

# Pièges du diagnostic pré-conceptionnel

## Cas d'un couple hétérozygote POMT2 Risque d'alpha-dystroglycanopathie

### Secteur Glyco

Céline Bouchet Seraphin

Sandrine Vuillaumier Barrot

Malika Chelbi

Sylvie Alglave



# Les alpha-dystroglycanopathies : point de vue clinique

- Maladies rares de phénotype très variable

## Spectre de sévérité clinique

Atteinte neuronale

Atteinte oculaire

Atteinte musculaire



WWS

MEBD

FCMD

DMC

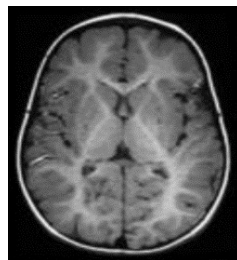
LGMD



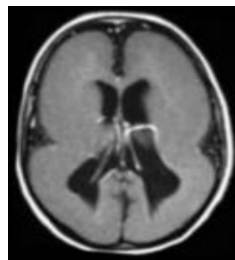
Foetus

Enfant

Adulte



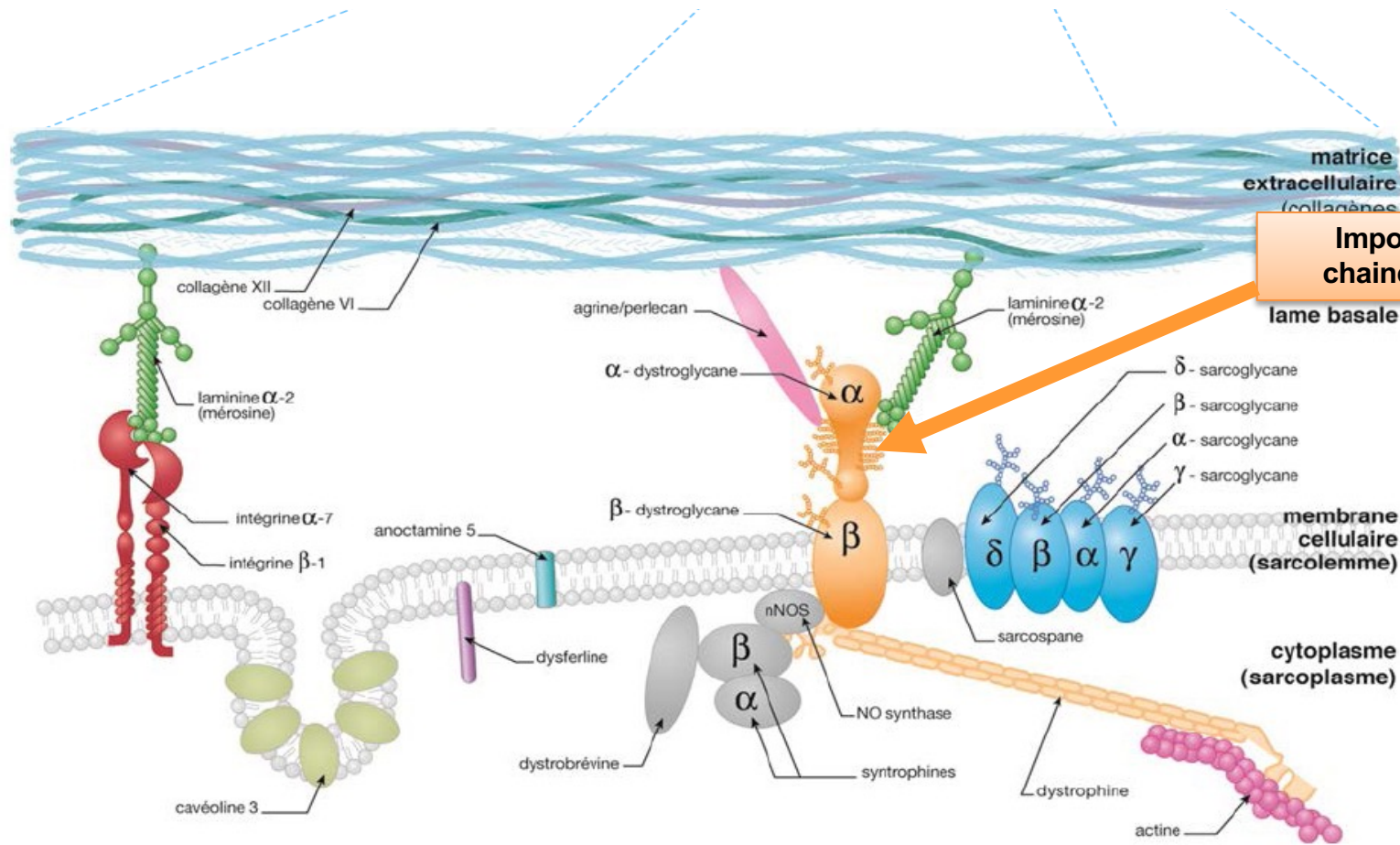
Cerveau  
Normal



LISII

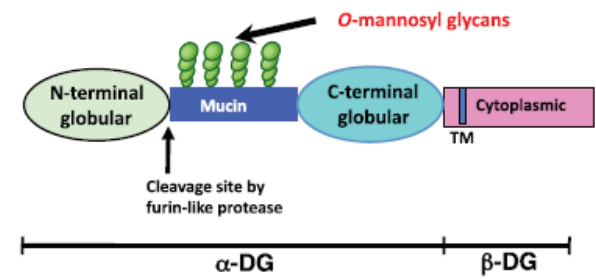


# L'alpha-dystroglycane

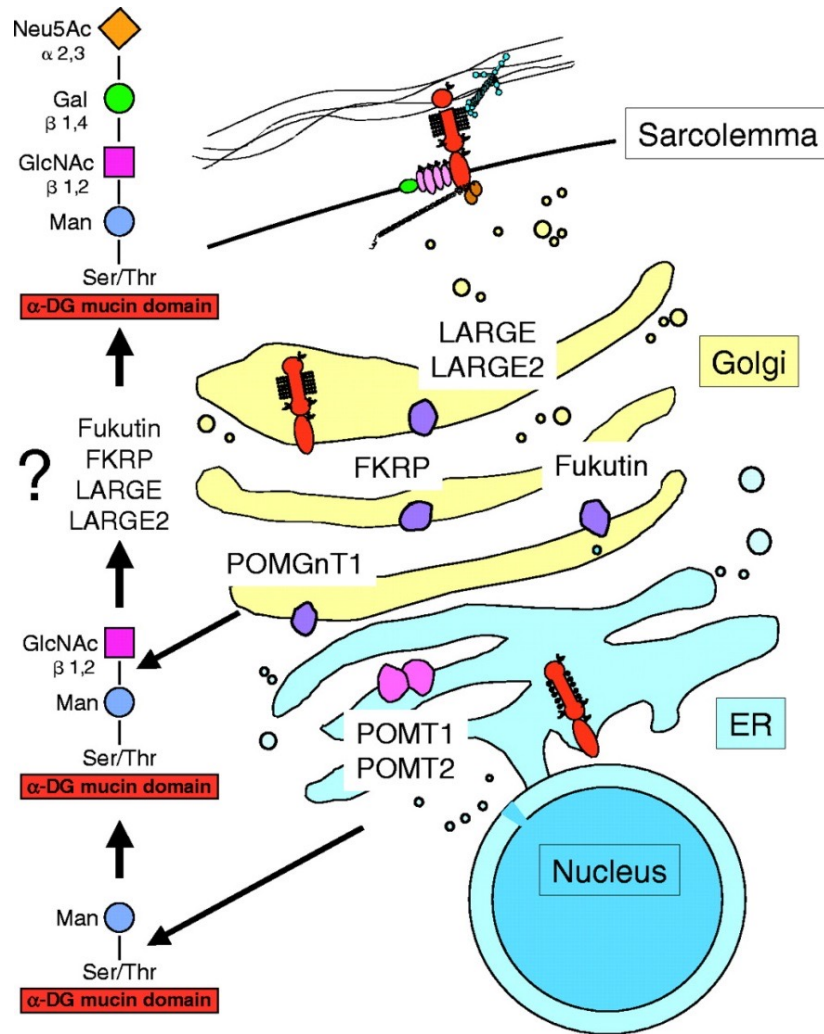


**Importance des chaînes glycanes**

B



