



HAL
open science

Anasarque foetale et maladies héréditaires du métabolisme : proposition d'une nouvelle prise en charge diagnostique

Bénédicte Arnaud

► To cite this version:

Bénédicte Arnaud. Anasarque foetale et maladies héréditaires du métabolisme : proposition d'une nouvelle prise en charge diagnostique. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01699492

HAL Id: dumas-01699492

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01699492>

Submitted on 2 Feb 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Normandie Université

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Médecine

Préparé au sein de l'Université de ROUEN Normandie

Anasarque foetale et maladies héréditaires du métabolisme : Proposition d'une nouvelle prise en charge diagnostique

**Présentée et soutenue par
Bénédicte ARNAUD née SUDRIÉ
Née à Toulouse le 29 avril 1986**

Thèse soutenue publiquement le 5 septembre 2017
devant le jury composé de

Monsieur Le Professeur Stéphane MARRET	Professeur des Universités Praticien Hospitalier Université Rouen Normandie	Président du jury
Madame Le Professeur Annie LAQUERRIERE	Professeur des Universités – Praticien Hospitalier Université Rouen Normandie	Membre du jury
Madame Le Docteur Pascale SAUGIER-VEBER	Maitre de Conférence Universitaire – Praticien Hospitalier Université Rouen Normandie	Membre du jury
Monsieur Le Docteur Gilles MORIN	Praticien hospitalier CHU d'Amiens	Membre du jury
Madame Le Professeur Soumeya BEKRI	Professeur des Universités – Praticien hospitalier Université Rouen Normandie	Directeur de thèse

**Thèse dirigée par Mme le Professeur Soumeya BEKRI
Laboratoire de Biochimie Métabolique – CHU de Rouen**

Doctorats : la nomenclature générique (47 modalités)

code diplôme SISE	LIBELLE
4200001	MATHEMATIQUES
4200002	PHYSIQUE
4200003	CHIMIE
4200004	MATHEMATIQUES APPLIQUEES ET SCIENCES SOCIALES
4200005	SCIENCES DE L'UNIVERS
4200006	ASPECTS MOLECULAIRES ET CELLULAIRES DE LA BIOLOGIE
4200007	PHYSIOLOGIE ET BIOLOGIE DES ORGANISMES - POPULATIONS - INTERACTIONS
4200008	RECHERCHE CLINIQUE, INNOVATION TECHNOLOGIQUE, SANTE PUBLIQUE
4200009	SCIENCES AGRONOMIQUES, BIOTECHNOLOGIES AGRO-ALIMENTAIRES
4200010	MEDECINE
4200011	ODONTOLOGIE
4200012	PHARMACIE
4200013	STAPS
4200014	MECANIQUE DES FLUIDES, ENERGETIQUE, THERMIQUE, COMBUSTION, ACOUSTIQUE
4200015	MECANIQUE DES SOLIDES, GENIE MECANIQUE, PRODUCTIQUE, TRANSPORT ET GENIE CIVIL
4200016	GENIE CIVIL
4200017	GENIE DES PROCEDES
4200018	INFORMATIQUE
4200019	GENIE ELECTRIQUE
4200020	ELECTRONIQUE, MICROELECTRONIQUE, OPTIQUE ET LASERS, OPTOELECTRONIQUE MICROONDES
4200021	SCIENCES ET TECHNOLOGIE INDUSTRIELLES
4200022	SCIENCES DU LANGAGE - LINGUISTIQUE
4200023	LANGUES ET LITTERATURES ANCIENNES
4200024	LANGUES ET LITTERATURES FRANCAISES
4200025	LITTERATURE GENERALE ET COMPAREE
4200026	ARTS PLASTIQUES, MUSICOLOGIE
4200027	FRANCAIS, LANGUE ETRANGERE
4200028	LANGUES ET LITTERATURES ETRANGERES
4200029	LANGUES ETRANGERES APPLIQUEES
4200030	CULTURES ET LANGUES REGIONALES
4200031	PHILOSOPHIE, EPISTEMOLOGIE
4200032	HISTOIRE, HISTOIRE DE L'ART ET ARCHEOLOGIE
4200033	GEOGRAPHIE
4200034	AMENAGEMENT
4200035	ARCHEOLOGIE, ETHNOLOGIE, PREHISTOIRE
4200036	SCIENCES RELIGIEUSES
4200037	PSYCHOLOGIE
4200038	SOCIOLOGIE, DEMOGRAPHIE
4200039	SCIENCES DE L'EDUCATION
4200040	SCIENCES DE L'INFORMATION ET DE LA COMMUNICATION
4200041	SCIENCES JURIDIQUES
4200042	SCIENCES POLITIQUES
4200043	SCIENCES ECONOMIQUES
4200044	SCIENCES DE GESTION
4200045	ADMINISTRATION ECONOMIQUE ET SOCIALE (AES)
4200046	AUTOMATIQUE, SIGNAL, PRODUCTIQUE, ROBOTIQUE
4200047	SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

LE SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) 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.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) 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 déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

ANNÉE UNIVERSITAIRE 2016 - 2017
U.F.R. DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : Professeur Pierre FREGER
ASSESEURS : Professeur Michel GUERBET
Professeur Benoit VEBER
Professeur Pascal JOLY
Professeur Stéphane MARRET

MÉDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal BENHAMOU	HCN	Médecine interne
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE (<i>détachement</i>)	HCN	Médecine interne (gériatrie) – Détachement
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Pierre CZERNICHOW (<i>surnombre</i>)	HCH	Épidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric DI FIORE	CB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
Mr Philippe DUCROTTE	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel GODIN (<i>surnombre</i>)	HB	Néphrologie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
Mr Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato – Vénérologie
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques

Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Benoit MISSET	HCN	Réanimation Médicale
Mr Jean-François MUIR (<i>surnombre</i>)	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace ROMAN	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatogastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLEZ (<i>surnombre</i>)	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
M. Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre VANNIER (<i>surnombre</i>)	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	HB	Service Santé Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
Mr Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Neurophysiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé

Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mr Thomas MOUREZ	HCN	Virologie
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia ROLLIN	HCN	Médecine du Travail
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie

PROFESSEUR AGRÉGÉ OU CERTIFIÉ

Mr Thierry WABLE	UFR	Communication
------------------	-----	---------------

PHARMACIE

PROFESSEURS

Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
Mr Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE (Professeur émérite)	Toxicologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Isabelle LEROUX - NICOLLET	Physiologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEUIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Jérémy BELLIEU (MCU-PH)	Pharmacologie
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER	Statistiques
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mr Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Dominique DUTERTE- BOUCHER	Pharmacologie
Mr Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla GHARBI	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Hervé HUE	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Marine MALLETER	Biologie Cellulaire

Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIÉS

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mr Jean-François HOUIVET	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CERTIFIÉ

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
---------------------	---------

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mme Sandrine DAHYOT	Bactériologie
---------------------	---------------

ATTACHÉS TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mme Hanane GASMI	Galénique
Mme Benedetta CORNELIO	Chimie organique

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Roland CAPRON	Biophysique
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Rémi VARIN	Pharmacie clinique
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MÉDECINE GENERALE

PROFESSEUR

Mr Jean-Loup HERMIL UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIÉS À MI-TEMPS

Mr Emmanuel LEFEBVRE UFR Médecine Générale
 Mme Elisabeth MAUVIARD UFR Médecine générale
 Mr Philippe NGUYEN THANH UFR Médecine générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIÉ À MI-TEMPS

Mr Pascal BOULET UFR Médecine générale
 Mr Emmanuel HAZARD UFR Médecine Générale
 Mme Lucile PELLERIN UFR Médecine générale
 Mme Yveline SEVRIN UFR Médecine générale
 Mme Marie Thérèse THUEUX UFR Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Serguei FETISSOV (med) Physiologie (ADEN)
 Mr Paul MULDER (phar) Sciences du Médicament
 Mme Su RUAN (med) Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med) Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
 Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med) Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
 Mme Carine CLEREN (med) Neurosciences (Néovasc)
 M. Sylvain FRAINEAU (phar) Physiologie (Inserm U 1096)
 Mme Pascaline GAILDRAT (med) Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
 Mr Nicolas GUEROUT (med) Chirurgie Expérimentale
 Mme Rachel LETELLIER (med) Physiologie
 Mme Christine RONDANINO (med) Physiologie de la reproduction
 Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med) Physiologie (Unité Inserm 1076)
 Mr Frédéric PASQUET Sciences du langage, orthophonie
 Mme Isabelle TOURNIER (med) Biochimie (UMR 1079)

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

SJ – Saint Julien Rouen

Au président de jury,

Monsieur le Professeur Stéphane MARRET

Merci de me faire l'honneur d'accepter de présider mon jury et de juger ce travail.

Merci pour tout le soutien que vous nous avez apporté pour l'élaboration de ce travail.

Et un grand merci d'avoir pris le temps de nous rassurer pour Louis.

Je vous exprime ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

À Madame le Professeur Annie LAQUERRIÈRE

Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury et de juger ce travail.

Merci pour toute l'aide que vous nous avez apportée pour l'élaboration de ce travail, le temps et la
patience que vous y avez mis.

Et un grand merci de la précieuse expertise que vous nous apportez au quotidien pour le diagnostic
des Maladies Héréditaires du Métabolisme

Je vous exprime ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

À Madame le docteur Pascale SAUGIER-VEBER

Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury et de juger ce travail.

Merci pour tout le temps que vous nous avez accordé pour la mise en place de notre panel NGS, ce travail n'aurait pu se faire sans vous.

Je vous exprime ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

À Monsieur le Docteur Gilles MORIN

Merci d'avoir accepté de participer à mon jury et de juger ce travail.

Merci de m'avoir fait découvrir les Maladies Héréditaires du Métabolisme qui se sont révélées être une vraie passion pour moi, merci de tout ce que vous m'avez appris ça a été un vrai plaisir de finir mon externat dans votre service.

Je vous exprime ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

À ma directrice de Thèse,

À Madame la Professeur Soumeya BEKRI

Merci de m'avoir accueillie dans votre service, et de m'enseigner la biochimie métabolique avec
autant de passion.

Merci de m'avoir permis de faire ma thèse d'exercice sur ce sujet qui me passionne.

Merci pour votre rigueur, votre soutien et votre bonne humeur qui me permet de donner tous les
jours au sein du laboratoire (tout du moins je l'espère) le meilleur de moi-même.

Soyez assurée de ma sincère reconnaissance et de mon plus profond respect.

À mes parents, pour tout leur soutien durant ses nombreuses années d'étude, pour leur disponibilité et pour avoir fait de moi ce que je suis.

À Olivier et Sophie, pour supporter votre grande sœur !

À mes grands-pères partis trop tôt

À mes grand-mères, dont le coup de fil hebdomadaire m'est indispensable

À Dominique, pour son soutien.

À mes beaux-parents Pam et Mam pour leur accueil si chaleureux, pour me donner l'impression que je suis plus une fille qu'une belle-fille. Pour toute l'aide que vous nous apportez.

À mes beaux-frères, belles sœurs, neveux et nièce pour tous les moments partagés ensemble, je suis bénie d'avoir eu autant de frères et sœurs supplémentaires !

À mes collègues de biochimie métabolique : Abdellah (*merci de ne pas t'arracher les cheveux quand tu corriges mon anglais*), Carine (*pour ton humour ravageur*), Hélène (*#mercipourtoutcequetumapprends*), Isabelle C (*pour nos discussions*), Isabelle T (*pour ta patience et ton rire à chacune de mes blagues*), Lorena (*pour nos discussions sur tout et rien*), Meriem (*merci de me faire rire avec tes péripéties*), à Pierre-Jean et Thomas (*pour supporter une équipe de filles !*) mais aussi pour votre bonne humeur, pour ce que vous m'avez appris et ce que vous continuez à m'apprendre, vous contribuez au bonheur que j'ai de venir travailler le matin !

À Mél, ma Christina, mon petit ours brun, pour ton amitié indéfectible !

À Charles et Elise pour ton amitié depuis 15 ans et pour ta bouille d'amour !

À Mélanie, Thomas et Maxence, que je ne vois malheureusement pas assez souvent !

À Marion, Franek et Jean, pour votre aide et votre amitié dont nous ne pouvons pas nous passer !

À Pierre, Gaëlle, Apolline, Tillou et Clo, pour ces week-ends pizza, hamburger, libanais, japonais...

Mais surtout pour tout ce que vous faites pour nous !

À Chub, Marine, Gaspard et Hector pour les bons moments partagés

Mais aussi à Philippe, Laure, Paul, Lucile, Simon, Hippolyte.

À mes copines de fac et de soirée médecine Otilie et Suzanne

À mes allumés de cointernes et amis: Mon tic (*pour les fous rires*), JP (*pour ton manque de fibres commerciales largement compensé par tes talents culinaires*), Dupont (*pour nous garder au pied levé nos enfants et pour tes conseils*), Antho (*pour les parties de 7wonders et les blagues*), Dupond (*pour ta gentillesse*), Benoit (*pour ta prévenance*), Charline (*pour ton rire et nos discussions ragots*), Ben (*pour les discussion domotiques*), Kéké (*pour les kévinades bien évidemment*), Naima (*pour ta douceur*), Isabelle (*pour ta confiance*), Juju (*pour nos discussions sur tout et n'importe quoi, surtout sur n'importe quoi !*)

Aux internes et copains de Rouen : Benoit(s), Wassim, Victor, Simon, Mathilde, Céline(s), Jennifer(s), Aurélien, Gaétan, Aurélie, Thomas, Florian, Maud, François, Marion(s), Guillaume, Khadija, Rangolie, Abdulaziz, Mustapha...

Aux chefs avec qui je bosse tous les jours Alice, Anne-Claire, Anne-Marie, Lena, Stéphanie...

Au service de génétique moléculaire pour votre aide : Sandrine, Steeve, Sophie, Raphaël, Françoise, Myriam, Isabelle, Madame le Docteur Stéphanie BAERT

Au service de gynéco-obstétrique Monsieur le Professeur VERSPYCK, Mme LE POTIER merci pour votre aide précieuse pour ce travail.

À madame le Docteur Sophie PATRIER merci d'avoir répondu gentiment à toutes mes questions. À monsieur le Docteur Florent MARGUET pour son aide.

A toute ma famille et mes amis, je ne peux pas citer tout le monde sinon ça serait plus long que ma thèse.

ET SURTOUT

À **Philette** et **Loulou**, qui me montrent que je ne peux pas tout maîtriser, merci de remplir notre maison de vos rires et vos sourires, vous êtes une vraie bouffée d'oxygène.

À **Émilien** il me faudrait une thèse entière... alors juste merci de me prouver tous les jours que notre mariage est vraiment construit sur le roc.

L'Université de Rouen et l'UFR de Médecine et de Pharmacie de Rouen n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans cette thèse. Ces opinions sont propres à leurs auteurs.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	21
Anasarque Fœtale	22
Un Peu D'histoire... ..	22
Définition	22
Types d'Anasarques	22
L'anasarque fœtale non immune (AFNI).....	23
Maladies Héréditaires du Métabolisme (MHM).....	24
Différentes Classes et Physiopathologie	25
Groupe I ou maladies d'intoxication	25
Groupe II ou déficits énergétiques.....	26
Groupe III ou Maladies par déficit de la synthèse ou du catabolisme des molécules complexes	30
Protocole diagnostique en cas d'anasarque fœtale.....	42
Dépistage anténatal des maladies lysosomales	43
Séquençage haut débit ou Next Generation Sequencing (NGS)	44
Objectif de L'étude	45
PATIENTS & MÉTHODES	46
Nature de l'étude	47
Patients	47
Les critères d'inclusions	47
Les critères d'exclusions.....	48
Présentation des cas	48
Next Sequencing Generation (NGS)	49
Présentation et mise en place du panel AnaFoe.....	49
Principe du séquençage Illumina	50
NextSeq 500 et Sciclone.....	53
Outil bioinformatique à l'analyse des données : CanDiD et CANOE	55
RÉSULTATS.....	57
Nombres de patientes inclus	58
Validation de méthode	59
Validation du panel LysoV2.....	59

Critères de validation	60
Confirmation des performances en pratique quotidienne	61
Patientes	62
DISCUSSION	66
Apport du NGS dans le diagnostic étiologique de l'anasarque fœtale	67
Exemples de dossier clinique	67
Proposition d'une nouvelle prise en charge diagnostic	69
CONCLUSION	72
BIBLIOGRAPHIE	73

TABLE DES FIGURES

Figure 1. Répartition des causes d'anasarque fœtale selon la méta-analyse de Bellini et al [6]	23
Figure 2. Métabolisme énergétique : cycle de Krebs et chaîne respiratoire [12]	28
Figure 3. La bêta-oxydation des acides gras	29
Figure 4. Biogenèse et fonction du peroxysome [15].....	30
Figure 5. Physiopathologie des MLS	32
Figure 6. La N-glycosylation [23].....	36
Figure 7. Métabolisme du cholestérol [16].....	38
Figure 8. La Glycogénolyse et la glycolyse [29].....	40
Figure 9. La voie des pentoses-phosphate [33]	42
Figure 10. Fragment d'ADN avant séquençage par NGS	51
Figure 11. NextSeq 500.....	53
Figure 12. Sciclone G3.....	54
Figure 13. Pipeline bioinformatique pour l'analyse NGS.....	56
Figure 14. Schéma représentant les patientes incluses dans l'analyse NGS.....	58
Figure 15. Examens macroscopique et histologique du fœtus	63
Figure 16. Analyse qualitative des GAG du liquide amniotique de la patiente n°4 par électrophorèse monodirectionnelle.....	64
Figure 17. Prise en charge diagnostique de l'anasarque fœtale.	71

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Liste des causes d'AFNI et leurs fréquences	24
Tableau 2 : Caractéristiques des maladies d'intoxication	25
Tableau 3 : Liste des maladies peroxysomales donnant AFNI [16]	31
Tableau 4 : Liste des MLS donnant des AFNI	34
Tableau 5 : Liste des CDG donnant des AFNI[25]	37
Tableau 6 : Liste des analyses effectuées dans le bilan biochimique de base	43
Tableau 7 : Paramètres du design des sondes.....	50
Tableau 8 : Critères de validation de LysoV2.....	60
Tableau 9 : Critères de performances de LysoV2	61

TABLE DES ANNEXES

Annexe I : Bilan diagnostique devant toute anasarque fœtale au CHU de Rouen	76
Annexe II : Bilan biochimique de base pour l'exploration d'une AFNI	77
Annexe III : Liste des gènes par maladies	78
Annexe IV : Principe de séquençage par synthèse Illumina	80
Annexe V : Liste des patientes & résultats	81

ABRÉVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
AFNI	Anasarque fœtale non immune
AGTLC	Acides gras à très longue chaîne
ANPGM	Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire
ARSA	Arylsulfatase A
ARSB	Arylsulfatase B
CDG	Anomalies congénitales de la glycosylation
CDPX2	Chondrodysplasie punctata liée à l'X de type 2
CHU	Centre Hospitalo-Universitaire
CMV	Cytomégalovirus
CNV	Copy Number Variation
CS	Chondroïtine Sulfate
DHA	Acide docosahexaénoïque
DHCA	Acide dihydroxycholestanoïques
DS	Dermatane Sulfate
G1P	Glucose-1-phosphate
G6P	Glucose-6-phosphate
GAG	Glycosaminoglycanes
GNS	N-acétylglucosamine 6 Sulfatase
HGMD	Human Gene Mutation Database
HGPO	Hyperglycémie provoquée orale
HMG-CoA	3-hydroxy-3-méthylglutarique-CoA
HS	Héparane Sulfate
IDS	Iduronate D-sulfatase
KS	Kératane Sulfate
LCHAD	3-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase des acides gras à chaîne longue
LLO	Lipid Linked Oligosaccharide
MHM	Maladies Héréditaires du Métabolisme
MLS	Maladies Lysosomales de Surcharge
MODY	Maturity-Onset Diabetes of the Youth
MPS	Mucopolysaccharidoses
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NFS	Numération Formule Sanguine
NGS	Next Generation Sequencing
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
PPP	Voie des Pentoses Phosphate
RAI	Recherche d'Anticorps Irréguliers
RCDP	Chondrodysplasie Rhizomélique de type 1
RCIU	Retard de Croissance Intra Utérin
RIHN	Référentiel des actes Innovants Hors Nomenclature
SA	Semaine d'aménorrhée
SHH	Sonic Hedgehog
SNV	Single Nucleotide Variant
THCA	Acide trihydroxycholestanoïque
UDP	Uridine diphosphate
WES	Whole exome sequencing
WGS	Whole genome sequencing

INTRODUCTION

ANASARQUE FŒTALE

UN PEU D'HISTOIRE...

