnostic étiologique n'était pas évident : il apporte une aide à l'interprétation d'une variation de signification clinique incertaine (*EPHB4*) et à l'identification d'un nouveau gène (*UBR5*). Cet examen demeure également indispensable pour les cas non concluants qui vont pouvoir bénéficier d'analyses complémentaires, notamment par séquençage du génome.

RUBRIQUE DE CLASSEMENT : Génétique médicale

MOTS-CLÉS : Malformations congénitales multiples ; Séquençage de l'exome ; Fœtopathologie ; Développement embryo-fœtal

PRÉSIDENTE : Madame le Professeur Maria Cristina ANTAL

DIRECTRICE : Madame le Docteur Bénédicte GERARD

ASSESEURS : Madame le Professeur Caroline SCHLUTH-BOLARD

Madame le Docteur Salima EL CHEHADEH

Madame le Docteur Julia LAUER ZILLHARDT

ADRESSE DE L'AUTEUR : 10 rue du maire Kuss, 67 000 STRASBOURG