# La glycosylation de l'alpha-dystroglycane



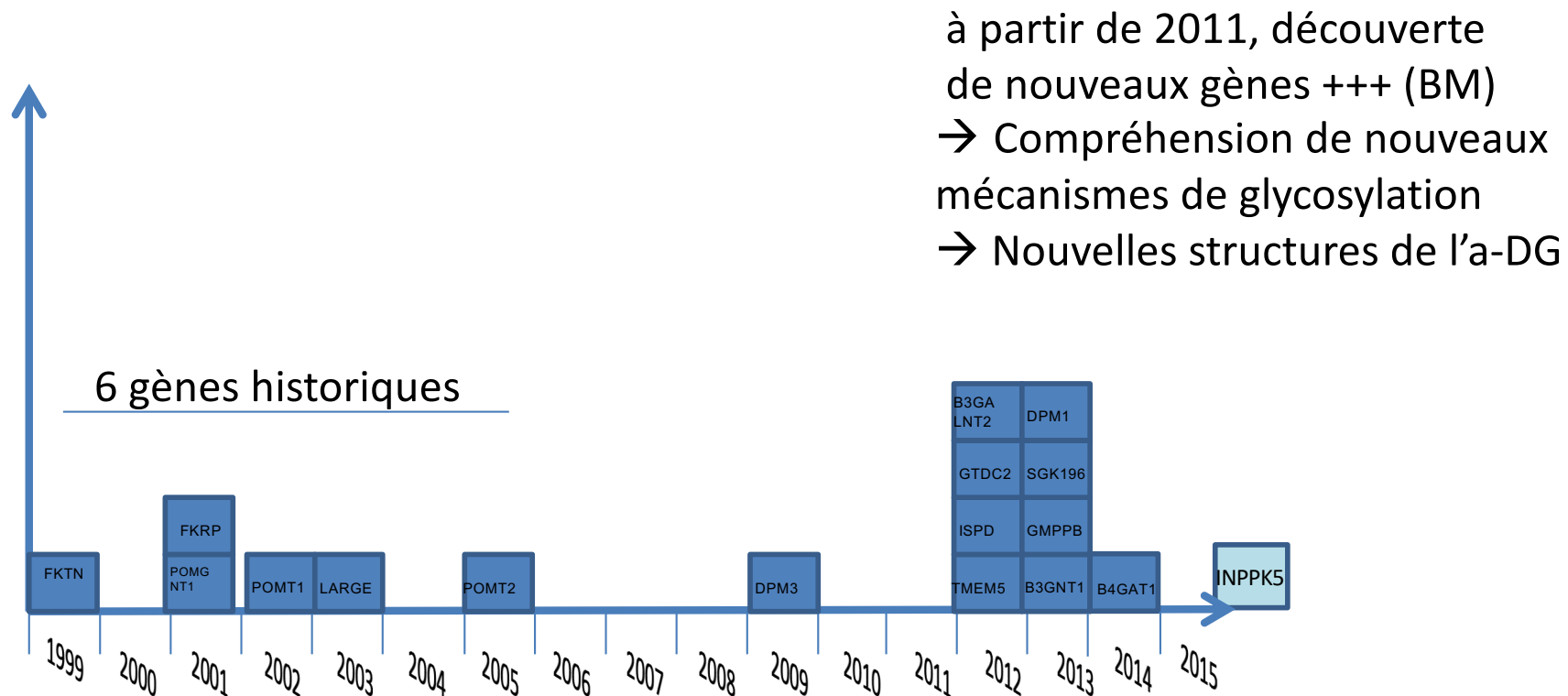
- FKTN
- FKRP
- ISPD
- TMEM5
- POMK
- B4GALNT2
- B3GNT1
- GMPPB
- ...



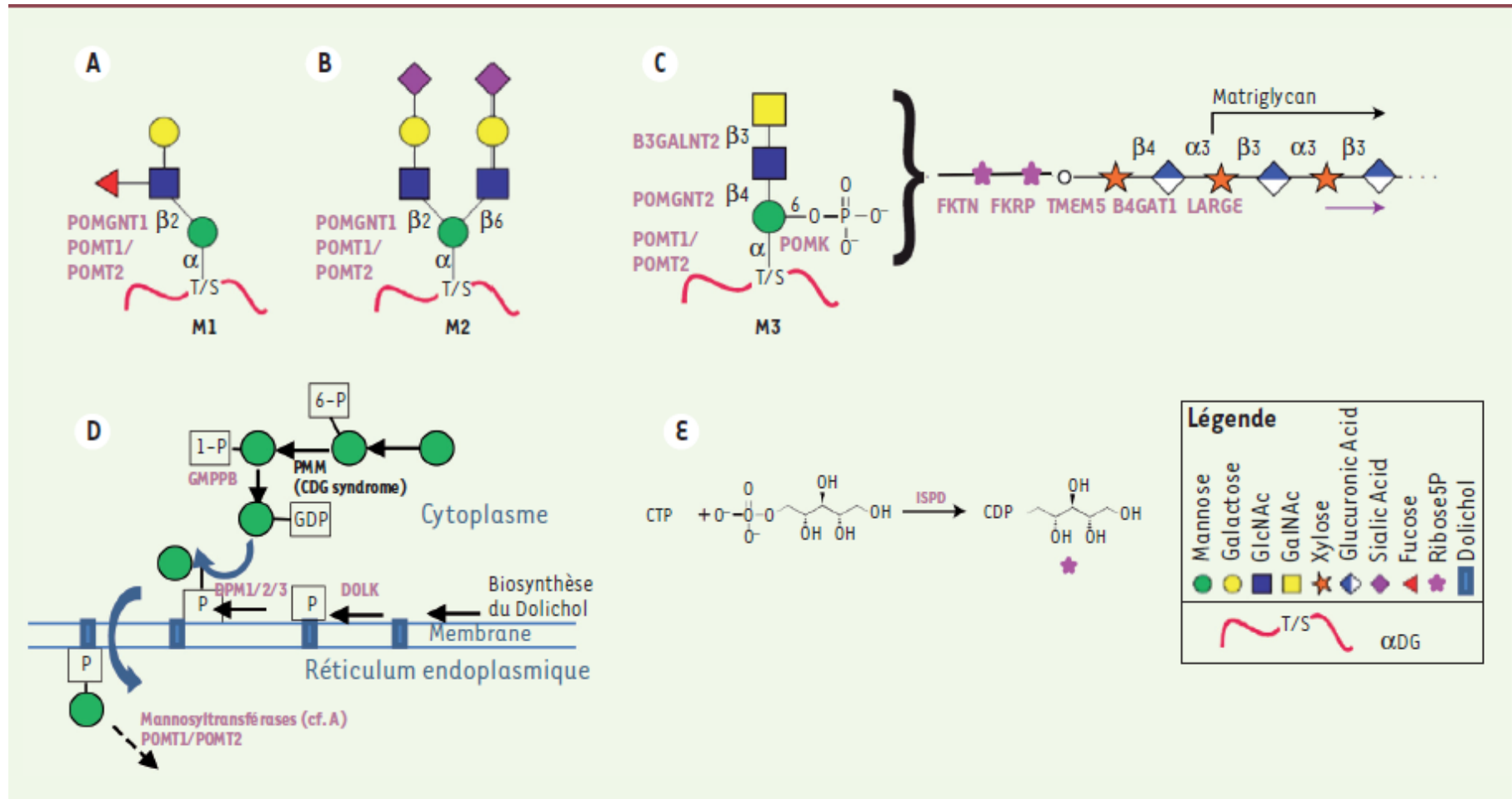
# Diagnostic moléculaire des alpha-dystroglycanopathies

alpha-DGpathie primaire : *DAG1* (<5 patients)

alpha-DGpathie secondaire : 18 gènes de glycosylation



# L'alpha-dystroglycane



**Figure 1. La O-mannosylation de l' $\alpha$ -DG. A-B-C.** Structure des cores M1, M2, M3. Les sucres sont indiqués par un symbole coloré suivant les règles de représentation conventionnelle [57] ; les enzymes impliquées dans chacune des étapes de la synthèse de ces chaînes O-mannosylées sont indiquées en violet. **D-E.** Synthèse des sucres activés. **D.** Synthèse du Dol P-Man. **E.** Synthèse du ribose 5-P (schéma adapté de Praissman *et al.* [9]).