Malgré le fait qu'aujourd'hui l'anasarque fœtale soit un signe échographique, sa première description est clinique. Elle a été faite par Louise BOURGEOIS (1563-1636), sage-femme à la cour de France, qui en 1609, décrit la naissance de jumeaux dont l'un était œdématié et est décédé rapidement après la naissance et l'autre ictérique. Il s'agissait probablement d'un cas d'allo-immunisation maternelle [1].

Ballantyne d'EDINBURGH (1861-1923), médecin écossais, fut le premier en 1902 à parler d'anasarque avec la définition que l'on lui connaît aujourd'hui « *une condition morbide du fœtus caractérisée par une anasarque généralisée, par la présence d'effusions dans le péritoine, la plèvre, et le sac péricardique, habituellement par un œdème de placenta, et il résulte la mort du fœtus ou de l'enfant, avant, pendant ou très rapidement après la naissance* » [2].

Il faudra attendre 1968 pour que deux médecins allemands Von D. HOFMANN et H. J. HOLLANDER, publient un article sur 9 cas d'anasarques fœtaux retrouvés par échographie (*Vidoson*) [3].

DÉFINITION

L'anasarque fœtale correspond à l'accumulation anormale de liquide chez un fœtus dans les tissus et les cavités séreuses. Cliniquement, l'anasarque fœtale est définie par l'association d'un **œdème sous-cutané fœtal** (*supérieur à 5mm*) et d'un **épanchement dans une ou plusieurs cavités séreuses** (*ascite, péricarde, pleural...*). Suivant la pathologie, il peut aussi être associé à une quantité de liquide amniotique anormale (*oligo ou hydramnios*), à un œdème du placenta et est généralement précédé d'un hygroma coli (*collection liquidienne cloisonnée de part et d'autre des parois latérales du cou*) [4].

TYPES D'ANASARQUES

Il existe deux types d'anasarques:

- **L'anasarque immune** ou l'allo-immunisation érythrocytaire maternelle : La présence d'un antigène émanant du père non reconnu par le système immunitaire de la mère est à l'origine d'une réaction immunologique. Les anticorps maternels traversent la barrière placentaire et se fixent sur les antigènes présents à la surface des érythrocytes fœtaux produisant une hémolyse, une anasarque et la mort fœtale in utero.

- **L'anasarque non immune (AFNI) :** toutes les autres pathologies non liées à une allo-immunisation, donc à l'absence d'anticorps anti-érythrocytaire. Avec l'avancée de la médecine et notamment la mise en place systématique de l'immunoprophylaxie pour la prévention de l'allo-immunisation, ces anasarques fœtales non immunes représentent 87% environ des anasarques fœtales observés et dont 15 à 25% restent sans étiologie[5].

L'ANASARQUE FŒTALE NON IMMUNE (AFNI)

En 2009, Bellini et al. ont répertorié 6361 cas d'anasarques fœtales non immunes à travers 225 articles [6]. Cette revue de la littérature a permis d'aboutir à une cartographie des étiologies. En effet, les causes les plus fréquentes sont les atteintes cardiaques, hématologiques, infectieuses et les anomalies chromosomiques (**Tableau 1 et Figure 1**)

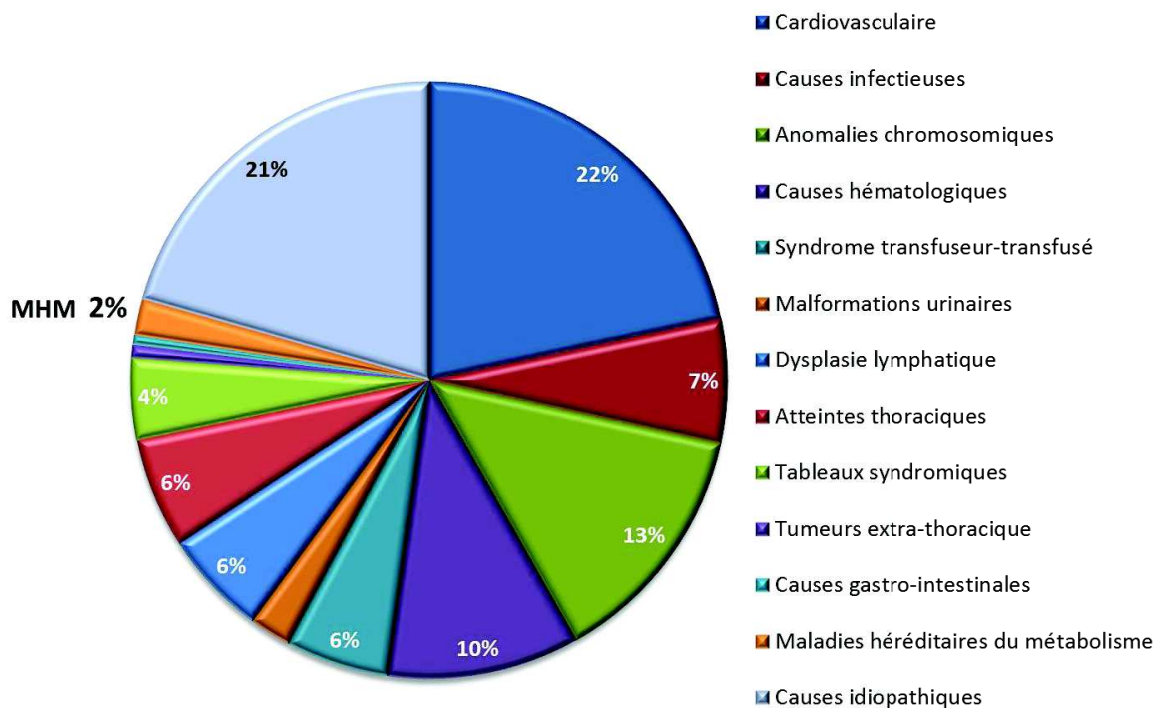


Figure 1. Répartition des causes d'anasarque fœtale selon la méta-analyse de Bellini et al [6]

Il apparaît qu'environ 20% des AFNI demeurent inexplicées et que le pourcentage d'anasarques liées aux maladies héréditaires du métabolisme (MHM) est de 2% dans cette méta-analyse.

Tableau 1 : Liste des causes d'AFNI et leurs fréquences

Groupe	Pathologie	Fréquence
Causes cardiovasculaires	Anomalies structurelles	21,7%
	Arythmies cardiaques	
	Tumeurs	
	Dysfonctions physiologiques (infection, inflammation, infarctus ou calcification artérielle)	
Causes infectieuses	Toxoplasmose	6,7%
	Syphilis	
	Rubéole	
	Parvovirus B19	
	Cytomégalovirus	
Anomalies chromosomiques	Trisomie 13, 18, 21	13,4%
	Syndrome de Turner (X0), de Klinefelter (XXY)	
Autres causes	Causes hématologiques (Thalassémie)	10,4%
	Syndrome Transfuseur/Transfusé	5,6%
	Malformation urinaire	2,3%
	Dysplasie lymphatique	5,7%
	Chylothorax, lymphangiectasie pulmonaire	6%
	Syndromique	4,4%
	Tumeurs extrathoraciques	0,7%
	Gastro-intestinale	0,5%
	MHM	1 à 2%
	Idiopathique	17%

MALADIES HÉRÉDITAIRES DU MÉTABOLISME (MHM)

Les maladies héréditaires du métabolisme sont un groupe de maladies génétiques ayant comme point commun la dysfonction d'une protéine (*enzyme ou transporteur*) impliquée dans le métabolisme cellulaire. Plus de 500 pathologies sont actuellement répertoriées [7]. Elles peuvent toucher n'importe quel organe et sont souvent de transmission autosomique récessive. Contrairement aux autres pathologies génétiques, la majorité des maladies héréditaires du métabolisme peuvent être confirmées par un test biochimique, ce qui permet de confirmer l'effet d'un variant génétique sur la fonction de la protéine. Par ailleurs, le diagnostic précoce de ces pathologies permet dans un grand nombre de cas de proposer des mesures thérapeutiques ou d'éviter la voie métabolique altérée.

DIFFÉRENTES CLASSES ET PHYSIOPATHOLOGIE

Les MHM sont divisées en trois groupes : les maladies d'intoxication, les déficits énergétiques et déficits de la synthèse ou du catabolisme des molécules complexes [7].

GROUPE I OU MALADIES D'INTOXICATION

Généralement secondaires à un bloc enzymatique entraînant une accumulation de composés toxiques, les patients présentent des symptômes d'intoxication aiguë ou subaiguë [7].

Les principales caractéristiques des maladies d'intoxication sont résumées dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Caractéristiques des maladies d'intoxication

Groupes de pathologies	Trouble du catabolisme des acides aminés
	Aciduries organiques
	Déficit du cycle de l'urée
	Intolérances au galactose et au fructose
	Intoxications par les métaux
	Porphyries
Points communs des maladies d'intoxication	Intervalle libre naissance – symptôme
	Intoxication aiguë
	Coma, vomissement, léthargie ...
	Intoxication chronique
	Retard psychomoteur, retard de croissance ...
	Décompensation au décours d'évènements intercurrents
	Fièvre, infection, stress ...
	Diagnostic aisé par des tests biochimiques
	Souvent traitables
Régime hygiéno-diététique, traitement épurateur ...	

Lié principalement à une intoxication post-natale, il y a peu ou pas de signes anténataux, et par conséquent peu d'anasarques fœtales dans ce groupe. En effet, la mère protège le fœtus par l'intermédiaire du placenta qui épure les composés toxiques produits.

Néanmoins une AFNI est retrouvée dans les trois maladies d'intoxications suivantes :

La porphyrie érythropoïétique congénitale¹ ou maladie de Günther se présente sous la forme d'une anémie hémolytique aiguë à l'origine d'une anasarque fœtale. Elle est secondaire à un déficit Uroporphyrinogène III synthase et entraîne l'excrétion des uroporphyrines et coproporphyrines, enzymes du métabolisme de l'hème.

L'hémochromatose néonatale² se présente sous la forme d'hépatopathie fœtale par sidérose diffuse. Cette accumulation serait la cause d'un afflux transplacentaire ferrique lié à une carence en hepcidine, elle-même causée par un complexe d'attaque (C5b-9) créé lors de l'activation de la partie terminale de la voie classique d'activation du complément par un anticorps maternel. Dans certains cas, on retrouvera plus classiquement une mutation du gène *HFE*[8].

Le déficit en glutamine synthétase³ semble se présenter sous la forme d'une insuffisance cardiaque, de malformations cérébrales et a été lié une fois à un polyhydramnios, parmi les 3 cas publiés [9]. La glutamine, acide aminé le plus abondant, est le substrat de nombreuses voies métaboliques (*embryogenèse précoce, prolifération et différenciation neuronale*) et est synthétisée par la glutamine synthétase.

GROUPE II OU DÉFICITS ÉNERGÉTIQUES

Liées à un défaut de stockage, de production ou d'utilisation de l'énergie, les pathologies de déficit énergétique touchent généralement le muscle, le foie, le cerveau ou le cœur. Trois groupes peuvent être distingués [7]:

- Les déficits des transporteurs plasmiques des molécules énergétiques (*tissu dépendant*).
- Les déficits mitochondriaux (*acidoses lactiques congénitales, déficit de la chaîne respiratoire, déficit de l'oxydation des acides gras et des corps cétoniques*). Le diagnostic de ces pathologies est rendu difficile par la fréquente nécessité du recours à la biopsie et rend leur pronostic particulièrement sombre.
- Les déficits cytoplasmiques qui ont un meilleur pronostic vital, car ils sont pour la plupart traitables et ont un meilleur pronostic.

¹ OMIM #263700 *UROS*

² OMIM #271100 *HFE*

³ OMIM #610015 *GLUL*

Le diagnostic de ces pathologies est rendu difficile par la fréquente nécessité du recours à la biopsie et rend leur pronostic particulièrement sombre. Seuls les déficits cytoplasmiques sont plus facilement traitables et ont un meilleur pronostic vital.

Dans ce groupe, on retrouve des AFNI dans :

Le syndrome de Barth⁴: le gène *TAZ* altéré dans le syndrome de Barth code pour la protéine tafazzine localisée dans la membrane mitochondriale, et qui est exprimée essentiellement dans les muscles cardiaque et squelettique. Cette protéine serait responsable d'un remodelage défectueux des chaînes latérales des phospholipides, ce qui engendre une carence en cardiolipine et donc la cardiopathie dilatée et la dysfonction du ventricule gauche responsable de l'anasarque fœtale. Cette pathologie est liée à l'X [10].

Le déficit en fumarase⁵ : la fumarase est l'enzyme qui catalyse la transformation du fumarate en malate dans le cycle de Krebs (**Figure 2**). Le diagnostic ne peut être fait que par génétique en anténatal (*sur atteinte cérébrale à l'échographie*). Néanmoins en 2000, une équipe de Grande-Bretagne a pu objectiver un pic d'acide fumarique dans le liquide amniotique pour deux grossesses, mais le dosage reste difficile [11].

⁴ OMIM #302060 : *TAZ*

⁵ OMIM #136850 : *FH*

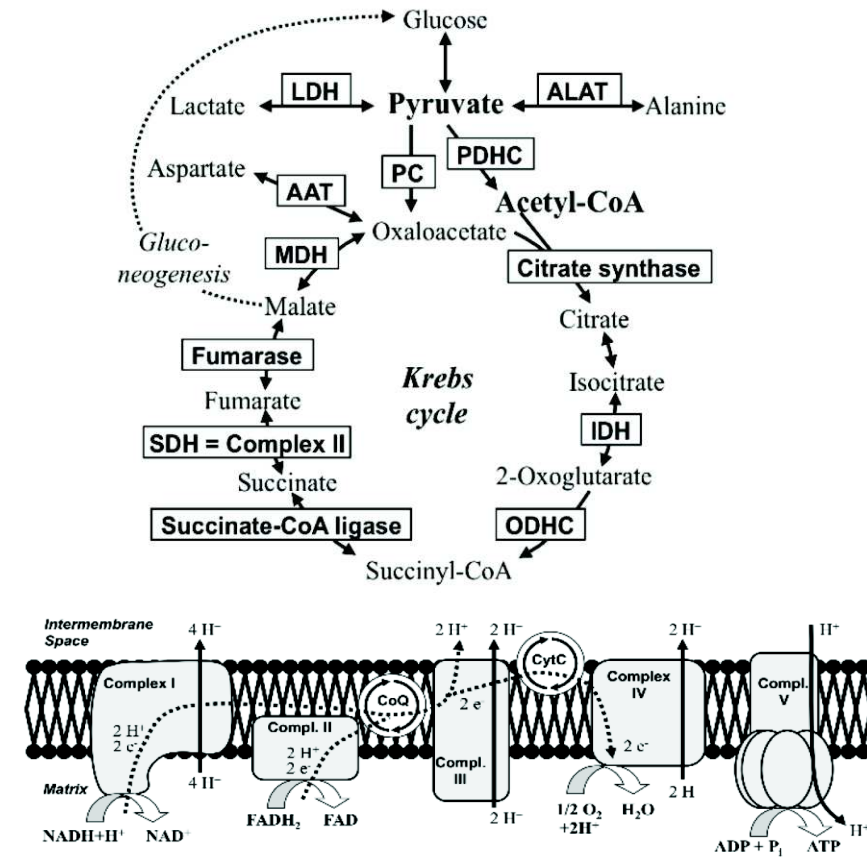


Figure 2. Métabolisme énergétique : cycle de Krebs et chaîne respiratoire [12]

La fumarase est une des 8 enzymes du cycle de Krebs. Ce cycle est une plateforme métabolique en lien avec les complexes de la chaîne respiratoire qui permet de produire de l'ATP, de l'eau à partir des atomes d'hydrogène des molécules énergétiques et des atomes d'oxygène de l'air.

Le déficit primaire en carnitine⁶ est une pathologie secondaire à un déficit en transporteur de la carnitine (**Figure 3**). En effet, l'oxydation des acides gras dans la mitochondrie permet de fournir 80% des besoins en énergie cellulaire durant le jeûne. Les acides gras à longue chaîne (*de C16 à C20*) sont stockés sous forme de triglycérides dans le tissu adipeux et sont scindés par des lipases pour être activés en Acyl-CoA. La carnitine permet grâce à son transporteur (*OCTN2*) de passer les acides gras à longues chaînes à travers la membrane interne mitochondriale qui leur est imperméable [13]. Au niveau du myocarde, la bêta-oxydation des acides gras est la principale source d'énergie des cardiomyocytes. En cas de présence de variant pathogène homozygote, le défaut d'*OCTN2* est responsable d'une dysfonction myocardique qui entraîne une cardiomyopathie dilatée à l'origine de l'anasarque foetale [13].

⁶ OMIM #212140 : SLC22A5

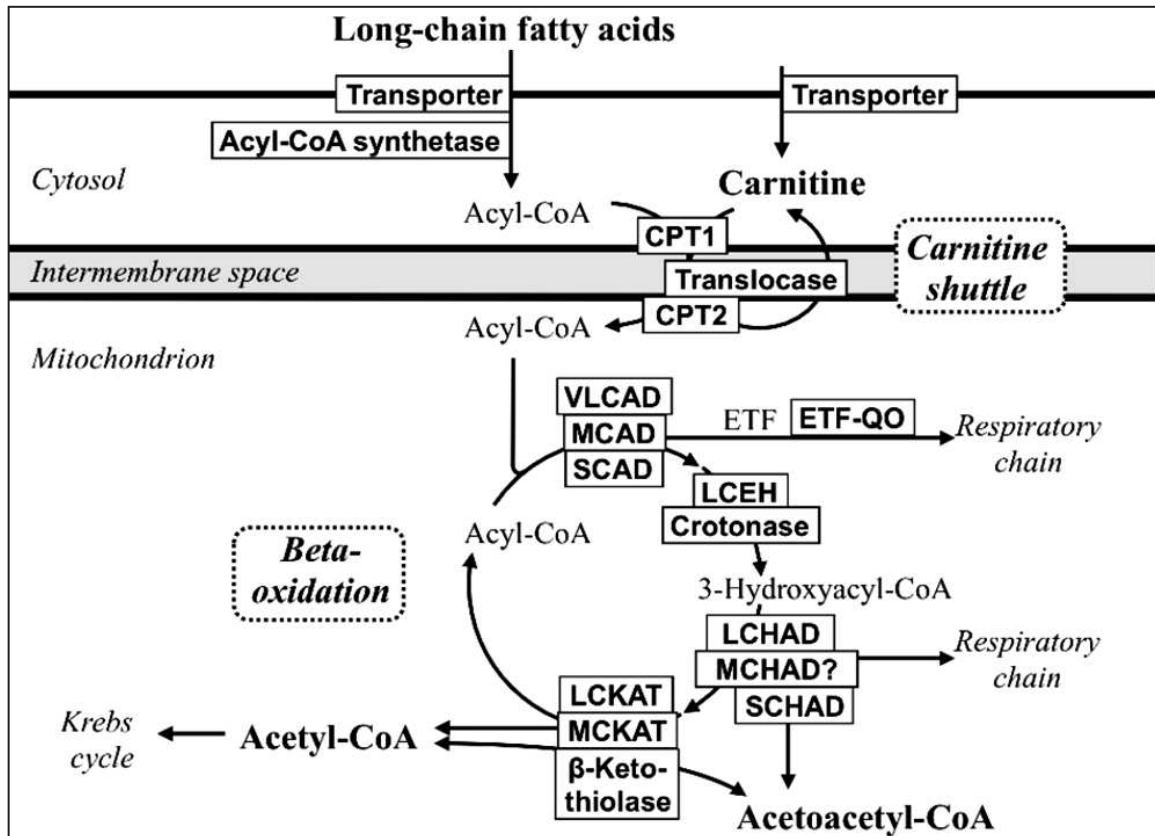


Figure 3. La bêta-oxydation des acides gras

Schéma représentant la bêta-oxydation des acides gras, la première étape consiste à internaliser les acides gras à longues chaînes grâce à un transporteur embarquant la carnitine dans les mitochondries. Puis, les acides gras activés en acyl-CoA (*nombre de carbone = N*), sont soumis à une boucle de bêta-oxydation qui permet, grâce à 4 étapes enzymatiques de cliver un acétyl-CoA (C2) et obtenir un acide gras (*nombre de carbones = N-2*).