# L'alpha-dystroglycane

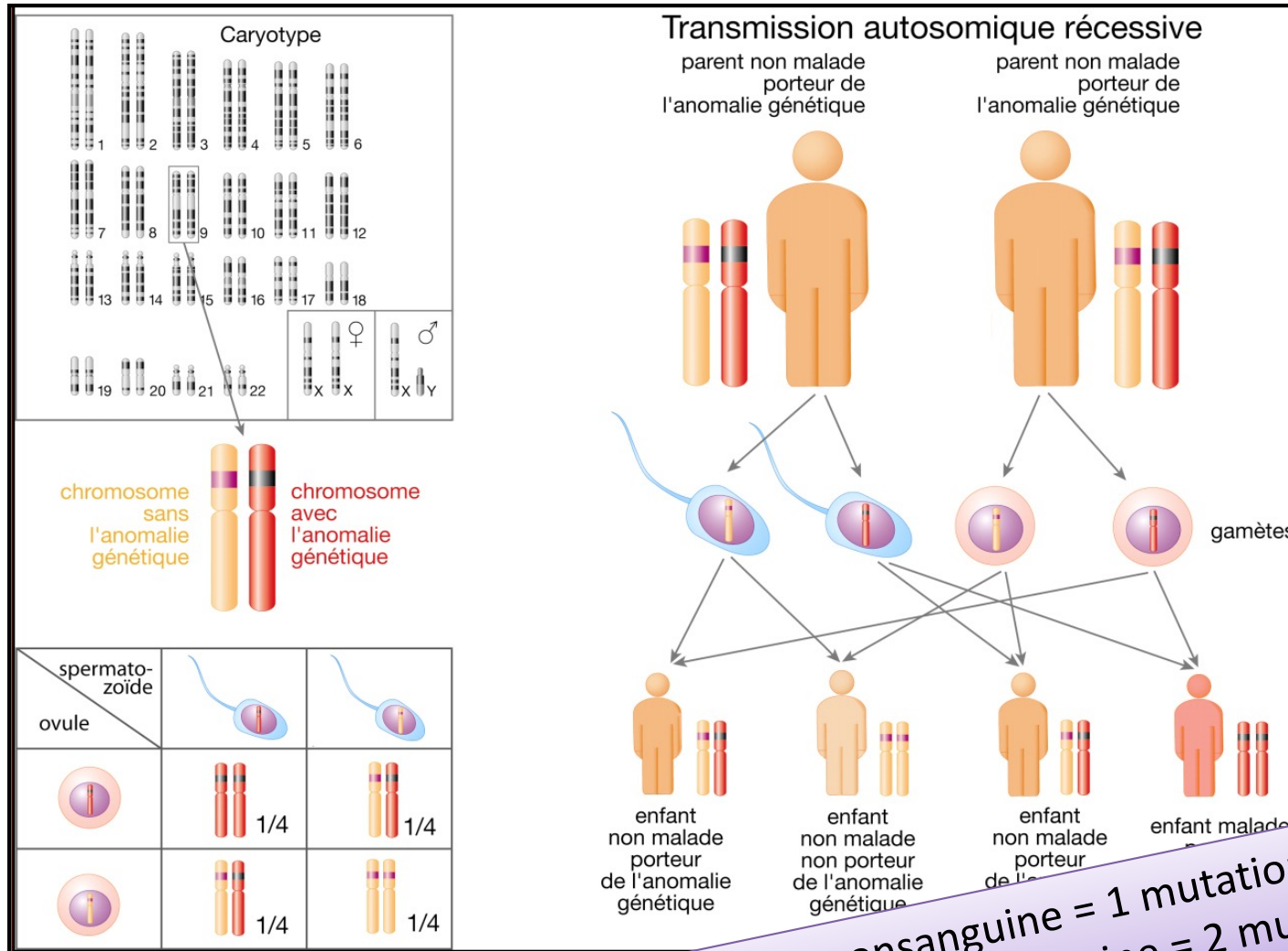
Gène	Protéine	Localisation	Fonction	OMIM
DAG1	Dystroglycan (sous-unités $\alpha$ et $\beta$ )	Membrane plasmique		OMIM 128239
POMT1	O-mannosyltransférase 1	Réticulum endoplasmique	Synthèse des cores M1, M2, M3	OMIM 607423
POMT2	O-mannosyltransférase 2			OMIM 607439
POMGNT1	O-mannosyl N-acétylglucosaminyltransférase 1	Appareil de Golgi	Synthèse des cores M1, M2	OMIM 606822
GTDC2 (=POMGNT2)	O-mannosyl N-acétylglucosaminyltransférase 2	Réticulum endoplasmique	Synthèse du core M3	OMIM 614828
B3GALNT2	N-acétylgalactosaminyltransférase			OMIM 610194
LARGE	$\beta$ 1-3 glucuronyltransférase et xylosyltransférase			OMIM 603590
B4GAT1 (=B3GNT1)	$\beta$ 1-4 glucuronyltransférase	Appareil de Golgi	Synthèse du matriglycan	OMIM 605517
TMEM5	Xylosyltransférase			OMIM 605862
SGK196 (=POMK)	Protéine O-mannosyl kinase	Réticulum endoplasmique		OMIM 605862
FKTN	Ribitol5-phosphate transférase		Liaison entre matriglycan et core M3	OMIM 607440
FKRP	Ribitol5-phosphate transférase	Appareil de Golgi		OMIM 606596
ISPD	Isoprenoid Synthase Domain-containing Protein (synthèse du ribitol5-phosphate)			OMIM 614631
DPM1				OMIM 603503
DPM2	DolP-Man synthase			OMIM 603564
DPM3		Cytoplasme	Métabolisme du mannose et du dolichol	
DOLK	Dolicholkinase			
GMPPB	GDP-mannose pyrophosphorylase, sous-unité $\beta$			

Aujourd'hui 18 gènes en routine  
 dont 4 CDG/ADG  
 + INPPK5 (et POGLUT1)

Glycosyltransferase (13) +++++  
 Kinase (2): POMK, DOLK  
 Production sucre activé (2): ISPD, GMPPB

# Les alpha-dystroglycanopathies : point de vue génétique

## - Maladies à transmission autosomique récessive



Famille consanguine = 1 mutation homozygote  
 Famille non-consanguine = 2 mutations hétérozygotes

# Famille COMB....

---

Couple d'origine consanguine - Cousins – Parisiens mais originaires de la Réunion

1/ Demande de diagnostic pré-conceptionnel (DPC) en raison des risques

Étude en Espagne (600 gènes) – DPC non autorisé en France dans ces indications

Découverte du variant c.1184-1G>C gène *POMT2* chez chacun des parents

→ c.1184-1G>C : mutation d'épissage

→ rendu pathogène

2/ Demande de confirmation des mutations en SANGER à Cochin (F. Leturcq/J. Nectoux)

Confirmation des résultats

→ Chacun des parents porteurs hétérozygote du variant prédit pathogène (site canonique d'épissage)

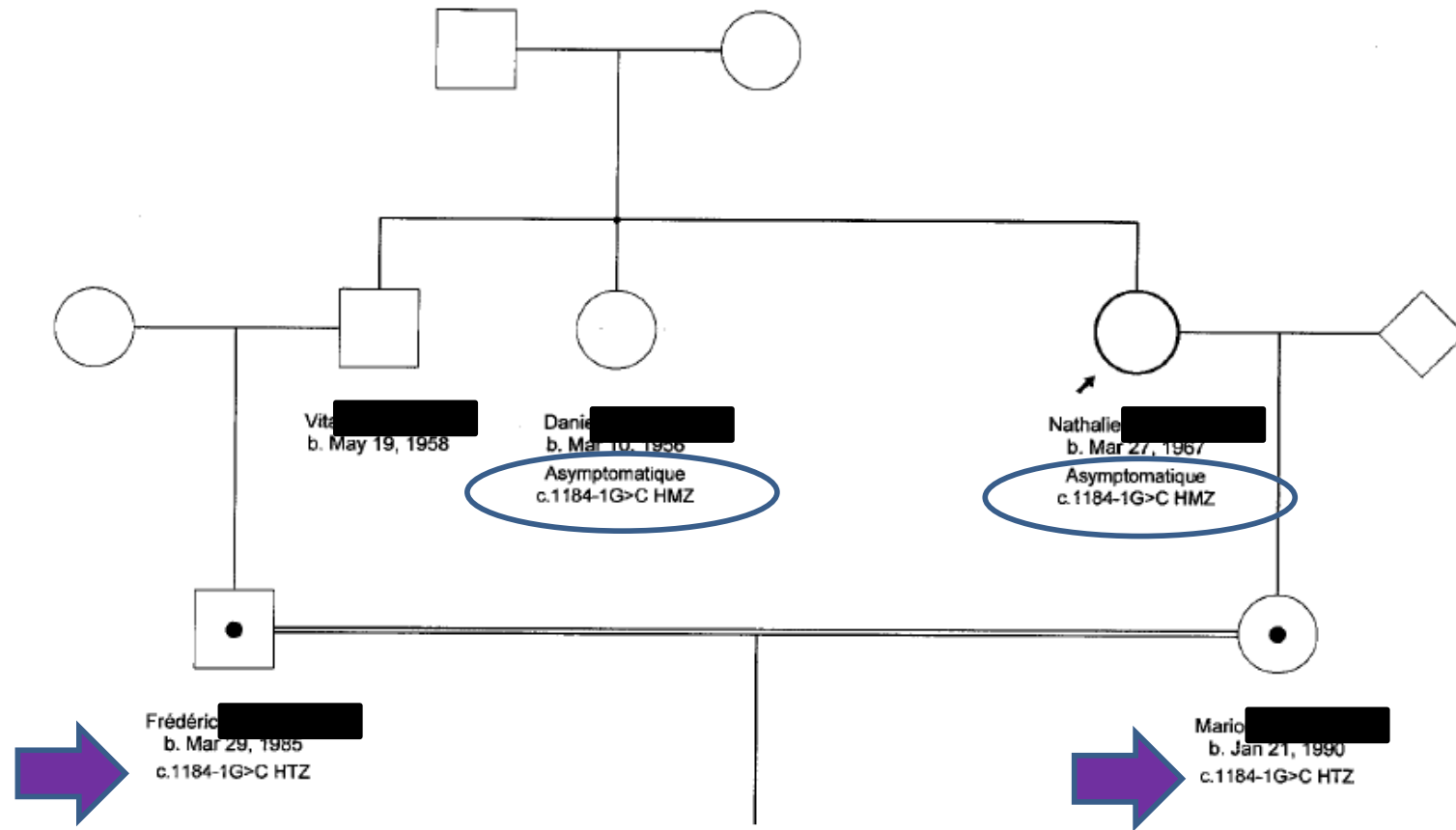
3/ Le couple se tourne vers processus de diagnostic pré-implantatoire (DPI) en Belgique

En parallèle étude familiale à la Réunion

→ 2 apparentés HOMOZYGOTES ASYMPTOMATIQUES (mère et tante de Mme Com..)

→ La Belgique refuse le DPI, le couple se retourne vers Cochin pour comprendre !!!

→ Cochin nous demande un avis en tant que laboratoire référent au niveau national



Variant d'épissage dans le gène *POMT2* mis en évidence  
au cours d'une étude pré-conceptionnelle à l'Instituto Bernabeu d'Alicante



# Famille COMB....

Contacté par Cochin en tant que Laboratoire Référent pour POMT2 en France – Mail du 24 oct 2022

De : LETURCQ France  
Envoyé : lundi 24 octobre 2022 15:07  
À : BOUCHET-SERAPHIN Céline  
Cc : GROTTO Sarah; MOLAC Clemence  
Objet : demande d'Avis !

Bonjour Céline ,



J'espère que tu vas bien !

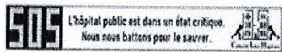
Je voulais ton avis sur un variant dans POMT2 retrouvé à l'état hétérozygote chez les 2 membres d'un couple qui avait fait une étude pré-conceptionnelle en Espagne, en raison de leur consanguinité puisqu'ils sont cousins ....Il s'agit du variant c.1184-1G>C dans l'intron 10 de POMT2 .

A la demande de Sarah Grotto nous avons vérifié ce variant chez le couple et annoncé qu'il était pathogène mais nous n'avions pas été plus loin dans l'étude familiale , la famille vivant à la Réunion ! Depuis une étude a été faite chez la mère de la patiente qui se trouve être homozygote pour ce variant et dont on nous dit qu'elle est asymptotique ...

Après ce nouveau résultat l'équipe belge de DPI refuse de poursuivre et le couple se retourne vers nous pour nous demander comment nous interprétons finalement ce variant !!

Peux-tu nous donner tes commentaires d'experte en ce domaine de gènes de Glycosylation , nous dire s'il y a dans cette pathologie une variabilité intrafamiliale connue, nous expliquer ce que tu ferais en pareille circonstance !

Merci de ton aide  
Amitiés  
France



Dr France LETURCQ  
Service de Médecine Génomique et  
Fédération de Génétique et de Médecine

Couple non-demandeur de  
DPN, si statut homozygote  
confirmé chez apparentés  
asymptomatiques

Demande Avis d'expert !!!

ENJEUX :

- ➔ Autorisation de DPI en Belgique
- ➔ Ou DPN car patiente enceinte début 2023
- ➔ Quel conseil génétique pour le couple ?

# Famille COMB....

## Difficultés devant des demandes d'avis

On est pas maître des résultats précédents – autres laboratoires

1/ limite des techniques utilisées (pas de CR de l'étude pré-conceptionnelle, ni de Cochin, ni de la Réunion....)

- amplification spécifique allèle possible chez mère et tante de Mme. COU... ??

Séquençage mère et tante refait sur Cochin avec un autre couple d'amorces  
➔ confirmation du statut homozygote pour ces 2 apparentés

2/ vérifier le caractère asymptotique des 2 apparentés : reprise IRM etc...

## Réponse limitée

-> variant absent de nos cohortes, pas situé dans une région connue avec des mutations

-> Interrogation des sites d'évaluation effet épissage

-> demande info si ARN étudié ?

Bonjour France,  
En effet situation complexe et toujours difficile si en plus on est pas le laboratoire qui a fait la totalité des examens.  
C'est un variant que nous n'avons jamais identifié dans notre cohorte.  
Prévoir une étude de l'ARN (couple + mère + témoins) pour tester directement l'effet de la pathogénicité de ce variant. On le propose encore pour les mutations d'épissage pour confirmer l'effet notamment dans des situations de DPN, DPI etc...  
Que disaient les logiciels de prédiction in-silico d'épissage ?

Est-on certain du résultat de la Mère ? Peut être une amplification spécifique d'allèle si un variant au niveau d'une amorce par exemple ?

Au bilan aucune preuve de lien entre ce variant et un éventuel effet  
Je comprends que la position du laboratoire belge.

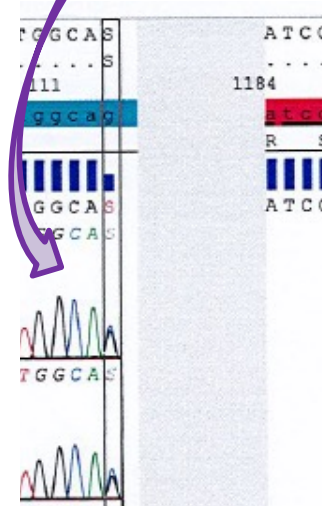
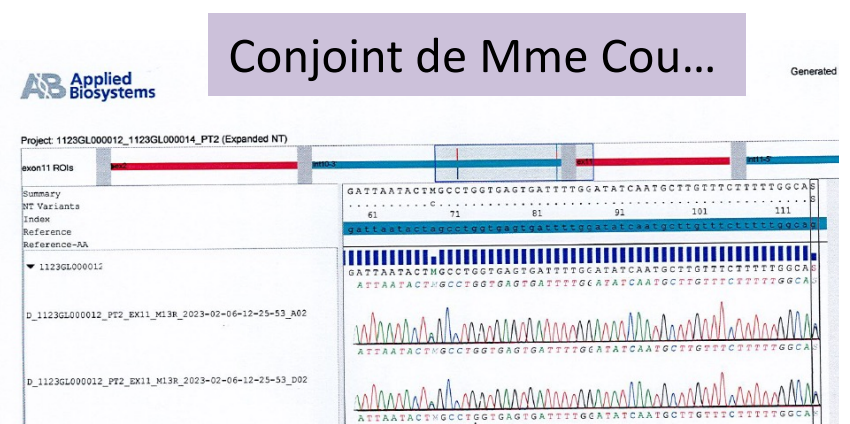
Bien à toi  
Céline

Dr Céline BOUCHET-SERAPHIN

➔ **Nombreux échanges de mails  
+ Réunion téléphonique le 4/01/2023**

Géraldine Viot – Généticienne  
Clémence Molac - Conseillère en génétique – Maternité Cochin  
France Leturcq et Juliette Nectoux – Biologistes BM Cochin  
Cliniciens de St Denis de la Réunion

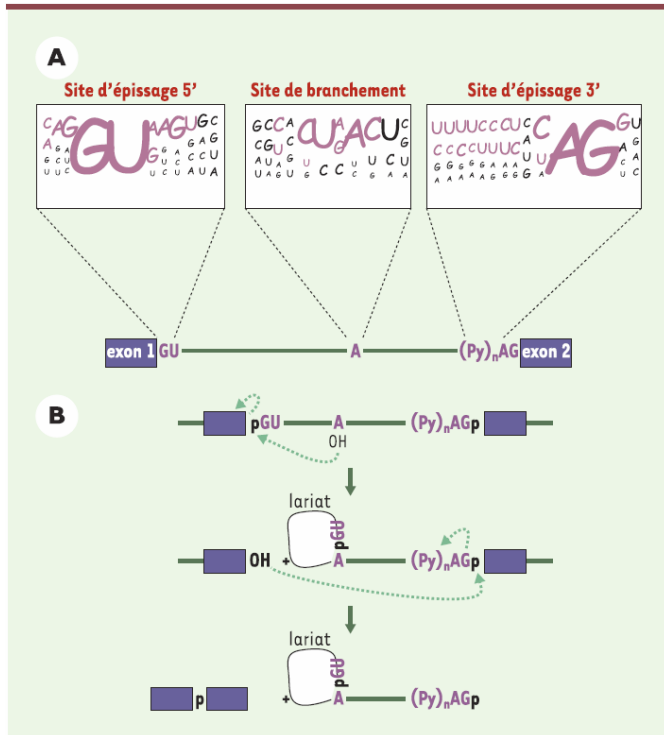
# Vérification étude ADN – Prélèvement EDTA (Cochin + Bichat)



Les 2 membres du couple sont porteurs hétérozygotes du variant familial c.1184-1G>C → site canonique d'épissage

# Interrogation des sites d'épissage

## c.1184-1G>C → site Canonique d'épissage



Alamut Visual Plus Splicing Predictions  
 Gene: **POMT2** - Transcript: **NM\_013382.7** - Variant: **c.1184-1G>C**  
 Analysis range: **c.1184-301 (Intron 10) - c.1253+230 (Intron 11) [601 bps]**