La maladie de Pearson⁷ : les signes d'anémie à l'échographie peuvent être évocateurs d'un syndrome de Pearson. L'anémie hémolytique retrouvée dans cette pathologie est responsable de l'anasarque. Mais très peu de cas ont été décrits en anténatal [14].

⁷ OMIM #557000 : Délétion ADNmt

GROUPE III OU MALADIES PAR DÉFICIT DE LA SYNTHÈSE OU DU CATABOLISME DES MOLÉCULES COMPLEXES

LES MALADIES DU MÉTABOLISME DU PEROXYOSOME

Les peroxyosomes sont des organites intracellulaires qui assurent l'oxydation de plusieurs molécules. En effet, le peroxyosome prend en charge la bêta-oxydation des acides gras à très longues chaînes qui ne sont pas catabolisés par la mitochondrie (*particulièrement C24 :0, et C26 :0*), ou encore des acides gras ramifiés comme l'acide pristanique. Les acétyl-CoA ainsi libérés permettent d'alimenter le cycle de Krebs ou encore le métabolisme des lipides [15].

Le peroxyosome a aussi un rôle dans la synthèse des acides biliaires avec l'oxydation des acides di- et tri-hydroxycholestanoïques (*DHCA et THCA*), il permet aussi l'alpha-oxydation de l'acide phytanique, l'oxydation de l'acide pipécolique, le début de la synthèse de plasmalogènes ou encore la production de l'acide docosahexaénoïque (*DHA*) à partir d'un acide gras polyinsaturé de la série oméga 3 (Figure 4).

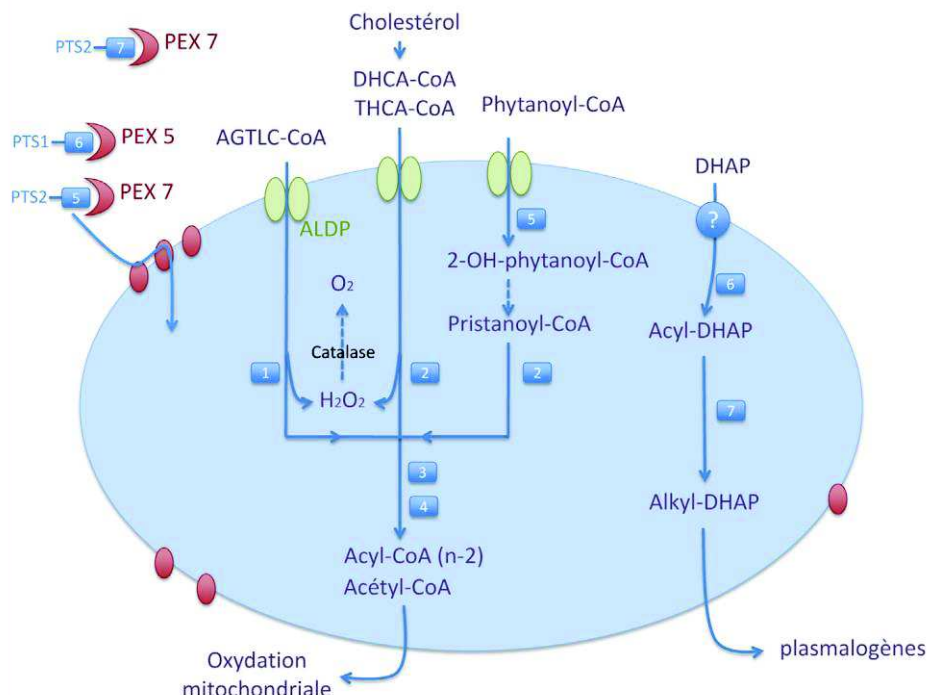


Figure 4. Biogenèse et fonction du peroxyosome [15]

Les peroxines codées par les gènes PEX interviennent dans la biogenèse du peroxyosome, le catabolisme des acides gras à très longues chaînes (AGTLC), le catabolisme du cholestérol, de l'acide phytanique et la synthèse des plasmalogènes.

Les maladies peroxysomales sont séparées en deux sous-groupes : 1) les maladies affectant la biogenèse du peroxysome, 2) celles qui touchent une seule fonction (*enzyme ou transporteur*).

Les AFNI dans les maladies peroxysomales sont retrouvées uniquement dans les défauts de la biogenèse du peroxysome : le syndrome de Zellweger et la chondrodysplasie rhizomélique de type 1.

Le **Tableau 3** liste des maladies peroxysomales occasionnant des anasarques

Tableau 3 : Liste des maladies peroxysomales donnant AFNI [16]

<i>Pathologie</i>	<i>Gène</i>	<i>#OMIM</i>
Syndrome de Zellweger	PEX1	214100
Syndrome de Zellweger	PEX2	614866
Syndrome de Zellweger	PEX5	214110
Syndrome de Zellweger	PEX6	614862
Syndrome de Zellweger	PEX10	614870
Syndrome de Zellweger	PEX12	614859
Syndrome de Zellweger	PEX26	614872
Chondrodysplasie Rhizomélique de type 1 (RCDP type 1)	PEX7	215100

Il y a très peu de cas décrits dans la littérature, la physiopathologie de l'anasarque dans ces pathologies peroxysomales est donc mal connue [17].

Le bilan biochimique nécessaire pour le diagnostic de ces pathologies, en postnatal, consiste en premier lieu en un dosage des acides gras à très longues chaînes (AGTLC), le dosage de l'acide phytanique et pristanique, ainsi que les plasmalogènes [15].

Les AGTLC, l'acide pipécolique, DHCA et THCA, sont augmentés dans le syndrome de Zellweger. Dans le cas de la RCDP type 1, les AGTLC sont normaux tout comme l'acide pristanique, il existe une augmentation de l'acide phytanique et une diminution des plasmalogènes.

En anténatal, il est possible de mesurer les plasmalogènes à partir de la culture d'amniocytes ou de cellules fœtales. Le dosage des AGTLC ainsi que des acides phytanique, pristanique et pipécolique est possible aussi bien dans le sang fœtal que dans la culture d'amniocytes ou de cellules fœtales [15].

La confirmation diagnostique est réalisée par l'étude moléculaire des gènes *PEX*.

LES MALADIES LYSOSOMALES (MLS)

Les lysosomes sont des organites intracellulaires, constitués d'une membrane issue du bourgeonnement de la membrane trans-golgienne. Le lysosome est présent dans toutes les cellules mammifères à l'exception des globules rouges. Il est caractérisé par son pH acide et sa principale fonction est la dégradation de macromolécules intra ou extracellulaires en monomères. Cette action est assurée grâce à plus de 50 enzymes lysosomales dites hydrolases acides (*phosphatases, protéases, glycosidases, lipases, sulfatases, nucléases ...*) qui catabolisent des substrats de nature différente [18]. Outre ces enzymes, une centaine de protéines structurales ou de transport ont été identifiées au sein de cette organelle et contribuent aux fonctions du lysosome [19]. Le lysosome fait partie du système endosome-lysosome et participe ainsi aux différents trafics intra et extracellulaires, à l'autophagie, mais aussi à la signalisation.

Les MLS regroupent environ cinquante maladies héréditaires du métabolisme [20]. Elles sont dues à l'altération du catabolisme ou du transport de macromolécules au niveau du lysosome (**Figure 5**).

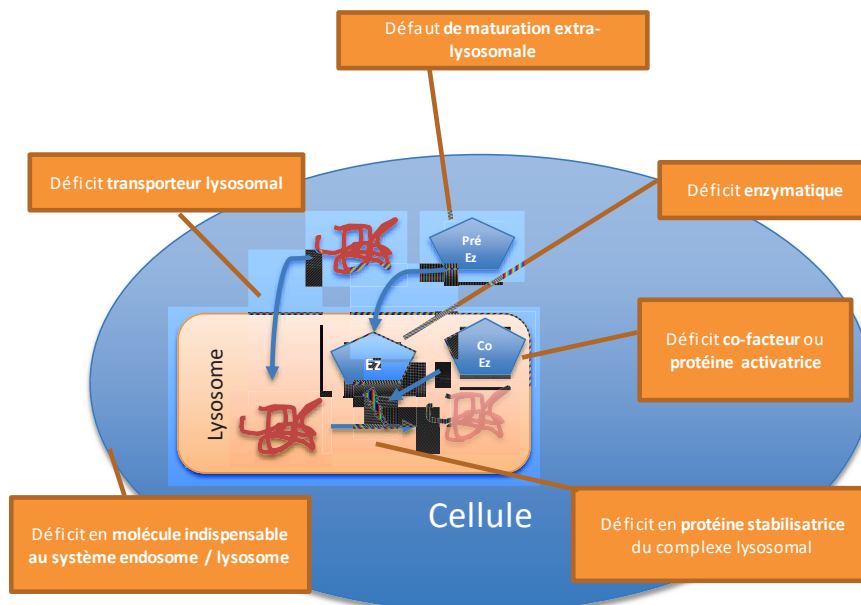


Figure 5. Physiopathologie des MLS

Différents mécanismes sont en cause dans les MLS, avec notamment un déficit d'une enzyme lysosomale, d'un cofacteur ou d'une protéine activatrice. Certains complexes enzymatiques nécessitent la présence d'une protéine stabilisatrice. Certaines MLS peuvent être secondaires à un défaut de transporteur, de maturation de protéines lysosomales (adressage du lysosome ou déficit d'une protéine indispensable au fonctionnement du système endosome / lysosome).

Le défaut de dégradation ou de transport de ces substrats est à l'origine d'une surcharge cellulaire progressive en composés partiellement ou non dégradés [21]. Le mode de transmission des MLS est majoritairement autosomique récessif, à l'exception des maladies de Fabry, de Hunter et de Danon, pour lesquelles la transmission est liée à l'X [20]. Bien qu'individuellement rares (*de 1/1 000 000 à quelques cas décrits*), ces pathologies ont une incidence globale estimée à un cas pour 4 000 à 7 000 naissances. Les maladies de Gaucher, Fabry et Niemann-Pick type A sont les plus fréquentes parmi les MLS.

L'investigation de ces pathologies est souvent réalisée en trois temps, avec en premier lieu la caractérisation des métabolites accumulés, le dosage de l'activité enzymatique supposée être déficiente puis l'étude moléculaire du gène correspondant.

Plusieurs pathologies lysosomales ont été associées à des anasarques (**Tableau 4**).

Les explications physiopathologiques de cette anasarque dans ces MLS sont multiples, pour exemple, un tableau hypertension portale secondaire à une atteinte du foie et de la rate, une viscéromégalie qui entraîne un blocage du retour veineux, une anémie secondaire à un hypersplénisme ou à diminution de l'érythropoïèse par envahissement du système réticulo-endothélial par les cellules de surcharges, une hypoalbuminémie par dysfonction hépatique ou encore des atteintes du myocarde [22].

Tableau 4 : Liste des MLS donnant des AFNI

<i>Pathologies</i>	<i>Gène</i>	<i>#OMIM</i>	<i>Biochimie métabolique</i>
Déficit multiple en sulfatases	<i>SUMF1</i>	#272200	Activité enzymatique des sulfatases (<i>IDS, ARSB, ARSA, Héparane Sulfatase, GNS, Stéroïde Sulfatase</i>)
Galactosialidose	<i>CTSA</i>	#256540	Activité de la bêta galactosidase et sialidase
Gangliosidose à GM1	<i>GLB1</i>	#230500	Activité de la Beta galactosidase
Maladie de Farber	<i>ASAH1</i>	#228000	Etude de la dégradation du céramide
Maladie de Gaucher	<i>GBA</i>	#608013	Activité de l'alpha galactosidase
Maladie de Pompe	<i>GAA</i>	#232300	Activité de la maltase acide
Maladie de Salla	<i>SLC17A5</i>	#604369	Dosage de l'acide sialique libre
Maladie de Wolman	<i>LIPA</i>	#278000	Activité lipase acide
Mucopolidose de type II	<i>GNPTAB</i>	#256200	Activité de plurienzymatique (<i>recherche déficit transporteur</i>)
Mucopolysaccharidose I	<i>IDUA</i>	#607014 #607015 #607016	GAG + activité alpha-L-iduronidase
Mucopolysaccharidose IVA	<i>GALNS</i>	#253000	GAG + activité N-acétylgalactosamine-6-sulfatase.
Mucopolysaccharidose VI	<i>ARSB</i>	#253200	GAG + activité arylsulfatase B
Mucopolysaccharidose VII	<i>GUSB</i>	#253220	GAG + activité bêta glucuronidase
Nieman Pick A	<i>SMPD1</i>	#257200	Activité sphingomyélinase acide
Nieman Pick C	<i>NPC1</i> <i>NPC2</i>	#257220 #607625	Dosage des oxystérols
Sialidose I	<i>NEU1</i>	#256550	Activité de l'alpha-D-neuraminidase

LES DÉFICITS HÉRÉDITAIRES DE LA GLYCOSYLATION DES PROTÉINES OU CDG SYNDROME.

Les anomalies congénitales de la glycosylation (*ou CDG syndrome*) sont des pathologies qui touchent la N- et la O-glycosylation. Seuls les défauts de la N-Glycosylation décrits dans les AFNI seront développés ici.

La biosynthèse des protéines glycosylées suit 3 étapes i) les monosaccharides activés sont formés dans le cytoplasme, ii) les monosaccharides activés sont transportés dans le réticulum endoplasmique (*RE*) et l'appareil de Golgi (*AG*) et iii) les glycosyltransférases attachent les monosaccharides activés à la protéine ou à la chaîne oligosaccharidique

La N-Glycosylation se fait en deux temps au niveau du RE et de l'appareil de Golgi. La première partie consiste à la synthèse d'un oligosaccharide lipide (*LLO : Lipid Linked Oligosaccharide*). La partie lipidique, le dolichyl-phosphate, sert « *d'ancre* » à la chaîne oligosaccharidique. Il y a en tout quatorze monosaccharides qui constituent cette chaîne, deux N-acétylglucosamines, trois glucoses et neuf mannoses. Cet oligosaccharide est transféré dans la lumière du RE par l'oligosaccharyl transférase sur l'asparagine d'un site consensus d'une chaîne peptidique en cours de synthèse. La maturation du N-Glycane démarre dans le RE et se poursuit dans l'AG[23]. Toutes ces étapes sont catalysées par des enzymes qui peuvent être à l'origine de CDG syndromes (**Figure 6**).

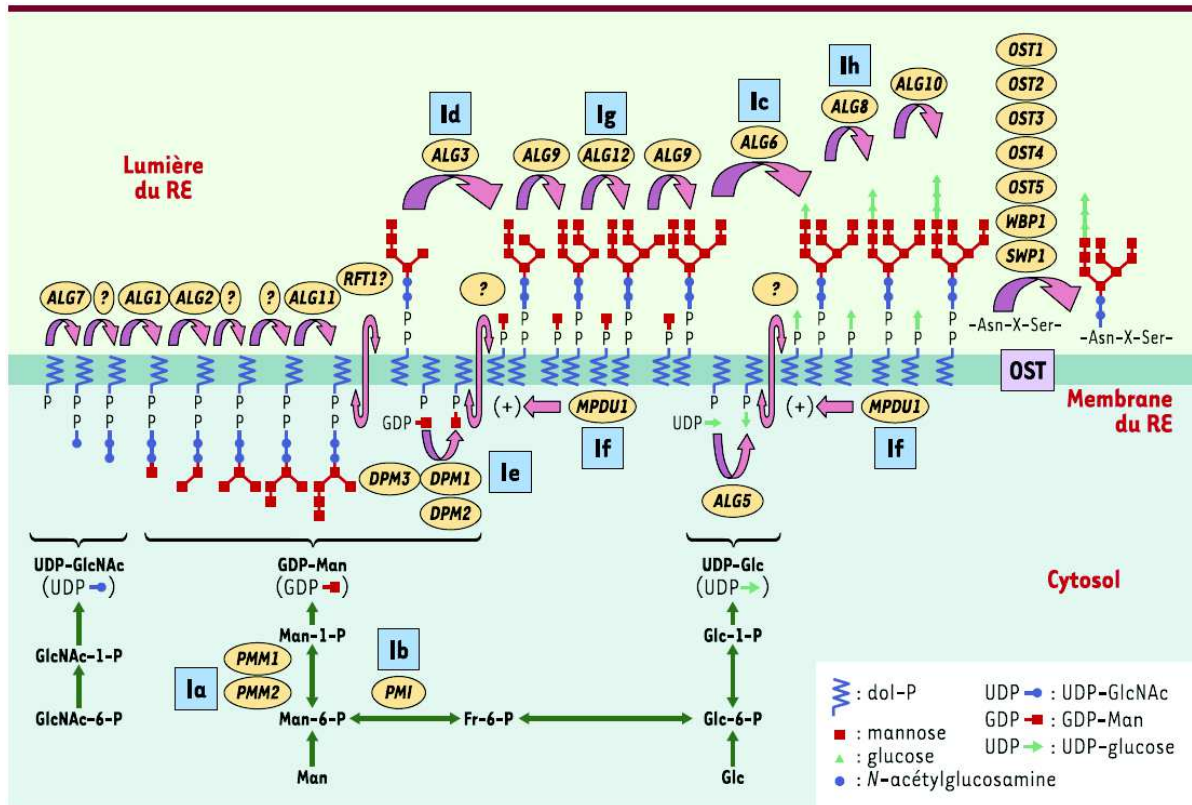


Figure 6. La N-glycosylation [23]

Synthèse de l'oligosaccharide lipide après activation des monosaccharides. Les premières étapes se déroulent au niveau de la face cytoplasmique du réticulum endoplasmique (RE) les monosaccharides sont liés au dolichol-phosphate (*lipide*), puis, sous l'action de la flippase, l'oligosaccharide en formation est transféré dans la lumière du RE où la synthèse continue pour aboutir à la formation d'un oligosaccharide-lipide appelé LLO (*lipid-linked oligosaccharide*). Le LLO sera transféré sur un résidu Asparagine d'un polypeptide en formation. La maturation de cet oligosaccharide commence dans le RE, et se poursuit dans l'appareil de Golgi (AG). Les déficits des étapes de la glycosylation qui se déroulent dans le RE sont dit CDGI et ceux des réactions dans l'AG sont dits CDG II.

ALG : Asparagyl-linked glycosylation, DPM : Dolichol-phosphate mannosyltransferase, MPDU : Mannose Phosphate dolichol utilisation defect PMM : Phospho Manomutase, PMI : phosphomannose isomérase, OST : oligo saccharyl transférase. Les pathologies sont schématisées dans les carrés bleus : CDG Ia, Ib... D'après [23].

Ici, comme dans la plupart des maladies métaboliques donnant des AFNI, la physiopathologie est mal connue. L'anasarque serait probablement secondaire à l'atteinte hépatique fréquemment observée dans les CDG [24].

Le **Tableau 5** liste les CDG syndromes associés à ce jour à des anasarques fœtales.

Tableau 5 : Liste des CDG donnant des AFNI[25]

CDG Ia	<i>PMM2</i>	Phosphomannomutase	#212065
CDG Ig	<i>ALG12</i>	Alpha1,6-mannosyltransférase	#607143
CDG Ih	<i>ALG8</i>	Alpha3-glucosyltransférase	#608104
CDG Ik	<i>ALG1</i>	Beta1,4-mannosyltransférase	#608540

Le diagnostic prénatal se fait par une analyse enzymatique sur liquide amniotique ou villosités chorales, ou encore par analyse moléculaire des gènes codant pour les enzymes responsables des CDG syndromes.