Sites Accepteur

	SSF [0-100]	MaxEnt [0-16]	NNSPLICE [0-1]	GeneSplicer [0-21]
<i>Seuil</i>	≥ 70	≥ 0	≥ 0.4	≥ 0
Intron 10 - c.1184-250	= 78.31	= 8.58	= 0.82	
Intron 10 - c.1184-201	= 76.39	= 6.55	= 0.76	= 1.85
Intron 10 - c.1184-199	= 73.42			
Intron 10 - c.1184-152		= 3.05		
Intron 10 - c.1184-121	= 86.46	= 9.52	= 0.95	
Intron 10 - c.1184-119	= 73.73			
Intron 10 - c.1184-96			= 0.42	
Intron 10 - c.1184-66	= 76.14	= 3.17		
Intron 10 - c.1184-63		= 4.23	= 0.42	
Intron 10 - c.1184-45		= 0.22		
<b>Exon 11 - c.1184</b>	<b>93.39 ⇒ —</b>	<b>9.59 ⇒ —</b>	<b>0.99 ⇒ —</b>	<b>7.28 ⇒ —</b>
<b>Exon 11 - c.1193</b>		<b>0.43 ⇒ 6.77 (+1481.0%)</b>	<b>— ⇒ 0.49</b>	<b>— ⇒ 4.54</b>
Exon 11 - c.1208	= 81.38	= 4.98	= 0.44	— ⇒ 1.52
Exon 11 - c.1244	= 71.54			
Intron 11 - c.1253+165	= 76.92	= 0.21		
Intron 11 - c.1253+214	= 77.96	= 6.4	= 0.87	= 4.36
Intron 11 - c.1253+216	= 77.50			

*Sauit Site canonique  
 new main pro for pas de decalage*

**Splicing Predictions**  
 This variant is close to an acceptor splice site. The consequence of this change is not predictable.  
**Splicing predictions at nearest natural junction:**  
 Predicted change at accepteur site 1 bps en aval: -100.0%  
 • MaxEnt: -100.0%  
 • NNSPLICE: -100.0%  
 • SSF: -100.0%

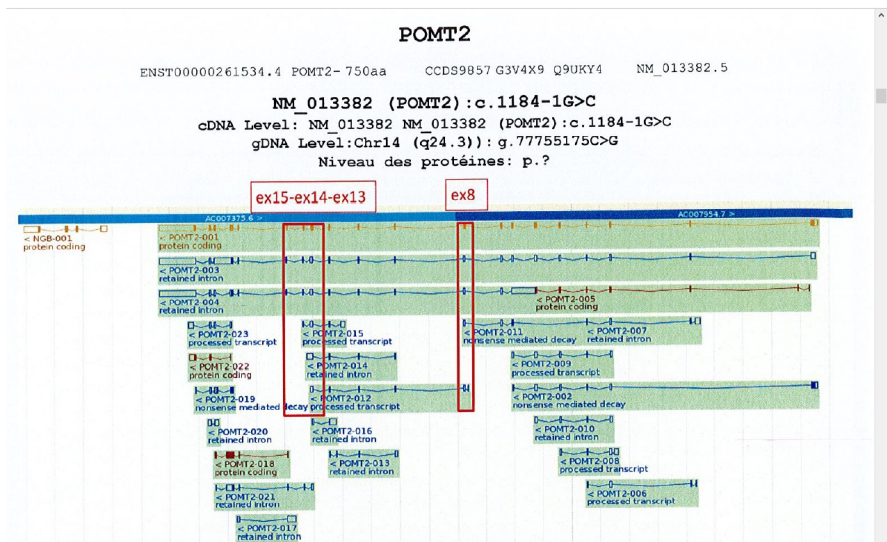
**Effet sur épissage.  
 Changement site accepteur  
 → Utilisation site c.1193 + 9 bases**



# Étude cDNA : vérification de l'effet du variant sur le cDNA (prélèvement Paxgen)

Difficultés → nombreux transcrits → choix des amorces minutieux

- sur des exons différents
- spécificité des transcrits pour éviter le bruit de fond



```

77765114 TGGCCCTGGTGACGGTTTCTTCACTTCTGCCTTCCAGGCCCGGCTTTCAGGGAACAACCT 77765055
77765054 GCACAA<T>GCTTCCATCCCTGAAC 77765032
77762616 ACCTGGCCTACGGCTCTCTATCACTGTGAAGAACCTCCGGATGGCCATCGGTATCTGC 77762557
77762556 ACTCCACAGGCACCTTACCCGAGGGCATTTGGTCCCGTCAGCAGCAG 77762507
77757723 GTCACCACCTATTGGACAAGGACTACAACAACCTGTGGATTATCAAGAAACATAACACA 77757664
77757667 AACTCAG 77757657
77755114 ATCCCTAGACCCCTTCCCTCCAGTGGAGTTTGTAAAGACATGGAGACATLATTCGACTAG 77755115
77755114 AACACAAGA 77755105
77753165 AACTTCCCAGGAACCTGCACAGTCACTATCATGAGGCCCCCATGACCCGGAAGCACTATCA 77753106
77753105 GGTACCCGGCTATGGCATA 77753087
77751975 AATGGACACGGGACACAAATGAAATTCTGGCGGATTAGGTCGTAACAGGAAATTTGGA 77751916
77751915 AACCCGATCAAAAGTGTGAGAAGTCGAATTCGCTTCATCCATTTGGTCACAGGTTGTGTC 77751856
77751855 CTGGCTCCTCGGAAAGTTCTGCCAAGTG 77751824
77751384 GGGCTGGGAGCAGTTGGAAGTACTTGCACCCCATACCTGAAAGAAACCCCTCAACTCCAT 77751325
77751324 CTGGAATGTGGAGGACCATATCAATCCCAAAT 77751293
77750216 AGCCAAACATCAGCCT<G>GATGTGCTAC<A>GCCAGTTTTCTGAGACTTGTGTTGGAATCCC 77750157
77750156 ACATGTCATATCCCG 77750140
  
```

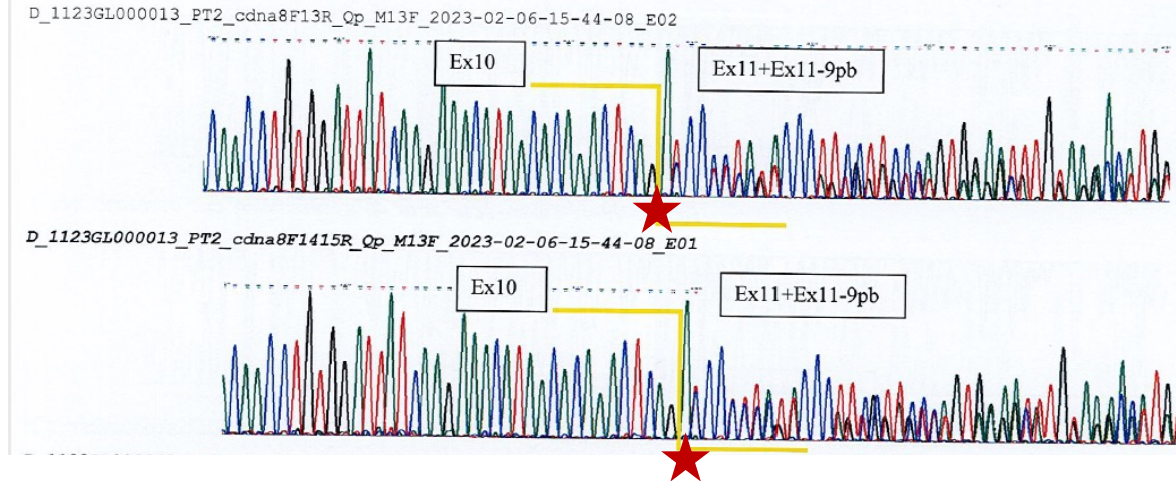
**8E**  
 exon 8  
 exon 9  
**9E**  
 exon 10  
 exon 11  
 exon 12  
**13R**  
 exon 13  
 exon 14  
**14F13R**  
 exon 15

→ Différents couples d'amorces sélectionnés Autours de l'exon 11

# Étude cDNA : vérification de l'effet du variant sur le cDNA

Conjoint de Mme Cou...

→ Résultat identique pour Mme Cou...



- Délétion des 9 premiers nucléotides de l'exon 11
- Confirmation de l'abolition du site Consensus d'épissage dans l'intron 10 de l'utilisation du site situé 9 pb plus loin
- Effet prédictif perte des 3 premiers acides aminés de l'exon de POMT2

La question demeure entière :  
cette délétion de 3 acides aminés au début de l'exon 11 est-elle pathologique au vu du phénotype de la mère de Mme COU.. et de sa tante, porteuses homozygotes du variant.