ANOMALIES DE LA BIOSYNTHÈSE DES STÉROLS

Le cholestérol a un rôle important dans le développement embryonnaire, notamment par l'intermédiaire de la protéine de signalisation *SHH* qui rentre en jeu dans les différents processus du développement embryonnaire, ce qui explique le syndrome polymalformatif des patients atteints d'un déficit de la biosynthèse du cholestérol [26].

La première étape de la biosynthèse du cholestérol est la condensation de trois acétyl-CoA en 3-hydroxy-3-méthylglutarique-CoA (*HMG-CoA*). Puis la *HMG-CoA* réductase permet la production de l'acide mévalonique. Plusieurs étapes dont celle catalysée par la mévalonate kinase permettent l'obtention du lanostérol précurseur du cholestérol (**Figure 7**).

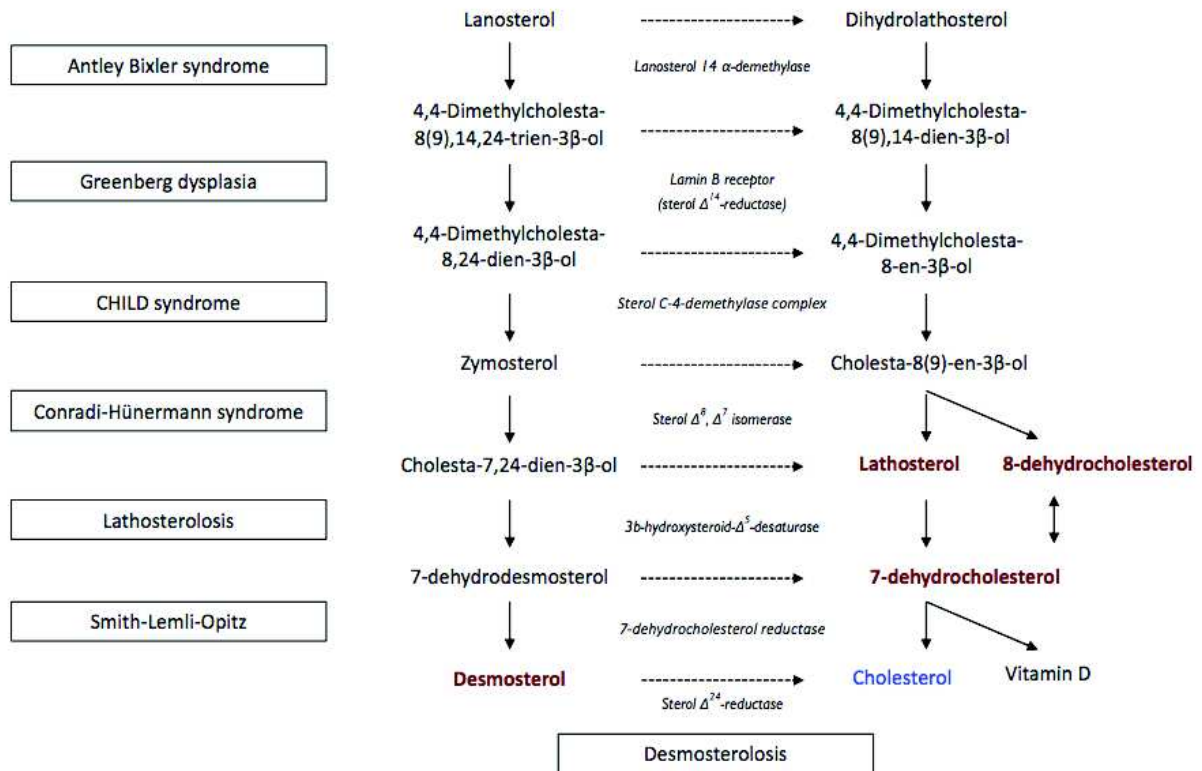


Figure 7. Métabolisme du cholestérol [16]

Les premières étapes de la biosynthèse du cholestérol allant de la formation du 3-méthyl-glutaryl-CoA au lanostérol ne sont pas décrites ici, mais celles allant du lanostérol au desmostérol, ainsi que les pathologies qui leur sont associées, sont schématisées ici.

Des anasarques ont été associées à 4 pathologies de la biosynthèse du cholestérol.

Le syndrome de Smith Lemli-Opitz⁸ est secondaire à un déficit en 7-déhydrocholestérol réductase qui provoque une augmentation de 7-déhydrocholestérol et du 8-déhydrocholestérol. Cette accumulation est tératogène et ce déficit enzymatique est associé à une diminution du cholestérol, molécule cruciale pour l'embryogenèse. Dans la littérature, il a été noté que les anasarques dans les SLO étaient toujours associées à des malformations cardiaques [26]. Le dosage de cholestérol et de 7 déhydrocholestérol peut se faire sur liquide amniotique, culture de villosités choriales ou d'amniocytes.

⁸ OMIM #270400 : DHCR7

La Dysplasie de Greenberg⁹ secondaire à un déficit en 3 β -hydroxystérol_14-Reductase [27]. Il n'y a eu que peu de cas de dysplasie de Greenberg, mais tous associés à une anasarque. Chitayat et al. précisent que l'anasarque serait liée à un excès d'érythropoïèse extra médullaire secondaire à une oblitération de la moelle qui peut faire partie de ces zones anormales de minéralisation. Cela causerait une anémie sévère qui, à son tour, entraînerait une anasarque [28].

La Chondrodysplasie punctata liée à l'X de type 2¹⁰ (CDPX2), appelé aussi syndrome de Conradi-Hünemann, secondaire à un déficit en enzyme stérol delta 8 delta 7 isomérase.

L'acidurie mévalonique¹¹ secondaire à un déficit de la mévalonate kinase.

Ces deux dernières n'ont pas d'explication claire dans la littérature sur le mécanisme qui conduit à l'anasarque, mais elles sont certainement liées au rôle du cholestérol dans les différentes étapes de l'embryogenèse.

LES AUTRES MHM NON CLASSABLES

Dans les maladies métaboliques non classables donnant une anasarque fœtale en anténatal on retrouve la glycogénose de type IV et le déficit en transaldolase.

LES GLYCOGÉNOSES

Les glycogénoses qui sont définies par une accumulation intracellulaire de glycogène de structure aussi bien normale qu'anormale, secondaire à un défaut de transport impliqué dans son métabolisme ou à un déficit enzymatique.

Le glycogène est la forme de réserve du glucose qui peut être utilisé rapidement. Il est retrouvé sous forme de granules dans le cytoplasme, essentiellement au niveau du foie (*réserve de glucose pour l'ensemble de l'organisme, et tissu important dans l'homéostasie du glucose*) et du muscle (*réserve musculaire glycolytique*).

⁹ OMIM #215140 : LBR

¹⁰ OMIM #302960 : EBP

¹¹ OMIM #610377 : MVK

Le glucose entre dans la cellule par le transporteur GLUT2 (*foie*) ou GLUT4 (*muscle*) et est transformé en Glucose-6-Phosphate (G6P), par une hexokinase (*muscle*) ou glucokinase (*foie*). Puis, le G6P emprunte la voie de la glycogénogenèse, après transformation en glucose-1-phosphate (G1P) par l'intermédiaire de l'enzyme phosphoglucomutase [29-31].

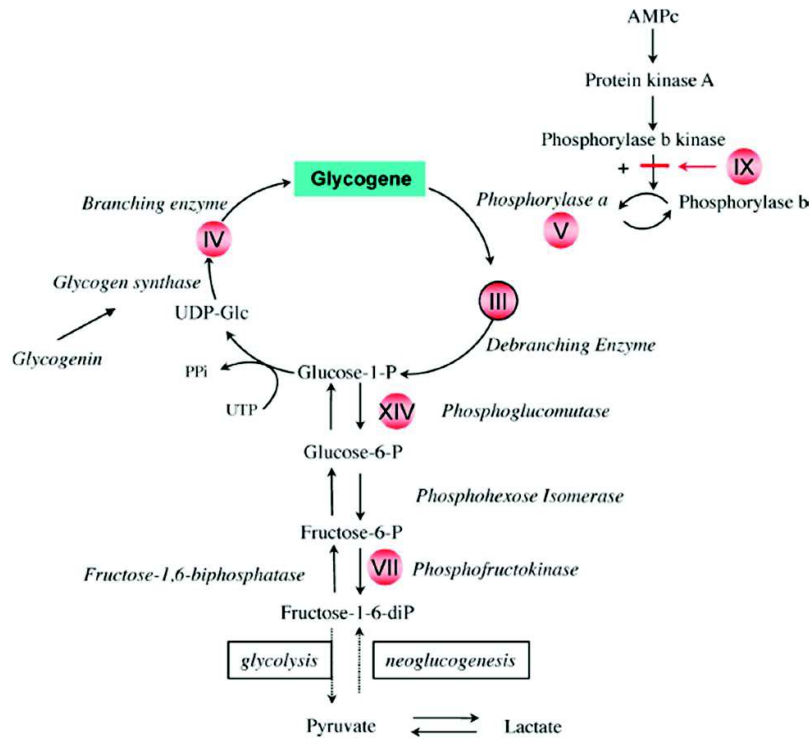


Figure 8. La Glycogénolyse et la glycolyse [29]

Ce schéma illustre la glycogénolyse de type IV (*déficit d'une enzyme branchante*) associée à une anasarque fœtale.

La glycogénogenèse : la protéine glycogénine amorce la synthèse du glycogène. A partir du G1P trois enzymes vont permettre la synthèse du glycogène : UDP-glucose-pyrophosphorylase (*catalyse la synthèse de l'UDP glucose à partir du G1P*), puis la glycogène synthase transfère le glucose de l'UDP glucose vers la chaîne de glycogène en cours de formation. Enfin, la ramification du glycogène se fait par l'intermédiaire de l'enzyme branchante (**Figure 8**).

La glycogénolyse : comme la glycogénogenèse, la glycogénolyse fait intervenir trois enzymes : la glycogène phosphorylase (*permet la formation de dextrine limitée*), l'enzyme débranchante (*scinde les points de ramification et permet la formation de G1P*). Enfin, la phosphoglucomutase permet la formation de G1P en G6P, qui peut rentrer directement dans la glycolyse hépatique ou musculaire.

La dernière enzyme qui permet de comprendre toutes les glycoséses est la maltase acide ou alpha glucosidase qui est l'enzyme lysosomale qui hydrolyse le glycogène en glucose. Quand cette enzyme est déficiente, elle donne une glycosésse de type II ou Maladie de Pompe.

La seule glycosésse, en dehors de la maladie de Pompe, pouvant donner une anasarque fœtale est la *glycosésse de type IV¹² appelée maladie d'Andersen*, secondaire à un déficit en enzyme branchante. Ce déficit provoque l'accumulation d'amylopectine (*possède moins de ramifications, mais une chaîne de glycogène plus longue*) dans le muscle squelettique, causant une arthrogrypose, un immobilisme fœtal. Ainsi le drainage lymphatique n'est plus efficace et cause l'anasarque fœtale [30, 31].

DÉFICIT EN TRANSALDOLASE¹³

La transaldolase est une enzyme de la partie non oxydante de la voie du pentose phosphate (PPP) qui fournit les précurseurs des lipides, acides aminés et nucléotides. Cette enzyme crée un lien réversible entre PPP et la glycolyse et permet la transformation de D-sedoheptulose-7-P et D-glyceraldéhyde-3-P en D-érythrose-4-P et D-fructose-6-P (*ce dernier permet de rentrer dans la glycolyse*) [32]. La physiopathologie du déficit en transaldolase reposerait sur l'accumulation de D-sedoheptulose-7-P et l'incapacité de former du Ribose-5-phosphate (**Figure 9**). Cette incapacité entraîne un épuisement entre autres du NADPH, qui provoquerait une anémie hémolytique (*sur le même schéma qu'un déficit en G6PD*), cette anémie serait à l'origine de l'anasarque dans cette pathologie [33, 34].

¹² OMIM #232500 : GBE

¹³ OMIM #606003 : TALDO1

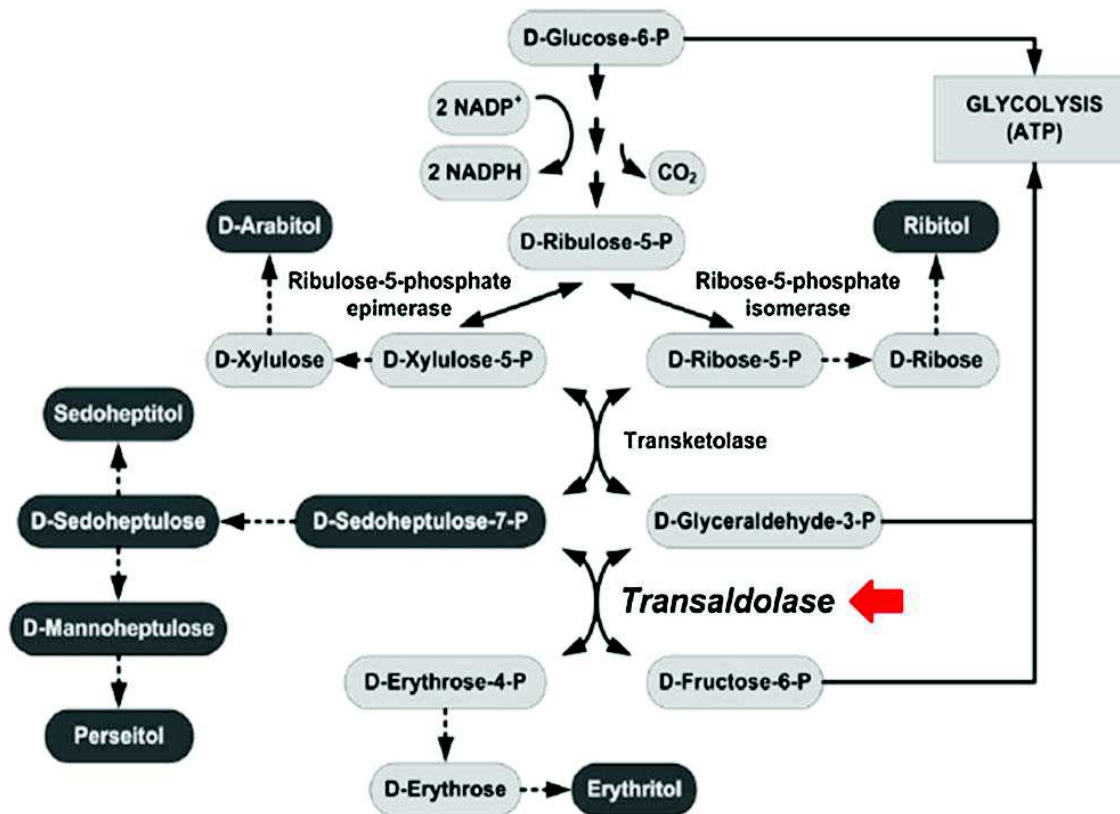


Figure 9. La voie des pentoses-phosphate [33]

Cette voie permet la génération du NADPH et du ribose. La transaldolase catalyse la seconde étape et permet le lien avec la glycolyse. Le déficit en transaldolase s'accompagne d'une augmentation du D-sedoheptulose-7-P.

PROTOCOLE DIAGNOSTIC EN CAS D'ANASARQUE FŒTALE

Au Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de ROUEN, lorsqu'une anasarque fœtale est retrouvée à l'échographie, elle est contrôlée et revue en équipe pluridisciplinaire anténatale.

Un protocole diagnostique (**Annexe I**) a été mis en place qui regroupe un bilan maternel (*recherche de pathologie virale, hématologique, ou encore une alloimmunisation*) et un bilan fœtal (*échographique pour permettre de visualiser les anomalies telles qu'une cardiomyopathie, atteinte rénale..., une amniocentèse avec ponction de liquide amniotique permet de réaliser le caryotype, les sérologies virales ainsi qu'un bilan biochimique de base avec la recherche des dix maladies lysosomales (Annexe II)*). Par ailleurs, des investigations spécifiques sont réalisées selon le contexte clinique (*maladies peroxysomales, métabolisme du cholestérol ...*).

DÉPISTAGE ANTÉNATAL DES MALADIES LYSOSOMALES

Dans une publication de 1995, 70 cas ont été étudiés présentant une anasarque fœtale ou des lymphocytes vacuolés retrouvés dans le sang fœtal [35]. Comme plusieurs publications démontraient que la fréquence des maladies de surcharges lysosomales représentaient 1 à 2%[36], les auteurs ont proposé de faire un bilan non exhaustif de 9 maladies de surcharge lysosomales qui étaient connues pour provoquer des anasarques fœtales en anténatal (*MPS VII, MPS IVA, sialidose de type II, galactosialidose, mucopolysaccharidose de type II surcharge en acide sialique libre, gangliosidose à GM1, maladie de Gaucher et maladie de Niemann-Pick AB*). Cette analyse, résumée dans le **Tableau 6**, se fait à partir du surnageant des liquides amniotiques et sur culture d'amniocytes.

Tableau 6 : Liste des analyses effectuées dans le bilan biochimique de base

<i>Analyses effectuées dans le bilan biochimique</i>	
Surnageant du liquide amniotique	Glycosaminoglycanes (GAG).
	Oligosaccharides *
	Acide sialique libre (<i>par chromatographie</i>)
	Enzymes lysosomales : Hexosaminidase A et totales, Beta glucuronidase, Alpha-L-ucosidase.
Sur culture d'amniocytes (3-5 semaines)	Bêta galactosidase
	Bêta glucosidase
	Bêta Mannosidase
	Alpha-D-neuraminidase
	Hexosaminidases A et Totales

* L'analyse des oligosaccharides par chromatographie sur couche mince a été supprimée du bilan au CHU de Rouen du fait des nombreux faux-négatifs et de son aspect qualitatif. Dix pathologies lysosomales sont recherchées (Maladie de Salla, Maladie de Gaucher, bêta mannosidose, sialidose, galactosialidose, gangliosidose à GM1, Maladie Tays-Sacks, maladie de Sandhoff, fucosidose, mucopolysaccharidose VII).

SÉQUENÇAGE HAUT DÉBIT OU NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS)

Le séquençage de l'ADN par la méthode de synthèse enzymatique de Sanger a longtemps été utilisé comme unique méthode pour séquencer le génome. Cependant, l'arrivée des séquenceurs de « *nouvelle* » génération a permis de s'affranchir d'un certain nombre de limites de la méthode Sanger notamment sa lenteur.

C'est grâce à la lecture de plusieurs millions de séquences simultanément que ces nouveaux séquenceurs à « *haut débit* » ou NGS ont pu révolutionner les analyses en génomique et le diagnostic moléculaire des maladies héréditaires. Il est ainsi possible d'analyser l'ensemble du génome humain « *Whole Genome Sequencing – WGS* » ou toutes les parties codantes « *Whole Exome Sequencing-WES* » ou encore des panels de gènes impliqués dans un contexte clinique particulier « *Panel NGS* ».

Plusieurs technologies NGS sont commercialisées dont le pyroséquençage, le séquençage par ligation et le séquençage avec des terminateurs réversibles [37].

OBJECTIF DE L'ÉTUDE

En 2014, le laboratoire de biochimie métabolique du CHU de Rouen dans le cadre de la Fédération de la Génétique Normande a mis en place un panel NGS pour analyser 51 gènes codant pour des maladies lysosomales : **LysoGene**.

Quatre « *sous panels* » avaient été définis : atteinte neurologique, atteinte osseuse organomégalie et Céroïdes Lipofuscinose.

Considérant la fréquence des maladies lysosomales dans les AFNI, un sous panel anasarque fœtale a été créé. Il est composé de 15 gènes, connus dans la littérature pour donner des anasarques anténataux (*GUSB, GBA, GLB1, NEU1, NPC1, NPC2, CTSA, SLC17A5, SMPD1, GALNS, GNPTAB, IDUA, LIPA, ASAH1, SUMF1*).

LysoGene ne permettait de rechercher que des maladies lysosomales et ne couvrait pas toutes les maladies héréditaires du métabolisme pouvant donner une anasarque fœtale.

L'expérience du laboratoire pour la prise en charge diagnostique de l'anasarque fœtale montrait que seule l'exploration d'un petit nombre de pathologies lysosomales était réalisée de façon systématique et un nombre limité de pathologies était recherché *a posteriori* selon le bilan échographique, des antécédents ou encore de l'examen anatomopathologique.

L'objectif de cette étude est de proposer un nouveau panel NGS regroupant les 41 pathologies métaboliques pouvant causer une anasarque fœtale anténatale, un épanchement liquidien ou un hydramnios et de montrer l'intérêt de réaliser en première intention une étude moléculaire par NGS puis de confirmer le cas échéant par une étude biochimique ciblée.

Cette approche globale permettrait d'être plus exhaustif et d'augmenter le nombre de cas diagnostiqués. L'examen biochimique de confirmation sera ciblé et non plus aléatoire. Ce changement de paradigme permettrait, ainsi, un gain de temps pour une meilleure prise en charge ainsi qu'un gain médico-économique (*réduction du temps technicien et de l'errance diagnostique*).

PATIENTS & MÉTHODES

NATURE DE L'ÉTUDE

Il s'agit d'une étude rétrospective, entre 2005 et 2017, de toutes les patientes ayant un dossier médical au CHU de Rouen, cherchant à évaluer l'intérêt du panel NGS par rapport au bilan biochimique de base pour toutes les patientes enceintes dont le fœtus est atteint d'une anasarque fœtale ou épanchement liquidien entre janvier 2005 et janvier 2017. En cas de décès in utéro ou en post-natal une autopsie est systématiquement proposée aux parents.

PATIENTS

Sont concernées les grossesses ayant été suivies ou ayant eu un examen au CHU de Rouen :

- Bilan d'anasarque ou épanchement ou hydramnios sur liquide amniotique (*analyse de 10 MLS*)
- Prélèvements adressés pour expertise anatomo-pathologique par les fœtopathologistes du CHU de Rouen
- Prise en charge médicale et/ou chirurgicale
- Avis du comité anténatal du CHU de Rouen.

LES CRITÈRES D'INCLUSIONS

Les critères d'inclusion dans l'étude étaient la présence d'une anasarque fœtale (*ou un épanchement liquidien fœtal à l'échographie ou un hydramnios*), l'existence d'un dossier clinique au CHU de Rouen (*soit dans le service de biochimie métabolique, soit en Gynécobstétrique ou encore en anatomo-pathologie*), et enfin l'étiologie de l'AFNI n'était pas connue (*y compris les malformations cardiaques non étiquetées*).

Le consentement génétique éclairé a été signé par toutes les patientes explorées par cette approche.

LES CRITÈRES D'EXCLUSIONS

Les critères d'exclusions retenus sont :

- Toutes les causes d'anasarque fœtale retrouvées (en dehors de maladies métaboliques) comme l'infection virale (CMV, Parvovirus B19, ...),
- Anomalie chromosomique (syndrome de Klinefelter, syndrome de Turner, Trisomie 21, ...)
- Les grossesses obtenues par don d'ovocyte ou de spermatozoïde (la ségrégation des allèles était impossible),
- Les liquides amniotiques reçus pour toute autre cause que l'anasarque
- Absence de prélèvement analysable.

Ces critères nous permettaient d'inclure des femmes pour lesquelles un bilan de première intention avait déjà été fait et de faire une analyse de seconde intention avec le séquençage de l'ADN fœtal sur panel AnaFoe.

PRÉSENTATION DES CAS

CAS N°1 : PATIENTE 20

Lors de l'examen échographique morphologique effectué au second trimestre, il a été constaté à 22 puis à 25 semaines d'aménorrhée une volumineuse ascite avec hépatomégalie modérée et placenta épais. L'enfant est né par césarienne en urgence pour stéatose aiguë gravidique maternelle avec insuffisance hépatocellulaire et rénale. Le décès est survenu à J5 de vie, soit à 26 semaines et 5 jours dans un contexte de défaillance multiviscérale. Le caryotype était normal et une maladie héréditaire du métabolisme a été évoquée.

CAS N°2 : PATIENTE 14

Découverte échographique au troisième trimestre d'une néphromégalie bilatérale avec hyperéchogénicité rénale et une bonne différenciation cortico-médullaire, chez une patiente de 35 ans à 31 SA, G₃P₂. Cette néphromégalie était accompagnée d'un hydramnios, le corps calleux était épais de manière isolée.

L'IRM foetale n'avait rien révélé de pathologique, l'échographie rénale post-natale a découvert des kystes rénaux médullaires et une hydronéphrose bilatérale fluctuante.

La naissance fut physiologique. L'enfant est suivi en néphropédiatrie régulièrement : elle a un développement psychomoteur normal et une croissance staturo-pondérale normale.

CAS N°3 : PATIENTE 4

Découverte échographique au troisième trimestre d'une mort foetale in utero avec un tableau d'anasarque sévère isolée (*épanchement péricardique massif, ascite, hydramnios, œdème généralisé, hydrothorax et placentomégalie*) chez une patiente de 25 ans. Aucune anomalie n'a été rapportée lors des deux premières échographies.

NEXT SEQUENCING GENERATION (NGS)

PRÉSENTATION ET MISE EN PLACE DU PANEL ANAFOE

Une liste de 41 gènes (**Annexe III**) associés à des maladies héréditaires du métabolisme pouvant donner une anasarque foetale a été établie grâce à une revue de la littérature [13,17,38], et de manière collégiale entre métaboliciens, pédiatres et foetopathologistes (*Dr Vassili VALAYANNOPOULOS, Pr. Stéphane MARRET et Pr. Annie LAQUERRIÈRE*).

La maladie de Pearson, pathologie secondaire à une grande délétion de l'ADN mitochondriale, a dû être retirée de la liste des gènes analysés dans cette étude, car l'étude moléculaire nécessite l'analyse de l'ADN mitochondriale, alors qu'AnaFoe ne regroupe que des gènes nucléaires.

Une fois la liste définitive terminée, le design des sondes du panel a été réalisé sur le site SureDesign d'Agilent en prenant comme région d'intérêt les exons, les jonctions intron/exons (+50 ; -50), et enfin la région promotrice 5'UTR.

Le design des sondes a été fait à partir des dernières versions des identifiants de la séquence de référence (NM_) retrouvée sur le site Human Gene Mutation Database (HGMD) et des paramètres détaillés dans le **Tableau 7**.

Tableau 7 : Paramètres du design des sondes

<i>Paramètre</i>	<i>Valeur</i>	<i>Justification</i>
Density	5x	Une profondeur 2X ne permet pas une lecture assez précise, certaines bases au milieu de l'exon peuvent être lues qu'une seule fois
Masking	Moderatly Stringence	Sauf certains exons qui étaient mal couverts à cause d'une zone répétée pour lesquels la zone d'intérêt a été prise en charge en complément en least stringence
Boosting	Max Performance	Offre une couverture supplémentaire en cas de séquences riche en GC (<i>si >35% il double les sondes si >65% il multiplie par 7 les sondes</i>)
Into Masked	20	

Une fois le panel vérifié à partir des fichiers *BED* fournis par le site d'Agilent sur le logiciel *Alamut*, le panel a pu être finalisé et commandé.

PRINCIPE DU SÉQUENÇAGE ILLUMINA

Chaque run d'AnaFoe s'effectue sur un séquenceur Illumina® : MiSeq (*permettant de passer jusqu'à 12 patients*), ou NextSeq 500 (*permettant de passer jusqu'à 96 patients*). La technologie de séquençage NGS par synthèse Illumina® est basée sur l'utilisation de nucléotides modifiés associée à un groupement terminateur réversible (*reversible terminator*).

Après extraction d'ADN par le kit QIAamp DNA Blood (*QIAgen*) sur des matériaux biologiques (*ici sang foetal ou liquide amniotique*), ce dernier est évalué quantitativement par spectrométrie (*Nanodrop*) pour vérifier que la concentration d'ADN. Puis quantitativement et qualitativement par fluorométrie sur le Twinkle avec un objectif de concentration d'ADN égale à 25ng/μL.

Après dosage de l'ADN, commence la préparation des bibliothèques correspondant à l'ensemble des fragments d'ADN à séquencer.

Une fragmentation est effectuée par méthode enzymatique afin d'obtenir plusieurs fragments d'environ 200 paires de bases.

À chaque extrémité de ces fragments, trois éléments sont insérés :

- Des amorces ou *primers* (permettent d'initier la réplication de l'ADN),
- Des index de chaque côté du fragment (permettant d'effectuer un démultiplexage après le séquençage, c'est à dire d'identifier l'ADN de chaque patient lors de l'analyse bioinformatique parmi les ADN de plusieurs patients mis dans le pool)
- Les adaptateurs en 3' et en 5' (appelés *p5* et *p7*) permettent de fixer les fragments à la surface de séquençage dite Flowcell (**Figure 10**).

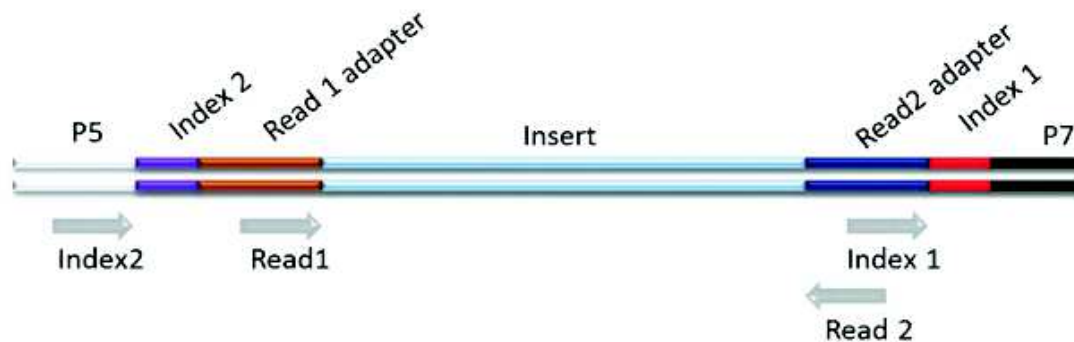


Figure 10. Fragment d'ADN avant séquençage par NGS
sont schématisés ici les primers, les index et les adaptateurs p5 et p7. (<https://www.illumina.com>)

Après une étape de dénaturation de l'ADN en simple brin a lieu une amplification par deux PCR de 8 cycles et 14 cycles. Une évaluation systématique de la concentration d'ADN est effectuée sur la TapeStation System. Une dernière étape de dosage et de préparation a lieu avant le séquençage.

La flowcell est une plaque de verre composée de micro-sillions tapissés de deux types d'amorces complémentaires des adaptateurs p5 et p7 (*présents sur les fragments*) et qui permettent ainsi leur fixation sur la surface.

Une fois hybridés les fragments sont amplifiés par PCR en pont (*bridge PCR*) en phase solide, qui permet la formation de groupe de fragments identiques ou *clusters*. La fluorescence des clusters est proportionnelle à leur taille et est un des éléments déterminant la qualité du run ?

Néanmoins si le nombre de clusters est trop important alors la fluorescence sature et le read sera donc de mauvaise qualité.

La technique de séquençage par synthèse consiste à utiliser des nucléotides (*A, C, G et T*) modifiés par l'ajout d'un fluorochrome (*différents pour chacun*) et d'un groupement terminateur réversible. À chaque cycle, un des nucléotides marqués est associé au fragment et, après un lavage qui élimine les nucléotides non intégrés, une image de la flowcell est prise afin de mesurer la fluorescence et permettre l'incorporation de la base. Le groupement terminateur et le fluorochrome du nucléotide inséré sont ensuite clivés enzymatiquement pour permettre un nouveau cycle de séquençage avec l'incorporation d'un autre nucléotide, et ainsi de suite afin de permettre la lecture de la séquence base par base de chaque cluster. Le processus est ensuite répété pour un séquençage depuis l'autre extrémité du fragment (*séquençage paired end*), ce qui facilitera l'alignement sur le génome de référence. Les erreurs liées aux séquences répétées et aux homopolymères sont ainsi évitées conférant une grande robustesse aux techniques Illumina.

La succession d'images correspondant à une lecture (*read*) est ensuite transférée sur des fichiers textes correspondants aux fichiers bruts de séquençage (*FASTA et FASTQ*).

Ce séquençage étant aléatoire au sein du pool d'ADN des patients, il est nécessaire, avant de poursuivre l'analyse de réaliser un démultiplexage. Cette étape consiste à regrouper ensemble les fichiers des reads ayant les mêmes index et appartenant donc à un même patient.

Il s'agit de la première étape de la partie bioinformatique détaillée ci-après : l'alignement.

Le principe de séquençage Illumina est résumé dans l'**Annexe IV**.

NEXTSEQ 500 ET SCICLONE

Les deux premières séries de validation de AnaFoe ont été analysées sur le MiSeq, automate utilisé régulièrement pour LysoGene (*dans sa version 1*) mis en place dans le laboratoire de Biochimie Métabolique.

La troisième série d'AnaFoe a été analysée sur le NextSeq 500, automate utilisant le même principe de séquençage que le MiSeq, mais permettant un débit d'analyse plus élevé : jusqu'à 96 patients par run.



Figure 11. NextSeq 500

Pour limiter le risque d'erreur liée aux techniques manuelles, la préparation des bibliothèques des 96 patients a été réalisée à l'aide de l'automate *Sciclone G3*. Cet automate permet de réaliser toutes les étapes de la préparation de la capture (*fragmentation, purification, amplification, hybridation, capture, ajout des index*). Seuls les dosages de la concentration de l'ADN ont été faits par groupe de 16 sur la TapeStation.



Figure 12. Sciclone G3

OUTIL BIOINFORMATIQUE À L'ANALYSE DES DONNÉES : CANDID ET CANOE

Compte-tenu de la masse de données générées par les analyses NGS, des outils bioinformatiques sont indispensables pour couvrir les différentes étapes du processus, depuis la préparation des librairies jusqu'à l'interprétation des variants identifiés. Les différentes étapes regroupent : la préparation de la librairie, la capture, et le suivi de la réaction de séquençage.

La lecture des bases ou « *base calling* » correspond à la construction de la séquence suivie par une étape de comparaison avec une séquence de référence, cette étape est appelée « *alignement* ».

L'étape suivante consiste à rechercher les variants, et à les annoter selon la nomenclature recommandée par la « *Human Genome Variant Society* ». La liste finale des variants sera utilisée pour l'interprétation biologique et clinique. La **Figure 13** présente le processus général d'un pipeline bioinformatique utilisé en NGS.

Pour l'analyse des variations nucléotidiques (*Single Nucleotide Variants - SNV*) deux pipelines bioinformatiques, CASAVA et BWA-GATK ont été utilisés ; alors que l'analyse des variations du nombre de copies d'une séquence donnée (*Copy Number Variants - CNV*) se fait à l'aide de l'algorithme CANOE [38].

L'annotation des variants est effectuée à l'aide du logiciel Alamut (*Interactive Biosoftware, Rouen, France*). La base de données CanDid [39], développée par les équipes des universités de Caen et de Rouen, a été utilisée pour la filtration et la priorisation des variants.

Les critères de filtration ont été définis comme suit : la fréquence du variant (inférieur à 1%), la région concernée par la mutation (*exonique, 5' UTR, jonction exon/intron*) et la nature du variant (*ClinVar Pathogenic*).

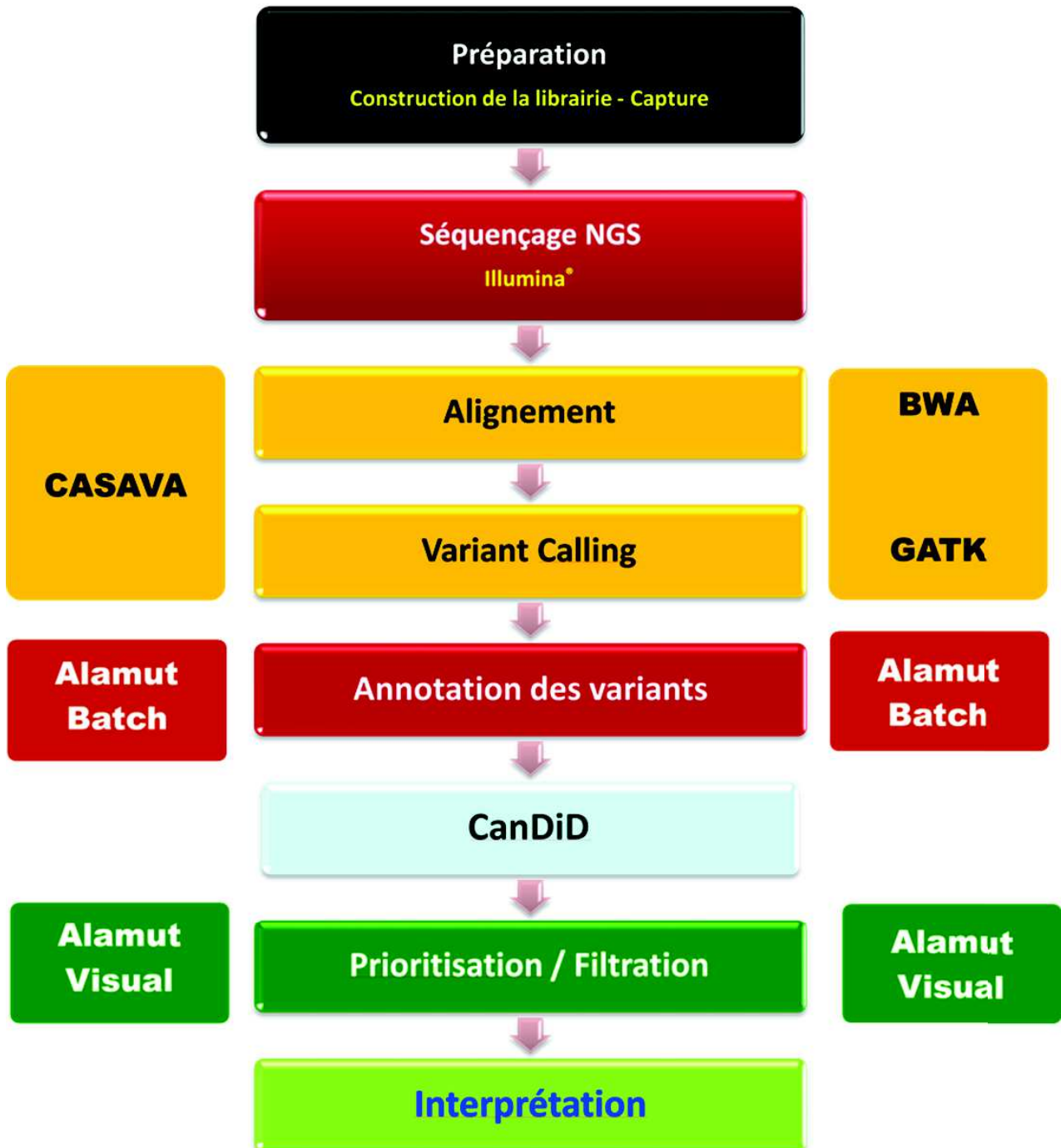


Figure 13. Pipeline bioinformatique pour l'analyse NGS

Pour l'analyse des SNV, deux pipelines bioinformatiques, CASAVA et BWA-GATK ont été utilisés. L'annotation des variants est faite à l'aide du logiciel Alamut (*Interactive Biosoftware, Rouen, France*). La base de données CanDiD est utilisée pour la filtration et la priorisation des variants. L'analyse des variations du nombre de copies d'une séquence donnée s'effectue à l'aide de l'algorithme CANOES.

RÉSULTATS

NOMBRES DE PATIENTES INCLUS

Parmi les 102 patientes identifiées dans cette étude, un diagnostic a été posé pour 27 d'entre elles et nous ne disposons pas de consentement génétique signé pour 38 patientes. Nous avons donc analysé 37 patientes par NGS.