## Protéine Mutée :

1081	CTCTACCCCGAGGGCATTGGTGCCCGTCAGCAGCAGGTCAACCACTATTTCACAAAGGAC	1140	EXON
1081	CTCTACCCCGAGGGCATTGGTGCCCGTCAGCAGCAGGTCAACCACTATTTCACAAAGGAC	1140	
361	-L--Y--P--E--G--I--G--A--R--Q--Q--Q--V--T--T--Y--L--H--K--D-	380	
1141	TACAACAACCTGTGGATTATCAAGAAACATAACACAAACTCAG ATGGGCTAG ACCCTTCC	1200	EXON
1141	TACAACAACCTGTGGATTATCAAGAAACATAACACAAACTCAG ATGGGCTAG ACCCTTCC	1200	
381	-Y--N--N--L--W--I--I--K--K--H--N--T--N--S-- D--P--L-- D--P--S-	400	
1201	TTCCAGTGGAGTTTGTAAAGACATGGAGACATTATTCGACTAGAACACAAGAACTTCC	1260	EXON
1201	TTCCAGTGGAGTTTGTAAAGACATGGAGACATTATTCGACTAGAACACAAGAACTTCC	1260	
401	-F--P--V--E--F--V--R--H--G--D--I--I--R--L--E--H--K--E--T--S-	420	
1261	CGGAACTTGCACAGTCACTATCATGAGGCCCCATGACCCGGAAGCACTATCAGGTCACC	1320	
1261	CGGAACTTGCACAGTCACTATCATGAGGCCCCATGACCCGGAAGCACTATCAGGTCACC	1320	
421	-R--N--L--H--S--H--Y--H--E--A--P--M--T--R--K--H--Y--Q--V--T-	440	



# Problème de l'interprétation des variants

(Richards *et al.*, *Genet Med* 2015, modifié d'après Jarvik and Browning, *Am J Hum Genet* 2016)

## Délétion de 3 acides aminés en phase...

### 2 Classification du variant

Les différents arguments pondérés listés ci-dessus sont ensuite combinés, selon les critères de l'ACMG et de la CAP, afin de déterminer la classe du variant :

**PVS/S/M/P** : Argument très fort/fort/moyen/faible en faveur de la pathogénicité du variant

**BS/P** : Argument fort/faible en faveur du caractère bénin du variant.

#### Classe 5 : Variant pathogène

1 **PVS** ET  $\geq 1$  **PS** OU  
 $\geq 2$  **PM** OU  
1 **PM** ET 1 **PP** OU  
 $\geq 2$  **PP** OU  
 $\geq 2$  **PS** OU  
1 **PS** ET  $\geq 3$  **PM** OU  
2 **PM** ET  $\geq 2$  **PP** OU  
1 **PM** ET  $\geq 4$  **PP**

#### Classe 4 : Variant probablement pathogène

1 **PVS** ET 1 **PM** OU  
1 **PS** ET 1-2 **PM** OU  
1 **PS** ET  $\geq 2$  **PP** OU  
 $\geq 3$  **PM** OU  
2 **PM** ET  $\geq 2$  **PP** OU  
1 **PM** ET  $\geq 4$  **PP**

#### Classe 3 : Variant de signification inconnue

Les arguments pondérés ne permettent pas de classer le variant dans une autre classe

#### Classe 2 : Variant probablement bénin

1 **BS** ET 1 **BP** OU  
 $\geq 2$  **BP**

#### Classe 1 : Variant bénin

**BA** OU  
 $\geq 2$  **BS**

Classe 5 : Pathogène  
Classe 4 : Probablement pathogène  
Classe 3 : Significativement inconnue  
Classe 2 : Probablement bénin  
Classe 1 : Benin

### Reco américaine depuis 2016

ARTICLE  
Performance of ACMG-AMP Variant-Interpretation Guidelines among Nine Laboratories in the Clinical Sequencing Exploratory Research Consortium

Laura M. Amendola,<sup>1,16</sup> Gail P. Jarvik,<sup>1,16\*</sup> Michael C. Leo,<sup>2</sup> Heather M. McLaughlin,<sup>3</sup> Victoria A. Akshay,<sup>4</sup> Michael...

### Réunion ANPGM/Réseau NGS 18/12/2017

"finalement, les américains avaient bien travaillé...".

→ Bref, la classification en 5 parties semble, selon eux, pas trop mal.

→ Les recommandations de l'ANPGM sur ce sujet devraient définitivement sortir au cours du premier trimestre 2018.

# Problème de l'interprétation des variants

(Richards *et al.*, *Genet Med* 2015, modifié d'après Jarvik and Browning, *Am J Hum Genet* 2016)

	Bénin			Pathogène		
	BA/BS Suffisant/Fort	BP Faible	PP Faible	PM Moyen	PS Fort	PVS Très fort
<b>Données épidémiologiques</b>	Fréquence allélique trop importante par rapport à la fréquence de la pathologie (BA1/BS1) OU présence du variant chez les contrôles incohérente avec la pénétrance de la pathologie (BS2)			Variant absent des bases de données de populations contrôles (PM2)	Prévalence du variant chez les individus atteints significativement supérieure à celle des contrôles (PS4)	
<b>Données structurales</b>		Effet d'un variant faux-sens prédit bénin par l'ensemble des logiciels de prédiction de pathogénicité interrogés (BP4)  Variant faux-sens dans un gène où seules les variants tronquants sont décrits comme associées à la pathologie (BP1)  Variant synonyme sans impact prédit sur l'épissage, et pour lequel la séquence nucléotidique n'est pas très conservée chez les vertébrés (BP7)  Indel en phase dans une région répétée sans fonction connue (BP3)	Effet d'un variant faux-sens prédit délétère par l'ensemble des logiciels de prédiction de pathogénicité interrogés (PP3)	Variant à l'origine d'un changement d'acide aminé différent à la même position qu'un variant faux-sens pathogène connu (PM5)  Variant affectant la longueur de la protéine (concerne les indel en phase et pertes de codons stop) (PM4)	Variant à l'origine du même changement d'acide aminé qu'un variant pathogène connu (PS1), sauf si le variant n'est pas un variant faux-sens mais a un effet sur l'épissage	Variant ayant un effet nul prédit dans un gène où la perte de fonction est un mécanisme pathogène connu (PVS1)
<b>Données fonctionnelles</b>	Etudes fonctionnelles <i>in vivo</i> ou <i>in vitro</i> bien établies montrent un impact non délétère du variant sur le gène ou son produit (cet argument peut inclure les résultats d'analyses fonctionnelles spécifiques en fonction de la pathologie concernée) (BS3)		Variant faux-sens dans un gène avec un faible taux de variants faux-sens bénins et dans lequel les variants faux-sens sont un mécanisme fréquemment responsable de la pathologie (PP2)	Variant non tronquant situé sur un hot spot mutationnel et/ou un domaine fonctionnel critique bien établi exempt de variants bénins (PM1)	Etudes fonctionnelles <i>in vivo</i> ou <i>in vitro</i> bien établies montrant un impact délétère du variant sur le gène ou son produit (cet argument peut inclure les résultats d'analyses fonctionnelles spécifiques en fonction de la pathologie concernée) (PS3)	
<b>Données de ségrégation</b>	Variant ne ségrégant pas avec la pathologie chez des apparentés atteints (BS4)		Données issues d'une seule famille : N ≤ 1/8 : argument faible (PP)*  Données issues de plusieurs familles : N ≤ 1/4 : argument faible (PP)*	Données issues d'une seule famille : N ≤ 1/16 : argument moyen (PM)*  Données issues de plusieurs familles : N ≤ 1/8 : argument moyen (PM)*	Données issues d'une seule famille : N ≤ 1/32 : argument fort (PS)*  Données issues de plusieurs familles : N ≤ 1/16 : argument fort (PS)*	
<b>Données de novo</b>				Variant de novo sans confirmation de la paternité et de la maternité, si la pénétrance est considérée complète (PM6)	Variant de novo avec confirmation de la paternité et de la maternité (PS2)	
<b>Données alléliques</b>		Pour une pathologie à pénétrance complète de transmission autosomique dominante ou liée à l'X, co-occurrence du variant avec un variant pathogène en <i>trans</i> (dans le même gène): poids de l'argument laissé à l'appréciation du laboratoire (classé BP2 dans les critères ACMG initiaux)  Co-occurrence du variant avec un variant pathogène en <i>cis</i> (dans le même gène): poids de l'argument laissé à l'appréciation du laboratoire (classé BP2 dans les critères ACMG initiaux)		Variant observé en <i>trans</i> avec un variant pathogène distinct, si la pathologie a une transmission récessive (poids de l'argument laissé à l'appréciation du		
<b>Autres bases de données</b>		Source documentée classant ce variant comme bénin (BP6)	Source documentée classant ce variant comme pathogène			
<b>Données additionnelles</b>		Co-occurrence du variant avec un variant pathogène dans un autre gène impliqué dans la même pathologie : poids de l'argument laissé à l'appréciation du laboratoire (classé BP5 dans les critères ACMG initiaux)	Le phénotype du patient antécédents familiaux spécifiques pour le gène			

1BS4 : ségrégation familiale non concordante  
 + acides aminés (AA) peu conservés entre espèces  
 + absence de mutation connue sur ces 3 AA dans la littérature  
 → Classe 2 : Probablement Benin

# Problème de l'interprétation des variants

Dernière réunion téléphonique collégiale le 27/03/2023

➔ CCL variant probablement bénin, rendu tel quel par Cochin et Bichat

**RESULTATS**

Présence du variant NM\_013382.7(POMT2):c.1184-1G>C, à l'état hétérozygote

Ce variant est associé à une fréquence allélique très faible en population générale (gnomAD exome), et est absent des bases de données internationales (ClinVar, LOVD). Compte tenu de sa position dans un site canonique d'épissage (en -1 de l'exon 11 du gène POMT2), les logiciels de prédiction de pathogénicité sont en faveur du caractère pathogène du variant. Au total, il est actuellement considéré comme variant de signification indéterminée (classe 3).