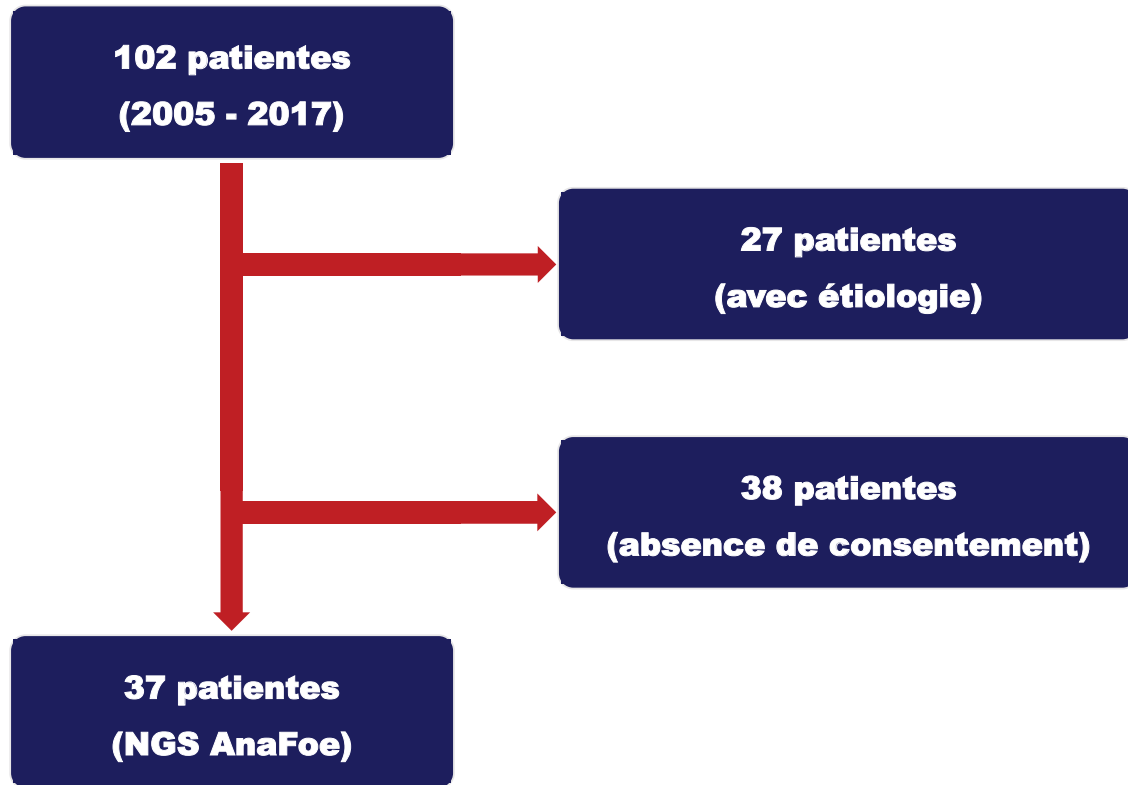


Figure 14. Schéma représentant les patientes incluses dans l'analyse NGS.

Sur les deux premiers runs de validation, 17 patientes dont le diagnostic d'anasarque d'origine métabolique avait déjà été posé, ont été passées pour valider notre panel.

Les ADN de trente-quatre patientes dont le diagnostic n'était pas connu ont été analysés sur le NextSeq 500.

Sont référencés dans l'**Annexe V** tous les résultats des différents runs.

VALIDATION DE MÉTHODE

VALIDATION DU PANEL LYSOV2

La validation de la méthode NGS pour la caractérisation des SNV a été réalisée selon les recommandations du Groupe Qualité et NGS - ANPGM (*Association Nationale des Praticiens en Génétique Moléculaire*).

Ce panel appelé **LysoV2** contenait à la fois les 51 gènes de maladies lysosomales qui étaient initialement dans LysoGene (*le premier panel NGS mis en place au laboratoire de Biochimie Métabolique de Rouen*), les 41 gènes d'AnaFoe (*dont 17 gènes codant pour des MLS*), plus quelques gènes qui étaient séquencés par la méthode Sanger au sein du laboratoire.

Deux runs sur MiSeq et un run sur NextSeq ont été analysés dans le cadre de cette validation de AnaFoe-LysoV2 (*deux par une série de 12 patients sur le MiSeq et une série de 90 patients sur le NextSeq*) et 17 patients pour lesquels un séquençage préalable avait permis d'identifier 30 variants pathogènes et 70 variants de signification inconnue ont été inclus.

CRITÈRES DE VALIDATION

Les critères de validation retenus sont listés dans le **Tableau 8** ci-dessous

Tableau 8 : Critères de validation de LysoV2

<i>Critères de performance</i>	<i>Méthode d'évaluation</i>	<i>Critères d'acceptabilité</i>
Design de la capture	In silico : vérification des régions cibles	Grande majorité des régions cibles doivent être capturées
Validation analytique	17 témoins positifs de validation	
Sensibilité et spécificité de détection des variations	Détection de 100 variations connues identifiées par Sanger	Concordance : 100%
Reproductibilité	1 témoin positif passé 3 fois Analyse des données de qualité de séquençage Comparaison des variations détectées	Données de qualité : variation de moins de 10% Variations détectées : concordance 100% entre les 6 passages
Robustesse	Analyse des données de qualité de séquençage issues d'ADN extraits par différentes méthodes à partir de différents tissus	Le % de bases avec une profondeur >30x ne doit pas différer de plus de 10% entre ces différentes conditions
Contamination entre échantillons	Analyse du nombre total de lectures sur un blanc (<i>sans ADN</i>)	Le nombre de lectures doit être <5 % du nombre de lectures obtenu avec un échantillon d'ADN
Stabilité des réactifs	Suivi du nombre total de variations détectées en moyenne par patient	Le nombre de variations détectées en moyenne par patient ne doit pas varier de + de 10%
Comparaison avec une méthode de référence	Analyse de 100 variations localisées dans les gènes de la capture LYSOGENE et identifiées par Sanger ou NGS	Concordance : 100%

CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN PRATIQUE QUOTIDIENNE

Les critères de performance utilisés pour l'évaluation de la qualité en pratique quotidienne sont listés ci-dessous dans le **Tableau 9**.

Tableau 9 : Critères de performances de LysoV2

<i>Critères de performance</i>	<i>Méthode d'évaluation</i>	<i>Critères d'acceptabilité</i>
Description et suivi des CIQ-1 Vérification de la performance du séquenceur	Suivi du nombre total de lectures générées en moyenne par patient	Le nombre de lectures générées en moyenne par patient ne doit pas varier de + de 10%
Description et suivi des CIQ-2 Vérification de la stabilité des réactifs	Suivi du nombre total de variations détectées en moyenne par patient	Le nombre de variations détectées en moyenne par patient ne doit pas varier de + de 10%
Description et suivi des CIQ-3 Vérification de l'absence de contamination inter-échantillons	Analyse des index antérieurs ou analyse de SNV homozygotes	Concordance : 100%
EEQ	Inscription à l'EEQ NGS de l'EMQN	

PATIENTES

CAS N°1 : PATIENTE 20

L'examen autopsique a permis de constater que les paramètres biométriques étaient compatibles avec un terme de 26-27 SA pour un terme théorique de 26 SA + 5 jours. Il a été noté une peau sèche, de coloration verdâtre, avec de nombreuses ecchymoses prédominantes dans la région abdominale qui était distendue (**Figure 15A**). L'examen interne a mis en évidence une splénomégalie ainsi qu'une hépatomégalie dont la surface est irrégulière, avec un début de nodulation et des lésions punctiformes blanchâtres (**Figure 15B**).

Lors de l'examen macroscopique complémentaire après fixation formolée, les poids du foie, et de la rate étaient augmentés par rapport aux valeurs attendues pour le terme (respectivement foie : 66,3 g pour un poids attendu à 40+/-11,75 g et rate : 5 g pour un poids attendu à 1, 4+/-0,6 g). En revanche, il a été retrouvé une hypoplasie thymique.

Histologiquement, le foie était le siège d'une fibrose disséquante en pont, des néo-canalicules biliaires dans les régions périportales et une perturbation de l'organisation des travées hépatocytaires formant des structures pseudo-acineuses, sans surcharge biliaire ni ferrique. Au sein des capillaires sinusoides, on notait la présence de cellules de Kupffer de grande taille, à cytoplasme d'aspect spumeux. Au niveau de la rate, des lésions semblables étaient observées, avec une surcharge massive d'éléments histiocyto-macrophagiques d'aspect clarifié (**Figure 15C**) contenant de fines granules PAS positives (**Figure 15D**). Les poumons présentaient des lésions de maladie des membranes hyalines. L'examen macroscopique et histologique de l'encéphale était normal avec des données biométriques conformes à l'âge de l'enfant.

Le NGS avec le panel AnaFoe a permis de mettre en évidence deux variants délétères dans le gène *NPC1*. Le premier variant, localisé dans l'exon 21 c.3182T>C (*p.Ile1061Thr*), est prédit comme étant délétère par les algorithmes SIFT, Mutation Taster et Polyphen. Par ailleurs, ce variant a été répertorié comme étant délétère dans les bases de données « Human Gene Mutation Database » et ClinVar, et a déjà donné lieu à une publication [40]. Le deuxième variant, retrouvé dans l'exon 6 c.724C>G (*p.Asp242His*) est prédit comme étant délétère par les algorithmes SIFT, Mutation Taster et Polyphen. Ce variant a été répertorié comme étant délétère dans la base de données « Human Gene Mutation Database » et a été publié [41].

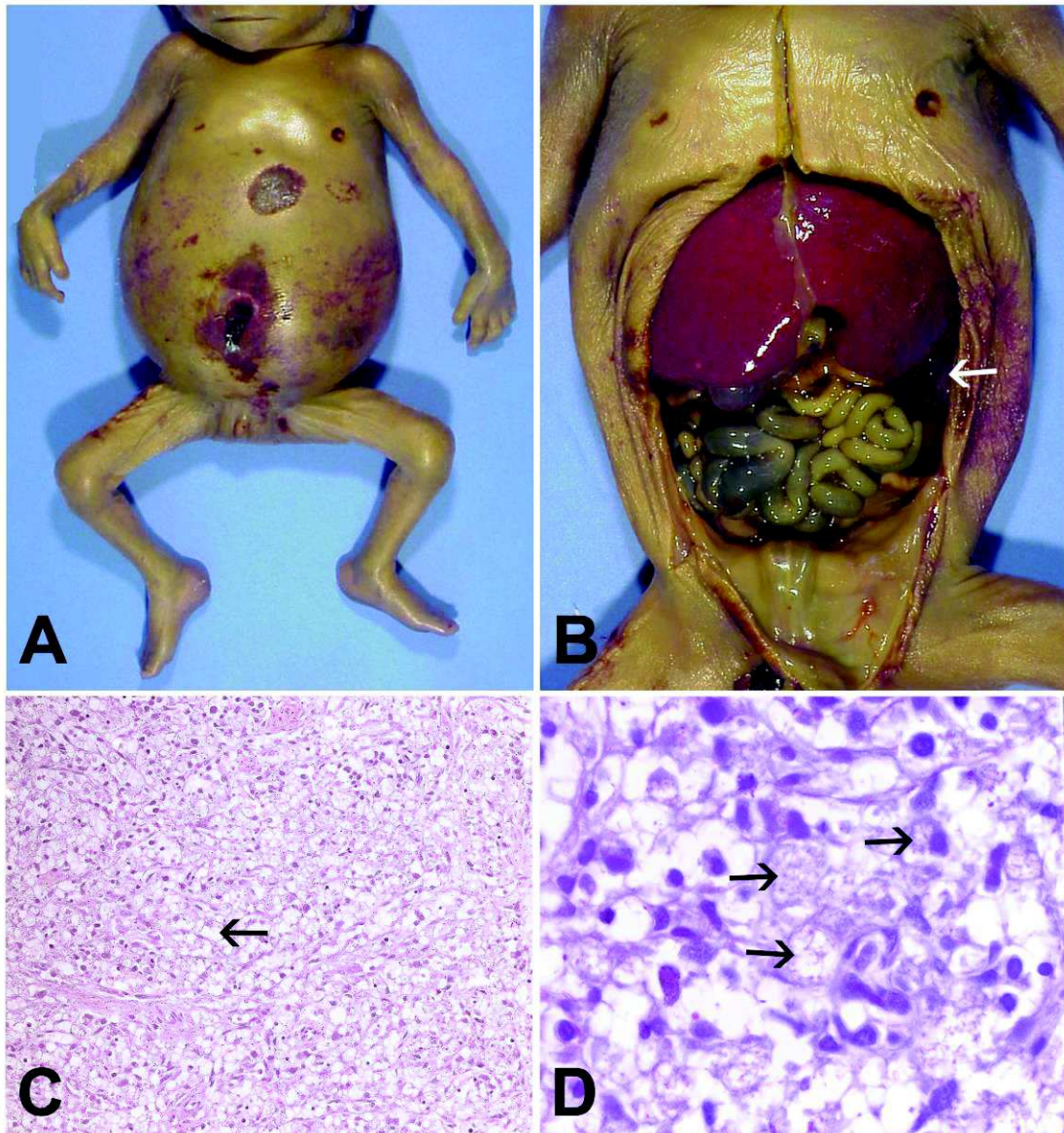


Figure 15. Examens macroscopique et histologique du fœtus

- A. Ictère diffus majeur et abdomen globuleux témoignant d'une volumineuse ascite.
- B. Lors de l'ouverture, volumineuse hépatomégalie, et splénomégalie (*flèche*).
- C. Histologie de la rate montrant une surcharge massive en éléments histiocytomacrophagiques d'aspect spumeux (*grandissement x 50*).
- D. A plus fort grossissement, ces éléments contiennent de multiples granulations PAS-positives (*flèches*) évocatrices d'une maladie de Niemann-Pick C (*grandissement x 400*).

CAS N°2 : PATIENTE 14

L'amniocentèse ne retrouve ni infection virale ni anomalies chromosomiques, et le bilan biochimique réalisé ne retrouve aucune maladie lysosomale recherchée.

L'analyse des SNV par le panel AnaFoe n'a pas permis de mettre en évidence de variant d'intérêt. Néanmoins, l'outil CANOES a permis la détection d'un CNV au niveau du gène *HNF1B* qui emporte tous les exons du gène. Cette délétion, répertoriée comme délétère dans la base de données « *Human Gene Mutation Database* » a été publiée et a été liée dernièrement à un polyhydramnios [42].

CAS N°3 : PATIENTE 4

Le caryotype, le bilan virologique étaient négatifs. Le bilan métabolique a permis d'objectiver des bandes surnuméraires de glycosaminoglycanes au niveau du kératane sulfate (?), de l'héparane sulfate et du dermatane sulfate (**Figure 16**) évoquant fortement une mucopolysaccharidose de type I ou II. L'étude enzymatique de l'alpha-L-iduronidase et de l'iduronate-2-sulfatase était strictement normale. Dans le doute la MPS VII a aussi été écartée par le dosage de l'activité enzymatique de la bêta-glucuronidase.

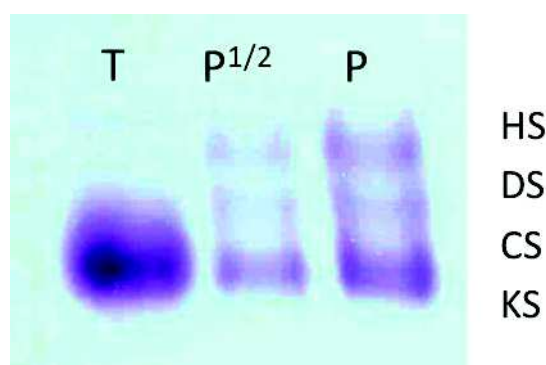


Figure 16. Analyse qualitative des GAG du liquide amniotique de la patiente n°4 par électrophorèse monodirectionnelle

(T) Témoin négatif (urine), (P^{1/2}) Liquide amniotique de la patiente dilué au 1/2, (P) Liquide amniotique de la patiente pur. KS : Kératane Sulfate, CS : Chondroïtine sulfate, DS : Dermatane Sulfate, HS : Héparane sulfate.

L'autopsie de l'enfant a révélé des mensurations osseuses $\leq -2DS$ aussi des os longs que les os des extrémités pieds et mains. L'ensellure nasale est très marquée avec une pointe du nez retroussé et des narines antéversées, ainsi que des signes d'anémie fœtale. Le placenta est hydropique, avec une thrombose organisée d'un vaisseau allantochorial témoignant d'une vasculopathie thrombotique fœtale. L'histologie était difficile à interpréter du fait de la macération du fœtus.

Le NGS avec le panel AnaFoe a permis de mettre en évidence un variant délétère dans le gène *GALNS*. Localisé dans l'exon 5 c.499T>G (*p.Phe167Val*), il est prédit comme délétère par les algorithmes SIFT, Mutation Taster et Polyphen. Par ailleurs, ce variant a été répertorié comme mutation délétère dans les bases de données « *Human Gene Mutation Database* » et ClinVar, et a déjà donné lieu à publication [43]. Enfin, deux autres variants de signification inconnue ont été retrouvés : c.244+298T>C (*p. ?*) et c.*2164C>T (*p.=*), non répertoriés dans la base de données « *Human Gene Mutation Database* » et n'ont pas été retrouvés dans la littérature. Le dosage de l'enzyme Nacétylgalactosamine-6-sulfatase est en cours.

DISCUSSION

APPORT DU NGS DANS LE DIAGNOSTIC ÉTIOLOGIQUE DE L'ANASARQUE FŒTALE

EXEMPLES DE DOSSIER CLINIQUE

CAS N°1 : PATIENTE 20

La maladie de Niemann-Pick C est une maladie lysosomale de surcharge lipidique neuroviscérale caractérisée par un transport intracellulaire anormal du cholestérol endogène, entraînant une accumulation de cholestérol et de lipides non estérifiés dans le système endosome/lysosome. C'est une pathologie de transmission autosomique récessive causée par des mutations dans *NPC1* ou *NPC2*. Elle peut aussi bien s'exprimer en période anténatale qu'à l'âge adulte [44].

Le diagnostic biologique peut se faire par un test à la Filipine (*peu réalisé en pratique actuellement*), les oxystérols, ou plus récemment le LysoSM-509 sont les biomarqueurs dosés pour confirmer le diagnostic. La confirmation moléculaire est apportée par le séquençage de *NPC1* et *NPC2* [45].

En pratique, la recherche anténatale de la maladie de Niemann-Pick de type C n'est pas faite en l'absence de signes cliniques ou d'antécédents familiaux.

Dans une revue de la littérature des cas de NPC prénatals, des antécédents familiaux et une ascite ont été retrouvés dans la plupart des cas (12/15), associés ou non à une hépatomégalie (7/15), une splénomégalie (9/15), ou une placentomégalie (5/15), et plus rarement à une anasarque fœtale, une anomalie rectale, une anémie fœtale ou encore des intestins hyperéchogènes. En post-natal, sur les 12 grossesses poursuivies en dehors des signes précédemment retrouvés à l'échographie, il pouvait exister une insuffisance respiratoire (5/12), une atteinte neurologique (3/12), et généralement suivi d'un décès par insuffisance hépatique ou défaillance multiviscérale (9/12). Histologiquement des cellules de surcharge ou vacuolées sont retrouvées chez 8 patients sur 15, l'étude du placenta met en évidence des lésions de thrombose intervillieuse extensive, et des cellules spumeuses dans le stroma villositaire et enfin une hématopoïèse extra médullaire importante [44, 46-51].

L'examen histologique était en faveur d'une maladie héréditaire du métabolisme et à la lumière des résultats moléculaires, les lames ont été revues, et des vacuoles ont été objectivées au niveau de la rate notamment (**Figure 15**). La confirmation de ce diagnostic est en cours par ségrégation allélique et par le dosage des oxystérols sur le sang de l'enfant.

Il est intéressant d'observer « *l'effet miroir* » de la NPC sur la maman. En effet, la césarienne en urgence a été demandée sur la cholestase gravidique sévère associée à une insuffisance hépatique et une insuffisance rénale. Elle a été régulièrement décrite dans les LCHAD [52], pathologie de la bêta oxydation, une fois dans un CDG Ia, mais jamais dans une NPC [53].