**COMMENTAIRES ET CONCLUSION**

Le variant NM\_013382.7(POMT2):c.1184-1G>C est retrouvé à l'état hétérozygote chez [REDACTED] R. Elle présente donc 50% de risque de transmettre ce variant à sa descendance. L'étude de ségrégation familiale a montré que la mère et la tante de cette patiente étaient porteuses de ce variant à l'état homozygote. Sous réserve de leur statut asymptomatique, ces résultats sont en faveur du caractère probablement bénin de ce variant. Afin de confirmer cette conclusion, l'étude des conséquences transcriptionnelles de ce variant sur le transcrite POMT2 est indispensable. Un conseil génétique est recommandé.

Docteur NECTOUX Juliette

Dr LETURCO F  
Docteur NECTOUX Juliette (ref)

**Résultat(s) :**

Prédiction des Logiciels d'étude in silico :  
Abolition du site accepteur en position exon 11-c.1184 par les 4 logiciels étudiés (-100%)  
Utilisation du site en position exon 11-c.1193 par les 4 logiciels étudiés

**Etude des Transcrits POMT2**

Présence de transcrits avec délétion des 9 premiers nucléotides de l'exon 11 confirmant l'utilisation du site AG suivant en position c.1193.  
Cette délétion correspond à la perte des 3 premiers Acides aminés de l'exon 11 avec conservation du cadre de lecture.

==> Variant c. 1184-1G>c ; r.[1184\_1192del]; p.[Asp395\_Leu397del]

**Commentaires et conclusion :**

Le variant c.1184-1G>C du gène POMT2 porté à l'état hétérozygote par [REDACTED] implique la perte des 3 premiers acides aminés de l'exon 11 avec conservation du cadre de lecture. Cette étude ne permet pas de statuer sur la pathogénicité de cette perte de 3 acides aminés pour la fonction de la protéine mais au vu des études génotype/phénotype au sein de la famille, avec deux porteurs homozygotes sains et en l'absence de cas de index homozygote pour ce variant, nous n'avons pas d'argument pour classer ce variant comme pathogène. Nous rejoignons la conclusion des Dr Nectoux et Leturcq en faveur du caractère probablement bénin de ce variant.

Les résultats sont interprétés en fonction du contexte clinique et familial rapporté et dépendent des connaissances et limites actuelles des techniques utilisées. Ce résultat de génétique doit être communiqué et commenté à la personne concernée dans le cadre d'une consultation médicale individuelle (décret n°2000-570).

Date de Compte Rendu : 28/03/2023  
Dr Céline BOUCHET-SERAPHIN

➔ Couple re-staffé en CPDPN de Cochin le vendredi 31/03/2023  
- pour conclusion commune au dossier

➔ Déclaration du variant dans base de données LOVD

➔ Publication du cas

# CPDPN – Cochin 31 mars 2023

Mme Marion CO [REDACTED] 21/01/1990 et M. Frédéric H [REDACTED], 29/03/1985

G1 P0

ATCD :

Couple apparenté, originaire de la Réunion.

Cs de génétique préconceptionnelle en 2020 (Dr VIOT, Clinique de La Muette) : analyse d'un panel de gènes dans un laboratoire en Espagne.

-> Identification chez les deux membres du couple d'un variant pathogène du gène *POMT2* à l'état hétérozygote. Conseil génétique Dr VIOT :  
Transmission autosomique récessive, Risque de 1/4 à chaque grossesse du couple de transmission d'un syndrome de Walker-Warburg -> couple orienté en DPI à Strasbourg puis finalement en Belgique du fait de délais plus courts.

Couple demandeur d'une validation du CPDPN de Cochin de l'indication à un DPN/DPI pour prise en charge des frais de DPI à l'étranger. Couple adressé en consultation de génétique au Dr Grotto/C.Molac le 09/03/2022 :

-> Vérification du variant du gène *POMT2* sur un nouveau prélèvement, adressé au laboratoire de génétique moléculaire de l'hôpital Cochin, Drs France LETURCQ et Juliette NECTOUX : Confirmation de la présence du variant pathogène du gène *POMT2* à l'état hétérozygote : c.1184-1G>C chez les 2 membres du couple => Risque de 1/4 de transmission d'une alpha dystroglycanopathie, à chaque grossesse du couple,

**Avis staff du 18/03/2022 :** Accord CPDPN pour prise en charge en DPN/DPI.

Couple nous recontacte suite aux résultats génétiques obtenus récemment dans la famille ayant conduit à l'interruption de la PEC en DPI à Bruxelles : L'étude parentale du variant du gène *POMT2* (réalisée dans le cadre de la mise au point du DPI), a mis en évidence que la mère de Mme COMBIER, Mme Nathalie COMBIER, née le 27/03/1967, et la tante maternelle de Mme COMBIER, Mme Danie Adrienne DELMAS, née HOAREAU le 10/03/1956 sont homozygotes pour le variant familial c.1184-1G>C du gène *POMT2*. Analyse prescrite par Dr VIOT, réalisée à Cerba. Résultat confirmé sur deux prélèvements et également au laboratoire de Cochin (Drs Nectoux et Leturcq). Mme Nathalie COMBIER et sa sœur seraient asymptomatiques. Evaluation neurologique demandée par Dr Géraldine VIOT. Conclusions en attente.

1<sup>ère</sup> Grossesse spontanée du couple DG = 28/11/2022 : MFIU datée à 9SA+5j sans malformation évidente au terme précoce de l'échographie réalisée à 13SA

Etude ARN réalisée par Dr Céline BOUCHET SERAPHIN (Bichat) : « le variant familial du gène *POMT2* implique la perte des 3 premiers acides aminés de l'exon 11 avec conservation du cadre de lecture (en phase). Cette étude ne permet pas de statuer sur la pathogénicité de cette perte de 3 acides aminés pour la fonction de la protéine mais au vu des études génotype/phénotype au sein de cette famille, avec deux porteurs homozygotes sains et en l'absence de cas index homozygote pour ce variant, nous n'avons pas d'argument pour classer ce variant comme pathogène. Nous rejoignons la conclusion des Dr Nectoux et Leturcq en faveur du caractère probablement bénin de ce variant. »

**Avis staff 31/03/2023 : Compte-tenu des nouveaux éléments du dossier , l'indication à un DPN/DPI moléculaire ne peut pas être retenue, à l'heure actuelle, en l'absence de nouvel élément. Surveillance échographique de référence à proposer en cas de grossesse.**

# Retour d'expérience sur le dépistage pré-conceptionnel

---

- Intérêt certain pour les généticiens pour évaluer les risques dans couple d'origine consanguine

Preuve faite dans certains pays / population pour réduire le taux de maladies génétiques grave.

- maladie de Tay–Sachs chez les couples d'origine juive ashkénaze : réduction incidence de 90%
- beta thalassémie à Chypre : plus aucune naissance depuis 2002 !

Maladie génétique autosomique ou liées au Chromosome X

1 couple/50 soit 3000 naissances par an

Usage très limité en France → La mucoviscidose et l'amyotrophie spinale infantile

- Connaître les limites des techniques/panels étudiés, les gènes étudiés
  - Liste limitée de gènes ?
  - Doivent-ils se prononcer sur des variants dont l'effet n'est pas rapporté ?
  - Importance de l'étude familiale associée
  - Importance de dialogue couple / généticien → bonne compréhension des limites



# Dépistage pré-conceptionnel (DPC) en France?

---

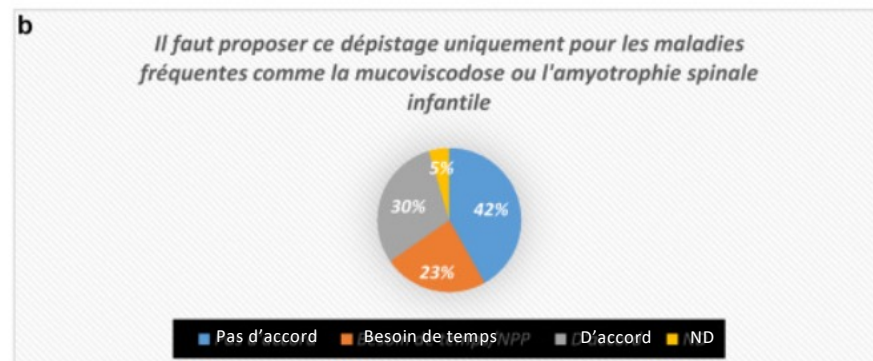
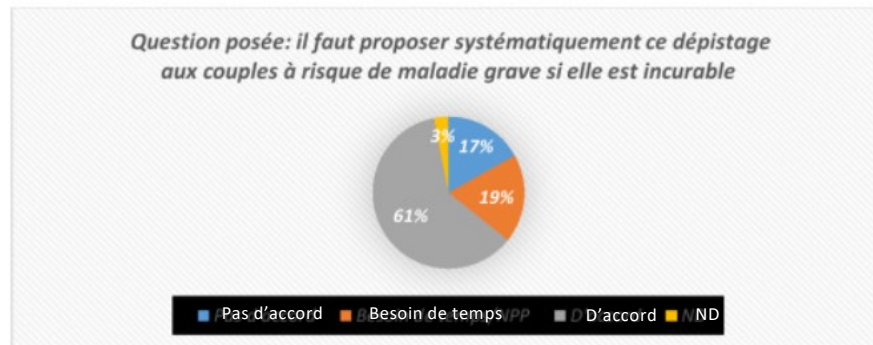
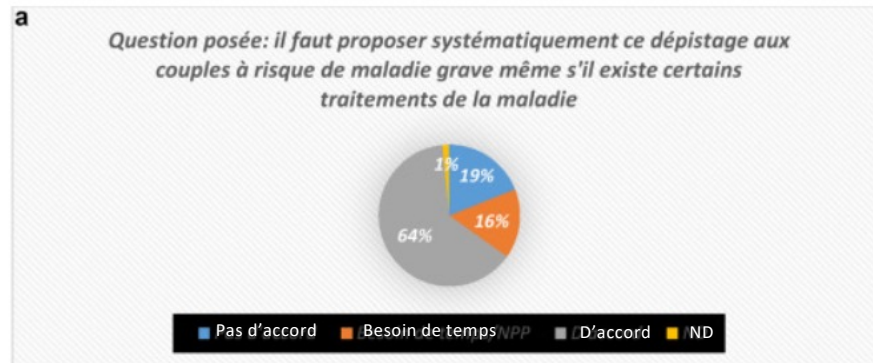
En 2004 et 2009 : 2 avis réservés du Conseil National d'Éthique sur l'extension des indications du DPC



# Dépistage pré-conceptionnel (DPC) en France?

Extrait Consultation citoyenne de la révision des lois de bioéthique en France :

projet 2018/2019 de révisions des lois de bioéthique



# Dépistage pré-conceptionnel (DPC) en France?

---

En 2004 et 2009 : 2 avis réservés du Conseil National d'Éthique sur l'extension des indications du DPC

2018 : Proposition du Conseil National d'Éthique d'élargir le DPC à 6 conditions:

- il serait réservé aux seules personnes qui en feraient la demande et réalisé selon les recommandations du Code de la Santé Publique liées à la prescription des tests génétiques, avec la proposition de la médiation d'un médecin ou d'un conseiller en génétique, possible sur demande du patient (décret n°2013-527);
- une labélisation de ces tests par les instances ad hoc (Agence de la biomédecine (ABM), Haute autorité de santé (HAS));
- seul un panel de variations génétiques considérées comme responsables de pathologies monogéniques graves, survenant chez l'enfant ou l'adulte jeune, devrait être concerné, selon une liste volontairement restreinte établie et mise à jour par l'ABM;
- sur la base du volontariat, la recherche de variations génétiques dans une liste limitée d'autres gènes dits «actionnables» (environ 60, liste déjà proposée par divers pays) pourrait être effectuée;
- sa prise en charge par l'assurance maladie comme acte médical de prévention;
- une information et un accompagnement par un personnel compétent et à l'écoute.

# Dépistage pré-conceptionnel (DPC) en France?

Journals & Books

View PDF Download full issue View Open Manuscript

Ethics, Medicine and Public Health  
Volume 12, January–March 2020, 100439  
2020

Pratiques et concepts

Réflexions éthiques sur le dépistage génétique préconceptionnel en population générale: le débat français et l'avis de la Société Française de Médecine Prédictive et Personnalisée

P. Pujol<sup>a</sup>, S. Fodil-Chérif<sup>a</sup>, J.L. Mandel<sup>b</sup>, B. Baertisch<sup>c,d</sup>, D. Sanlaville<sup>a,f</sup>, D. Zarca<sup>g</sup>, A. Toledano<sup>h</sup>, P. Bloch<sup>h</sup>, D. Geneviève<sup>a</sup>

## Résumé

### État des lieux

Le dépistage des hétérozygotes porteurs d'anomalies génétiques chez des couples planifiant une grossesse dans des situations qui évoquent l'histoire familiale, des antécédents de maladies génétiques ou liées au Chromosome X est proposé dans 10% des cas montrant les limites de ce dépistage pré-conceptionnel. Cependant, la présence d'un hétérozygote pour une maladie génétique autosomique ou liée au Chromosome X ne garantit pas la naissance d'un état pathologique. La mucoviscidose et l'amyotrophie spinale infantile sont les deux maladies récessives autosomiques les plus fréquentes. Le dépistage pré-conceptionnel est proposé pour ces deux maladies dans 1 couple/50 soit 3000 naissances par an. La drépanocytose, la beta-thalassémie et la drépanocytose sont les trois maladies récessives liées au Chromosome X les plus fréquentes. Le dépistage pré-conceptionnel est proposé pour ces trois maladies dans 1 couple/50 soit 3000 naissances par an. Le dépistage pré-conceptionnel est proposé pour ces trois maladies dans 1 couple/50 soit 3000 naissances par an.

À l'heure actuelle, le dépistage préconceptionnel est limité en France dans le cadre d'un conseil génétique aux parents et apparentés de patients atteints de maladies génétiques graves de transmission récessive (ou d'un hétérozygote connu). L'analyse génétique recherche uniquement les variations génétiques du gène impliqué dans la maladie familiale

En France, des tests génétiques préconceptionnels peuvent être proposés aux couples consanguins sans antécédents familiaux pour les deux maladies récessives autosomiques sévères les plus fréquentes (mucoviscidose et amyotrophie spinale infantile).

Doit-on étendre les propositions de dépistage préconceptionnel de plusieurs ou toutes les maladies récessives identifiées et considérées comme graves et incurables à la population générale pour les couples désirant des enfants ?

# Dépistage pré-conceptionnel (DPC) en France?

Journals & Books

View PDF Download full issue View Open Manuscript

Ethics, Medicine and Public Health  
Volume 12, January–March 2020, 100439  
2020

Pratiques et concepts

Réflexions éthiques sur le dépistage génétique préconceptionnel en population générale: le débat français et l'avis de la Société Française de Médecine Prédictive et Personnalisée

P. Pujol<sup>a</sup>, S. Fodil-Chérif<sup>a</sup>, J.L. Mandel<sup>b</sup>, B. Baertischi<sup>c,d</sup>, D. Sanlaville<sup>a,f</sup>, D. Zarca<sup>g</sup>, A. Toledano<sup>h</sup>, P. Bloch<sup>h</sup>, D. Geneviève<sup>a</sup>

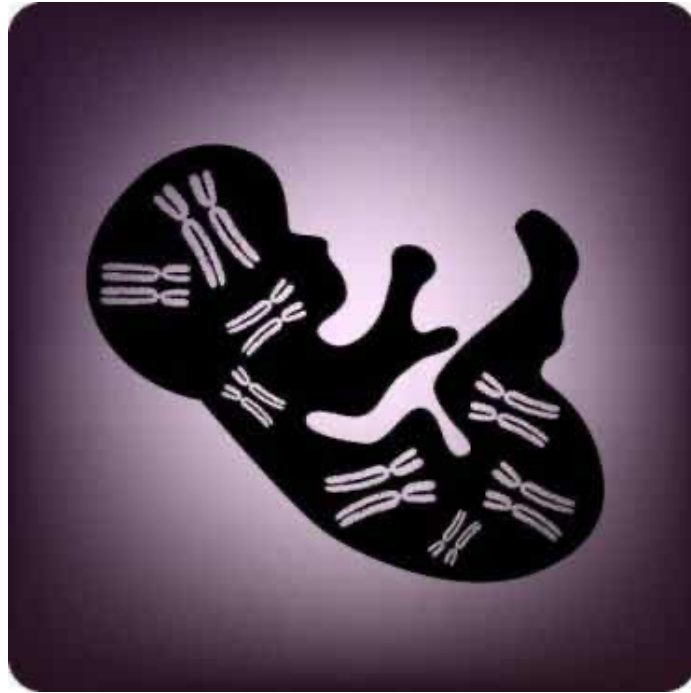
Show more

Pour la SFMPP, quatre prérequis sont incontournables pour se prémunir de toutes dérives éthiques si une extension du dépistage préconceptionnel en population générale était retenue lors du vote de la révision de la loi de bioéthique:

- l'information éclairée du couple et le respect de l'autonomie des personnes. Le dépistage préconceptionnel ne saurait devenir une action normative;
- la connaissance sûre du caractère délétère de l'anomalie génétique constatée et du risque fort d'apparition de la pathologie (variant délétère de classe V);
- la notion de gravité et d'incurabilité des pathologies concernées. Celle-ci doit avoir une attention constante au cours du temps pour éviter toute dérive sur ce critère majeur (théorie de « la pente douce »);
- la poursuite des recherches pour améliorer la qualité de vie et trouver un traitement

## Résultats et discussion

À un moment où la médecine génomique se développe et les tests commerciaux diffusent largement, l'accès aux tests préconceptionnels doit être encadré et faire l'objet de recommandations de bonnes pratiques. La « Société Française de Médecine Prédictive et Personnalisée » (SFMPP) donne ses préconisations sur les conditions d'extension des indications lors de la révision des lois de bioéthique. Une extension d'indication aux maladies récessives les plus fréquentes et les plus graves pourrait être médicalement retenu en l'absence d'antécédents familiaux. Cela nécessiterait: une information loyale et précise en amont afin de respecter le principe d'autonomie des personnes, une liste constituée de gènes concernés et restreinte à un panel, une prise en charge universelle des coûts pour préserver le principe de justice et d'équité, un accompagnement médical spécialisé proposé en amont et en aval du test.



Merci à tous