CAS N°2 : PATIENTE N°14

HNF1B est un gène qui code pour un facteur de transcription impliqué dans le développement embryonnaire de nombreux organes comme l'intestin, le pancréas, le foie, les poumons ou bien le rein et les organes génitaux. Ce rôle peut expliquer les atteintes cliniques comme l'utérus bicorne, les kystes rénaux ou encore le diabète MODY [42].

En période anténatale, c'est principalement l'atteinte rénale (*hyperéchogénicité rénale isolée ou associée à une néphromégalie*) qui prévaut et peut être associée à un polyhydramnios.

Dans une revue de la littérature récente, l'anomalie du gène *HNF1B* associée à une découverte anténatale [42], correspond à la délétion d'une copie du gène dans 6 cas sur 7. Cette délétion est de novo dans 5 cas sur 7. Cette pathologie est de transmission autosomique dominante.

HNF1B ne faisait pas partie de la liste de 41 pathologies métaboliques causant des anasarques foetales retenues pour notre étude, mais faisait partie du panel LysoGeneV2 dans un sous-panel néphropathies. Pour des raisons économiques et d'organisation, tous les sous-panels ont été regroupés dans un seul et même panel tel que défini dans Patients & Méthodes. L'analyse de ce gène a donc été faite a posteriori du fait de l'association de l'hydramnios et de l'atteinte rénale.

CAS N°3 : PATIENTE 14

Maladie de Morquio ou Mucopolysaccharidose (*MPS*) de type IVA est une maladie lysosomale causée par un déficit en Nacétylgalactosamine-6-sulfatase qui entraîne une accumulation

tissulaire et urinaire de glycosaminoglycanes, et particulièrement de la chondroïtine sulfate et du kératane sulfate. Son diagnostic prénatal est aisé, car le dosage de l'activité enzymatique peut se faire sur liquide amniotique ou même des villosités chorales [54].

La MPS IVA peut donner des tableaux anténataux sévères associant une anasarque foetale, une atteinte hépatique, osseuse voir neurologique. Le placenta aussi peut être pathologique et contenir des cellules de Hofbauer. Histologiquement, il est possible de voir des inclusions intracytoplasmiques dans les cellules de Kupffer [55].

La synthèse diagnostique de ce dossier est difficile : la concentration en GAG étant très forte, il est très difficile de les différencier, et le kératane sulfate peut-être confondu avec la chondroïtine sulfate. De plus, la macération a rendu l'autopsie difficile et l'histologie n'est malheureusement pas spécifique. Étant donné ce résultat, les autres gènes codant pour une MPS ont été analysés, mais aucun autre variant n'a été mis en évidence. Pour nous permettre de confirmer ou d'infirmer le diagnostic de manière certaine, des fibroblastes ont été envoyés au CHU de Purpan à Toulouse pour le dosage de l'activité enzymatique.

PROPOSITION D'UNE NOUVELLE PRISE EN CHARGE DIAGNOSTIC

Comme il a été vu précédemment, au CHU de Rouen, toute anasarque foetale donne lieu un bilan viral et chromosomique puis métabolique regroupant la recherche de 10 maladies lysosomales

Ce bilan a plusieurs inconvénients. Cette approche réductionniste fait appel à plusieurs méthodes d'analyses avec des temps techniques longs et un rendement diagnostique très faible.

En effet, les différentes techniques nécessitent plusieurs jours pour leur exécution. Plusieurs analyses sont réalisées sur le surnageant (*GAG 5 jours, oligosaccharides 2.5 jours, acide sialique libre 1 journée, activités enzymatiques 1 à 2 jours*). La culture des amniocytes nécessite 3 à 5 semaines et est suivie de dosage enzymatique sur cellules amniotiques. Le bilan biochimique de base nécessite au moins 6 à 8 semaines.

De plus, le bilan biochimique de base n'explore que dix maladies lysosomales et de ce fait le rendement diagnostique est très faible. Pour exemple, le diagnostic biochimique de la maladie de Niemann-Pick C, posé par un test à la Filipine (*aujourd'hui dosage des oxystérols ou le LysoSM509*), sur du sang fœtal ou sur une culture de cellules fœtales issue d'un liquide d'ascite fœtal, n'est pas inclus *a priori* dans le bilan biochimique de base. Dans l'article de Piraud et al [35], les auteurs proposent d'intégrer *a posteriori* la recherche de Niemann-Pick C dans leur future prise en charge.

Comme tout examen biologique, le bilan biochimique de base est soumis à plusieurs risques liés aux étapes pré-, post- et analytique.

Au niveau pré analytique, l'approche biochimique nécessite un volume important de liquide amniotique (15ml). La stabilité des enzymes est hétérogène (*ex Alpha-D-neuraminidase est sensible à la congélation et son activité doit être dosée extemporanément*). Les conditions de prélèvements (*saignement, méconium, bilirubine, fœtus macérés...*) et les délais d'acheminement des échantillons biologiques doivent être considérés avec soin compte-tenu de leurs effets sur les résultats analytiques.

Les GAG n'ont de valeur diagnostique qu'à partir de 16 SA tout comme les oligosaccharides et leur interprétation demeure très difficile.

Le dosage des GAG présente des difficultés analytiques entravant l'interprétation biologique : nombreux faux positifs retrouvés nécessitant des dosages enzymatiques supplémentaires infirmant l'hypothèse diagnostique. Ceci est un surcoût non nécessaire.

L'analyse des oligosaccharides par chromatographie sur couche mince est soumise à de nombreux faux positifs et faux négatifs et son interprétation reste suggestive. Le dosage des activités enzymatiques est lourd et ne peut être exhaustif.

La validation biologique nécessite de connaître le contexte clinique et les traitements reçus par la maman (*les traitements anticoagulants de type héparine administrés parfois aux mamans pendant leur grossesse peuvent donner une bande d'héparane sulfate et ainsi aboutir à une fausse orientation vers une mucopolysaccharidose de type III*).

Ce nouveau paradigme de prise en charge diagnostique (**Figure 17**) aurait pour but de remplacer le bilan des dix pathologies lysosomales par le séquençage de 41 gènes codant pour des maladies métaboliques, après le bilan échographique, viral et génétique permettant ainsi d'optimiser l'indication de NGS. Utiliser le panel AnaFoe permet de gagner du temps. En effet, le laboratoire de Biochimie Métabolique passe un run MiSeq tous les mois permettant un délai de rendu de résultat de 4-5 semaines.

La cotation à la nomenclature du NGS est de 8170 RIHN soit 2 205,90€ auquel il faut ajouter le coût de confirmation (*ségrégation allélique et test biochimique*) lorsqu'un variant délétère homozygote ou deux variants délétères hétérozygotes. Le coût du NGS reste à évaluer en regard de son rendement diagnostique.

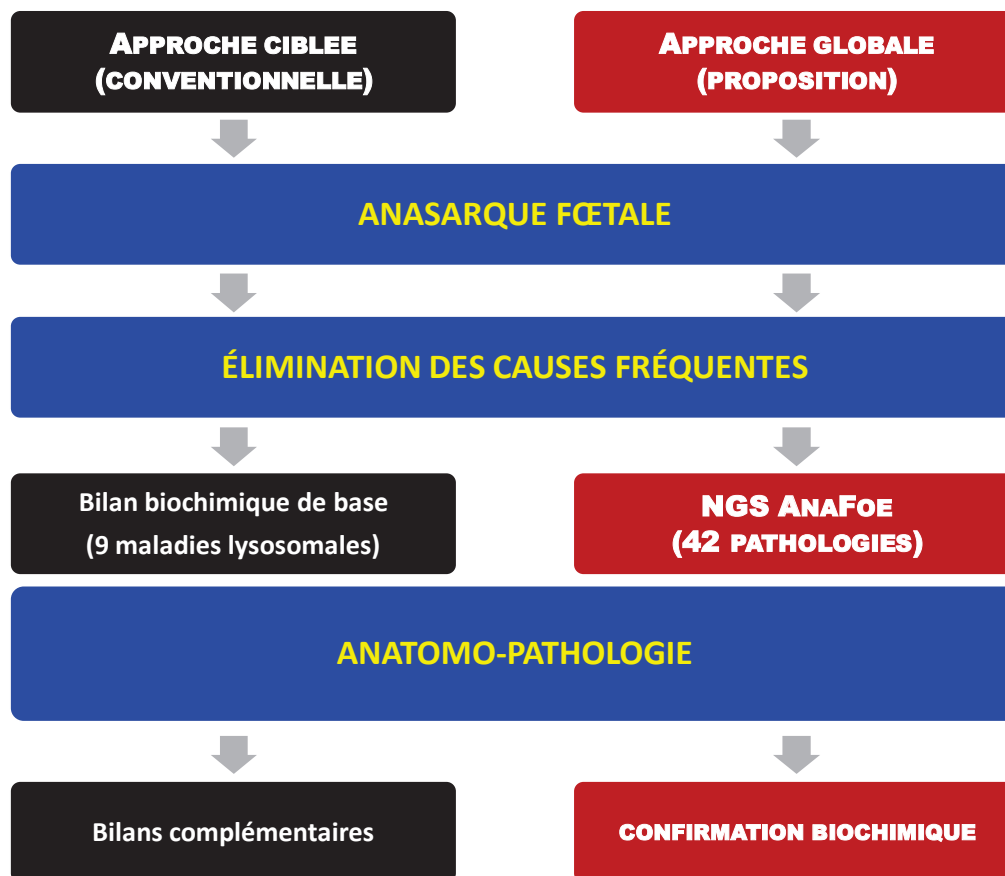


Figure 17. Prise en charge diagnostique de l'anasarque fœtale.

Un changement de paradigme pour la prise en charge diagnostique des AFNI est proposé qui consiste à faire une analyse par NGS en première intention et de confirmer le diagnostic le cas échéant par une approche biochimique. La prise en charge actuelle ne concerne qu'un nombre limité de pathologies et nécessite plusieurs techniques.

CONCLUSION

Les maladies de surcharge lysosomales représenteraient 1-2% des anasarques fœtales non immunes [24], 25 à 50% des anasarques restent inexplicables malgré le bilan biochimique de base.

Les MHM sont largement sous diagnostiquées dans les AFNI. Bellini a relevé que le pourcentage de MHM dans 13 études allait de 1 à 18%. Un pour cent est une proportion largement sous-estimée alors que la proportion de 18% pourrait être liée à un effet centre [56]. En effet, les cas illustrés dans ce travail montrent que le bilan biochimique de base n'est pas exhaustif et conduit à un sous-diagnostic. Le panel AnaFoe présente un réel avantage en termes d'exhaustivité, de gain de temps et de fiabilité par rapport au bilan biochimique de base.

Néanmoins, le panel AnaFoe mériterait d'être complété et d'autres pathologies pourraient y être incluses. Une collaboration avec pédiatres, obstétriciens, anatomo-pathologistes, et généticiens est nécessaire pour élaborer un panel incluant des pathologies génétiques métaboliques ou non. Pour exemple, tous les CDG pourraient être susceptibles de provoquer une anasarque [24], tout comme les pathologies du métabolisme du cholestérol [16]. En extrapolant et au vu des causes physiopathologiques retrouvées régulièrement dans les anasarques fœtales et les maladies héréditaires du métabolisme, il serait intéressant de discuter l'ajout de toutes les pathologies métaboliques pouvant causer des atteintes cardiaques, hépatiques, rénales, des chylothorax en période anténatale voir inclure toutes pathologies de surcharge à risque d'envahir la moelle osseuse et entraîner une anémie fœtale.

Des antécédents familiaux de maladie héréditaire du métabolisme ou encore des récurrences d'anasarque au sein d'une même famille doivent faire poser la question d'une cause métabolique à une anasarque fœtale et devraient faire discuter l'analyse par un panel AnaFoe.

Les nouvelles technologies avancées de type métabolomique basées notamment sur la spectrométrie de masse de haute résolution permettent une analyse globale de plusieurs métabolites simultanément et une analyse intégrée des données obtenues par le NGS et la métabolomique pourrait permettre une orientation diagnostique rapide [57].

BIBLIOGRAPHIE

1. Urbaniak, S.J. and M.A. Greiss, *RhD haemolytic disease of the fetus and the newborn*. Blood Reviews, 2000. **14**(1): p. 44-61.
2. Peck, H.A. and J.J. Clemmer, *Congenital hydrops fetalis (Schridde type)*. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1937. **33**(3): p. 488-494.
3. Hofmann, D. and H.J. Holländer, *[Intrauterine diagnosis of hydrops fetus universalis using ultrasound]*. Zentralblatt Fur Gynakologie, 1968. **90**(19): p. 667-669.
4. Bellini, C. and R.C. Hennekam, *Non-immune hydrops fetalis: a short review of etiology and pathophysiology*. Am J Med Genet A, 2012. **158a**(3): p. 597-605.
5. Ismail, K.M., et al., *Etiology and outcome of hydrops fetalis*. The Journal of Maternal-Fetal Medicine, 2001. **10**(3): p. 175-181.
6. Bellini, C., et al., *Etiology of nonimmune hydrops fetalis: a systematic review*. Am J Med Genet A, 2009. **149a**(5): p. 844-51.
7. Vernon, H.J., *Inborn Errors of Metabolism: Advances in Diagnosis and Therapy*. JAMA Pediatr, 2015. **169**(8): p. 778-82.
8. Baruteau, J., et al., *Nouveaux concepts dans l'hémochromatose périnatale*. Archives de Pédiatrie, 2012. **19**(7): p. 755-761.
9. Spodenkiewicz, M., et al., *Minireview on Glutamine Synthetase Deficiency, an Ultra-Rare Inborn Error of Amino Acid Biosynthesis*. Biology, 2016. **5**(4).
10. Steward, C.G., et al., *Barth syndrome: an X-linked cause of fetal cardiomyopathy and stillbirth*. Prenatal Diagnosis, 2010. **30**(10): p. 970-976.
11. Manning, N.J., et al., *Fumarate hydratase deficiency: increased fumaric acid in amniotic fluid of two affected pregnancies*. Journal of Inherited Metabolic Disease, 2000. **23**(7): p. 757-759.
12. Zschocke, J. and G.F. Hoffmann, *Vademecum metabolicum: manuel de pédiatrie métabolique*. 2005: Schattauer Verlag. 188.
13. El-Hattab, A.W. and F. Scaglia, *Disorders of carnitine biosynthesis and transport*. Mol Genet Metab, 2015. **116**(3): p. 107-12.
14. Li, C.H., et al., *Pearson's syndrome: a rare cause of non-immune hydrops fetalis*. Chinese Medical Journal, 2003. **116**(12): p. 1952-1954.
15. Astudillo, L., et al., *[Hereditary peroxisomal diseases]*. Presse Med, 2016. **45**(3): p. 302-12.
16. Vianey-Saban, C., et al., *Antenatal manifestations of inborn errors of metabolism: biological diagnosis*. Journal of Inherited Metabolic Disease, 2016. **39**(5): p. 611-624.
17. Dursun, A., et al., *Zellweger syndrome with unusual findings: non-immune hydrops fetalis, dermal erythropoiesis and hypoplastic toe nails*. Journal of Inherited Metabolic Disease, 2009. **32**(S1): p. 345-348.
18. Coutinho, M.F. and S. Alves, *From rare to common and back again: 60years of lysosomal dysfunction*. Molecular Genetics and Metabolism, 2016. **117**(2): p. 53-65.
19. de Duve, C., *The lysosome turns fifty*. Nature Cell Biology, 2005. **7**(9): p. 847-849.
20. Parenti, G., G. Andria, and A. Ballabio, *Lysosomal storage diseases: from pathophysiology to therapy*. Annual Review of Medicine, 2015. **66**: p. 471-486.
21. Ballabio, A. and V. Gieselmann, *Lysosomal disorders: from storage to cellular damage*. Biochimica Et Biophysica Acta, 2009. **1793**(4): p. 684-696.

22. Kooper, A.J.A., et al., *Lysosomal storage diseases in non-immune hydrops fetalis pregnancies*. Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry, 2006. **371**(1-2): p. 176-182.
23. Dupré, T., et al., *Les anomalies congénitales de glycosylation des N-glycosylprotéines*. médecine/sciences, 2004. **20**(3): p. 331-338.
24. Léticée, N., et al., *Should PMM2-deficiency (CDG Ia) be searched in every case of unexplained hydrops fetalis?* Molecular Genetics and Metabolism, 2010. **101**(2-3): p. 253-257.
25. van de Kamp, J.M., et al., *Congenital disorder of glycosylation type Ia presenting with hydrops fetalis*. Journal of Medical Genetics, 2007. **44**(4): p. 277-280.
26. Maymon, R., R.F. Ogle, and L.S. Chitty, *Smith–Lemli–Opitz syndrome presenting with persisting nuchal oedema and non-immune hydrops*. Prenatal Diagnosis, 1999. **19**(2): p. 105-107.
27. Greenberg, C.R., et al., *A new autosomal recessive lethal chondrodystrophy with congenital hydrops*. American Journal of Medical Genetics, 1988. **29**(3): p. 623-632.
28. Chitayat, D., et al., *Hydrops-ectopic calcification—moth-eaten skeletal dysplasia (Greenberg dysplasia): Prenatal diagnosis and further delineation of a rare genetic disorder*. American Journal of Medical Genetics Part A, 1993. **47**(2): p. 272-277.
29. Laforet, P., *What have we learned about glycogenesis in recent years?* Rev Neurol (Paris), 2016. **172**(10): p. 541-545.
30. Cox, P.M., et al., *Early-onset fetal hydrops and muscle degeneration in siblings due to a novel variant of type IV glycogenesis*. Am J Med Genet, 1999. **86**(2): p. 187-93.
31. Magoulas, P.L. and A.W. El-Hattab, *Glycogen Storage Disease Type IV*, in *GeneReviews(R)*, R.A. Pagon, et al., Editors. 1993, University of Washington, Seattle
- University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.: Seattle (WA).
32. Ramos-Martinez, J.I., *The regulation of the pentose phosphate pathway: Remember Krebs*. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2017. **614**: p. 50-52.
33. Al-Shamsi, A.M., et al., *Transaldolase deficiency caused by the homozygous p.R192C mutation of the TALDO1 gene in four Emirati patients with considerable phenotypic variability*. European Journal of Pediatrics, 2015. **174**(5): p. 661-668.
34. Valayannopoulos, V., et al., *Transaldolase deficiency: A new cause of hydrops fetalis and neonatal multi-organ disease*. The Journal of Pediatrics, 2006. **149**(5): p. 713-717.
35. Piraud, M., et al., *Amniotic fluid for screening of lysosomal storage diseases presenting in utero (mainly as non-immune hydrops fetalis)*. Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry, 1996. **248**(2): p. 143-155.
36. Machin, G.A., *Hydrops revisited: literature review of 1,414 cases published in the 1980s*. American Journal of Medical Genetics, 1989. **34**(3): p. 366-390.
37. Goodwin, S., J.D. McPherson, and W.R. McCombie, *Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies*. Nature Reviews. Genetics, 2016. **17**(6): p. 333-351.
38. Backenroth, D., et al., *CANOES: detecting rare copy number variants from whole exome sequencing data*. Nucleic Acids Research, 2014. **42**(12): p. e97.
39. Muller, E., et al., *Genetic profiles of cervical tumors by high-throughput sequencing for personalized medical care*. Cancer Medicine, 2015. **4**(10): p. 1484-1493.
40. Yamamoto, T., et al., *NPC1 gene mutations in Japanese patients with Niemann-Pick disease type C*. Human Genetics, 1999. **105**(1-2): p. 10-16.

41. Millat, G., et al., *Niemann-Pick C1 disease: correlations between NPC1 mutations, levels of NPC1 protein, and phenotypes emphasize the functional significance of the putative sterol-sensing domain and of the cysteine-rich luminal loop*. American Journal of Human Genetics, 2001. **68**(6): p. 1373-1385.
42. Gondra, L., et al., *Hyperechogenic kidneys and polyhydramnios associated with HNF1B gene mutation*. Pediatric Nephrology (Berlin, Germany), 2016. **31**(10): p. 1705-1708.
43. Tomatsu, S., et al., *Mutation and polymorphism spectrum of the GALNS gene in mucopolysaccharidosis IVA (Morquio A)*. Human Mutation, 2005. **26**(6): p. 500-512.
44. Colin, E., et al., *In Utero Diagnosis of Niemann-Pick Type C in the Absence of Family History*. JIMD Rep, 2016. **28**: p. 105-110.
45. Polo, G., et al., *Diagnosis of sphingolipidoses: a new simultaneous measurement of lysosphingolipids by LC-MS/MS*. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2017. **55**(3): p. 403-414.
46. Baumkötter, J. and et al., *Fetal ascites: a rare presentation of Niemann-Pick disease type C*. 1990. **21**(2): p. 118.
47. Maconochie, I.K., et al., *Fetal ascites: an unusual presentation of Niemann-Pick disease type C*. Archives of Disease in Childhood, 1989. **64**(10 Spec No): p. 1391-1393.
48. Moreno, R., et al., *Prenatal revelation of Niemann-Pick disease type C in siblings*. Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992), 2008. **97**(8): p. 1136-1139.
49. Spiegel, R., et al., *The clinical spectrum of fetal Niemann-Pick type C*. American Journal of Medical Genetics. Part A, 2009. **149A**(3): p. 446-450.
50. Surmeli-Onay, O., et al., *Prenatal-Onset Niemann-Pick Type C Disease with Nonimmune Hydrops Fetalis*. Pediatrics & Neonatology, 2013. **54**(5): p. 344-347.
51. Vanier, M.T., *Prenatal diagnosis of Niemann-Pick diseases types A, B and C*. Prenatal Diagnosis, 2002. **22**(7): p. 630-632.
52. Bellig, L.L., *Maternal acute fatty liver of pregnancy and the associated risk for long-chain 3-hydroxyacyl-coenzyme a dehydrogenase (LCHAD) deficiency in infants*. Advances in Neonatal Care: Official Journal of the National Association of Neonatal Nurses, 2004. **4**(1): p. 26-32.
53. Braun, T., et al., *Mirror syndrome: a systematic review of fetal associated conditions, maternal presentation and perinatal outcome*. Fetal Diagnosis and Therapy, 2010. **27**(4): p. 191-203.
54. Zhao, H., et al., *Prenatal diagnosis of Morquio disease type A using a simple fluorometric enzyme assay*. Prenatal Diagnosis, 1990. **10**(2): p. 85-91.
55. Beck, M., et al., *Fetal presentation of Morquio disease type A*. Prenatal Diagnosis, 1992. **12**(12): p. 1019-1029.
56. Bellini, C., *Nonimmune hydrops fetalis and lysosomal storage diseases*. Pediatr Neonatol, 2013. **54**(6): p. 413.
57. Tebani, A., et al., *Omics-Based Strategies in Precision Medicine: Toward a Paradigm Shift in Inborn Errors of Metabolism Investigations*. Int J Mol Sci, 2016. **17**(9).

Annexe I : Bilan diagnostique devant toute anasarque fœtale au CHU de Rouen

	<i>Examen paraclinique</i>	<i>Information complémentaire</i>
Chez la mère	Bilan hématologique	NFS, RAI, Kleihauer
	Sérologies virales	CMV, parvovirus B19, rubéole, toxoplasmose, coxsakies
	Glycémie à jeun, HGPO, recherche de LED	Eventuellement
	Électrophorèse de l'hémoglobine, Dosage de G6PD, recherche d'un déficit en pyruvate Kinase	En fonction de l'ethnie
Chez l'enfant	Contrôle échographique spécialisé	Cœur (étude de la contractilité, malformation), médiastin (retour veineux cave, tumeur, ...), abdomen (rein, foie, tumeur, retour veineux cave), cerveau.
	Radiographie squelette complet	
	Étude biochimique et cyto bactériologique des épanchements	Dosage entre autres des triglycérides, cholestérol, chylomicrons
	Bilan hématologique	NFS, test de Coombs
	Sérologies virales	CMV, parvovirus B19, rubéole, toxoplasmose, coxsakies
	Caryotype	
	Bilan métabolique	Ammoniémie, lactate, pyruvate, recherche des MLS

Annexe II : Bilan biochimique de base pour l'exploration d'une AFNI

<i>Test</i>	<i>Analyse prévue</i>
<p>Techniques avec culture</p> <p>Liquide amniotique, cultures de villosités choriales</p>	<p>Cultures d'amniocytes</p>
<p>Dosage d'un métabolite isolé par technique spécifique</p> <p>Tous liquides biologiques, cellules, tissus</p>	<p>Dosage de l'acide sialique libre</p>
<p>Mesure d'une activité enzymatique</p> <p>Par méthode spectrophotométrique ou spectrofluorométrique nécessitant une technique spécifique et/ou un substrat coûteux</p>	<p>Hexosaminidase A et T, Beta glucuronidase, alpha L fucosidase, Beta galactosidase, bêta glucosidase, alpha D neuraminidase et Hexosaminidases A et totales</p>
<p>Analyse quantitative et qualitative des glycosaminoglycanes</p> <p>Liquides biologiques</p>	
<p>Profil des oligosaccharides</p> <p>Liquides biologiques</p>	

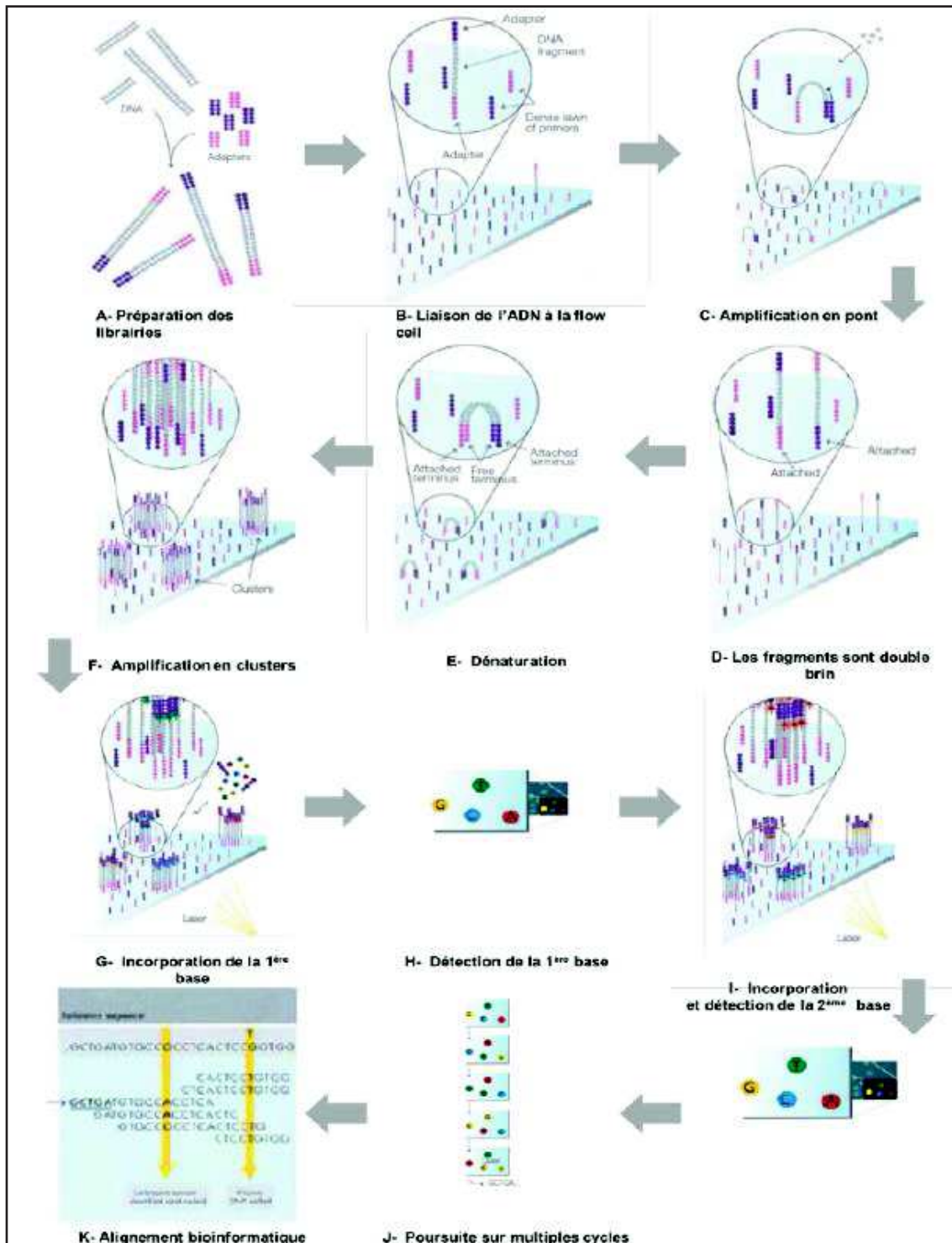
Annexe III : Liste des gènes par maladies

<i>Groupe</i>	<i>Pathologie</i>	<i>Gène</i>
Maladies Lysosomales	MPS VII	<i>GUSB</i>
	MPS I	<i>IDUA</i>
	MPS VI	<i>ARSB</i>
	MPS Iva	<i>GALNS</i>
	Surcharge en acide sialique libre	<i>SLC17A5</i>
	galactosialidose	<i>CTSA</i>
	mucopolidose II	<i>GNPTAB</i>
	sialidose II	<i>NEU1</i>
	Maladie de Gaucher	<i>GBA</i>
	Maladie de Wolman	<i>LIPA</i>
	Maladie de Farber	<i>ASAH1</i>
	Maladie de Pompe	<i>GAA</i>
	Nieman Pick A	<i>SMPD1</i>
	Nieman Pick C	<i>NPC1</i>
	Nieman Pick C	<i>NPC2</i>
	Gangliosidose en GM1	<i>GLB1</i>
	Déficit multiple en sulfatases	<i>SUMF1</i>
Métabolisme du Cholestérol	Acidurie Mévalonique	<i>MVK</i>
	CDPX2	<i>EBP</i>
	Dysplasie de Greenberg	<i>LBR</i>
	SLO	<i>DHCR7</i>

<i>Groupe</i>	<i>Pathologie</i>	<i>Gène</i>
Métabolisme du peroxysome Maladies d'intoxication Déficit énergétique	Chondrodysplasie ponctuée rhizomélique	<i>PEX7</i>
	Syndrome de Zellweger	<i>PEX1</i>
	Syndrome de Zellweger	<i>PEX2</i>
	Syndrome de Zellweger	<i>PEX5</i>
	Syndrome de Zellweger	<i>PEX6</i>
	Syndrome de Zellweger	<i>PEX10</i>
	Syndrome de Zellweger	<i>PEX12</i>
	Syndrome de Zellweger	<i>PEX26</i>
	Déficit en glutamine synthétase	<i>GLUL</i>
	Hémochromatose néonatale	<i>HFE</i>
	Porphyrie érythropoïétique congénitale	<i>UROS</i>
	Déficit en fumarase	<i>FH</i>
	Déficit primaire carnitine	<i>SLC22A5</i>
Syndrome de Barth	<i>TAZ</i>	
Déficit de la glycosylation des protéines	CDG Ia	<i>PMM2</i>
	CDG Ig	<i>ALG12</i>
	CDG Ih	<i>ALG8</i>
	CDG Ik	<i>ALG1</i>
Autres	Glycogénose IV	<i>GBE1</i>
	Déficit en transaldolase	<i>TALDO1</i>

Annexe IV : Principe de séquençage par synthèse Illumina

(<https://www.illumina.com>)



Annexe V : Liste des patientes & résultats

N°	DDN	Term e	Diagnostic Biochimique	Anatomo- pathologie	Clinique	Issue de la grossesse	Année	Sexe fœtus	Diagnostic
P1	13/10/1984		Inconnu		Hydrothorax		2017		Inconnu
P2	25/10/1973	33+5	Inconnu		Hépatomégalie Néphromégalie	Enfant vivant	2013	M	Syndrome de Wiedmann Becktwith
P3	15/11/1979	29	Inconnu		Omphalocèle Dysmorphie faciale Epiphyses ponctuées Profil de Binder	Décès post-natal	2012	M	Inconnu
P4	31/08/1985	33	Inconnu	Anémie fœtale	Anémie fœtale	Mort in utero	2010	F	Probable Mucopolysaccharidose IVA
P5	12/12/2007	31	Inconnu	Non contributive	Anémie fœtale Ascite Hydrothorax modéré Apoplasie ovarienne	Décès post-natal	2007	F	Inconnu
P6	10/04/1985		Inconnu		Œdème diffus Ascite Méga vessie		2012	M	Inconnu
P7	04/10/1988	36	Inconnu		Hydrothorax Chylothorax Thrombopénie Insuffisance rénale	Décès post-natal	2014	F	Inconnu

N°	DDN	Term e	Diagnostic Biochimique	Anatomo- pathologie	Clinique	Issue de la grossesse	Année	Sexe fœtus	Diagnostic
P8	05/10/1983	38+3	Inconnu		Hydramnios RCIU Profil de Binder Épiphyse ponctuées	Enfant vivant	2016	M	Inconnu
P9	27/09/2016	20+3	Inconnu	Suspicion de maladie de surcharge portant sur le glycogène	Hépatomégalie Hydramnios Kystes des plexus choroïdes	Mort in utero	2016	M	Inconnu
P10	10/10/1977		Inconnu		Ventriculomégalie		2015	M	Inconnu
P11	08/04/1979	38+4	Inconnu		Hydronéphrose Hydrothorax	Décès post-natal	2010	F	Inconnu
P12	28/04/1984		Inconnu		Hydramnios Macrosomie		2016	M	Inconnu
P13	17/02/1984	31+1	Inconnu		Reins hyperéchogènes	Enfant vivant	2013	F	Asymétrie des chromosomes X
P14	16/02/1980		Inconnu		Néphromégalie Corps calleux épais		2015	F	Déficit en HNF1B
P15	02/11/2011	27+3		Insuffisance vasculo- placentaire	RCIU sévère	Mort in utero	2011	M	Inconnu
P16	28/07/1980	34+5	Inconnu	Surcharge lipidique diffuse (notamment mitochondries)	Atrésie de l'œsophage Anomalies osseuses Arthrogrypose	Décès post-natal	2011	M	Inconnu

<i>N°</i>	<i>DDN</i>	<i>Term e</i>	<i>Diagnostic Biochimique</i>	<i>Anatomo- pathologie</i>	<i>Clinique</i>	<i>Issue de la grossesse</i>	<i>Année</i>	<i>Sexe fœtus</i>	<i>Diagnostic</i>
P17	23/10/1992	34+4	Inconnu		Hydrothorax Trouble du rythme Dysmorphie faciale	Enfant vivant	2015	M	Inconnu
P18	16/02/1970	39+6	Inconnu		Non spécifique		2012	M	Inconnu
P19	30/07/1986	29+5	Inconnu	Non contributive	Placentomégalie Hépatomégalie Cardiomégalie Agénésie rénale Microcéphalie Viscéromégalie Micropénis	Décès post-natal	2011	M	Inconnu
P20	19/01/1983	26	Inconnu ¹⁴	Villite nécrosante,	Ascite Hépatomégalie Placenta épais Fibrose disséquante Défaillance multiviscérale	Décès post-natal	2014	F	Niemann-Pick C
P21	04/05/1978	23+6	Inconnu		Cardiomyopathie hypertrophique	Mort in utero	2010	F	Inconnu
P22	08/05/1985	30+6	Inconnu		Ascite	Enfant vivant	2016	M	Inconnu

¹⁴ Acide sialique libre contrôlé négatif sur un second prélèvement

<i>N°</i>	<i>DDN</i>	<i>Term e</i>	<i>Diagnostic Biochimique</i>	<i>Anatomo- pathologie</i>	<i>Clinique</i>	<i>Issue de la grossesse</i>	<i>Année</i>	<i>Sexe fœtus</i>	<i>Diagnostic</i>
P23	13/04/1986	19+3	Inconnu	Hypotrophie des fibres musculaires	Malposition des mains et des pieds Estomac non vu Immobilisme fœtal	Interruption médicale	2016	F	Inconnu
P24	13/12/1981	34+1	Inconnu	Microcéphalie <i>vera</i> sans désorganisation des grandes structures associées	Anémie sévère Malformation OGE Calcifications surréaliennes Micropolygyries	Interruption médicale	2013	M	Inconnu
P25	19/08/1975	25+6	Inconnu	Perforation colique probablement ischémique	Non contributive	Interruption médicale	2012	M	Inconnu
P26	15/08/1979	20+4	Inconnu		Malposition des mains et des pieds	Mort in utero	2008	F	Inconnu
P27	28/05/2009	34	Inconnu		Péritonite Anémie fœtale	Interruption médicale	2009	F	Inconnu
P28	24/06/1984	28	Inconnu	Probable CIV	Hydrothorax Hypertrophie auriculo-cardiaque échographique	Décès post-natal	2013	F	Inconnu

<i>N°</i>	<i>DDN</i>	<i>Term e</i>	<i>Diagnostic Biochimique</i>	<i>Anatomo- pathologie</i>	<i>Clinique</i>	<i>Issue de la grossesse</i>	<i>Année</i>	<i>Sexe fœtus</i>	<i>Diagnostic</i>
P29	29/05/1983		Inconnu		Hydrothorax Splénomégalie Espaces péricérébraux visibles	Enfant vivant	2016	F	Inconnu
P30	31/10/1990	34+6	Inconnu		Dysmorphie faciale Hydramnios	Enfant vivant	2011	M	Syndrome de Fraconschetti-Klein
P31	02/05/1986	27	Inconnu	Encéphalite à CMV	Ascite Intestin hyperéchogène	Interruption médicale	2015	M	CMV
P32	16/03/1994		Inconnu		Hydrothorax unilatéral		2017	M	Inconnu
P33	27/01/2005	36	Inconnu	Suspicion de glycogénose	Cardiomégalie Fuite valvulaire Ascite Hydrothorax Insuffisance cardiaque aiguë	Décès post-natal	2005	M	Inconnu
P34	04/12/1980	24	Inconnu		Myocardiopathie	Interruption médicale	2017	M	Inconnu
P35	12/11/1984		Inconnu		Hydrothorax unilatéral Cardiomyopathie	Enfant vivant	2011	M	Inconnu
P36	22/04/1984	34+5	Inconnu		Non contributive	Enfant vivant	2011	M	Inconnu

<i>N°</i>	<i>DDN</i>	<i>Term e</i>	<i>Diagnostic Biochimique</i>	<i>Anatomo- pathologie</i>	<i>Clinique</i>	<i>Issue de la grossesse</i>	<i>Année</i>	<i>Sexe fœtus</i>	<i>Diagnostic</i>
P37	11/05/1984	38+3	Inconnu		Hydrothorax Hydramnios	Enfant vivant	2016	F	Inconnu
T1	04/02/2010	26	Inconnu		Malformation cardiaque Hypoplasie aortique	Interruption médicale	2010	F	SLO
T2	16/07/2003	39+6	Inconnu		Microcéphalie	Enfant vivant	2003	F	Déficit en fumarase
T3	27/12/1989	39	Inconnu		RCIU Agénésie du corps calleux Pieds bots varus équins	Enfant vivant	2011	M	Syndrome de Zellweger
T4	02/03/1996	39	Maladie de Pompe	Surcharge massive en polysaccharides hyaloblastique	RCIU Myocardiopathie	Enfant vivant	1996	F	Maladie de Pompe
T5	26/08/2010	30	Sialidose de type II		Hépatosplénomégalie	Enfant vivant	2010	F	Sialidose de type II
T6	17/12/1982	34+3	Galactosialidose		Non contributive	Décès post-natal	1982	M	Galactosialidose
T7	09/04/1991		Mucopolipidose III		Non contributive	Enfant vivant	2014	M	Mucopolipidose III
T8	12/07/2007	38	Inconnu		Cardiomyopathie dilatée	Enfant vivant	2007	M	Syndrome de Barth

