

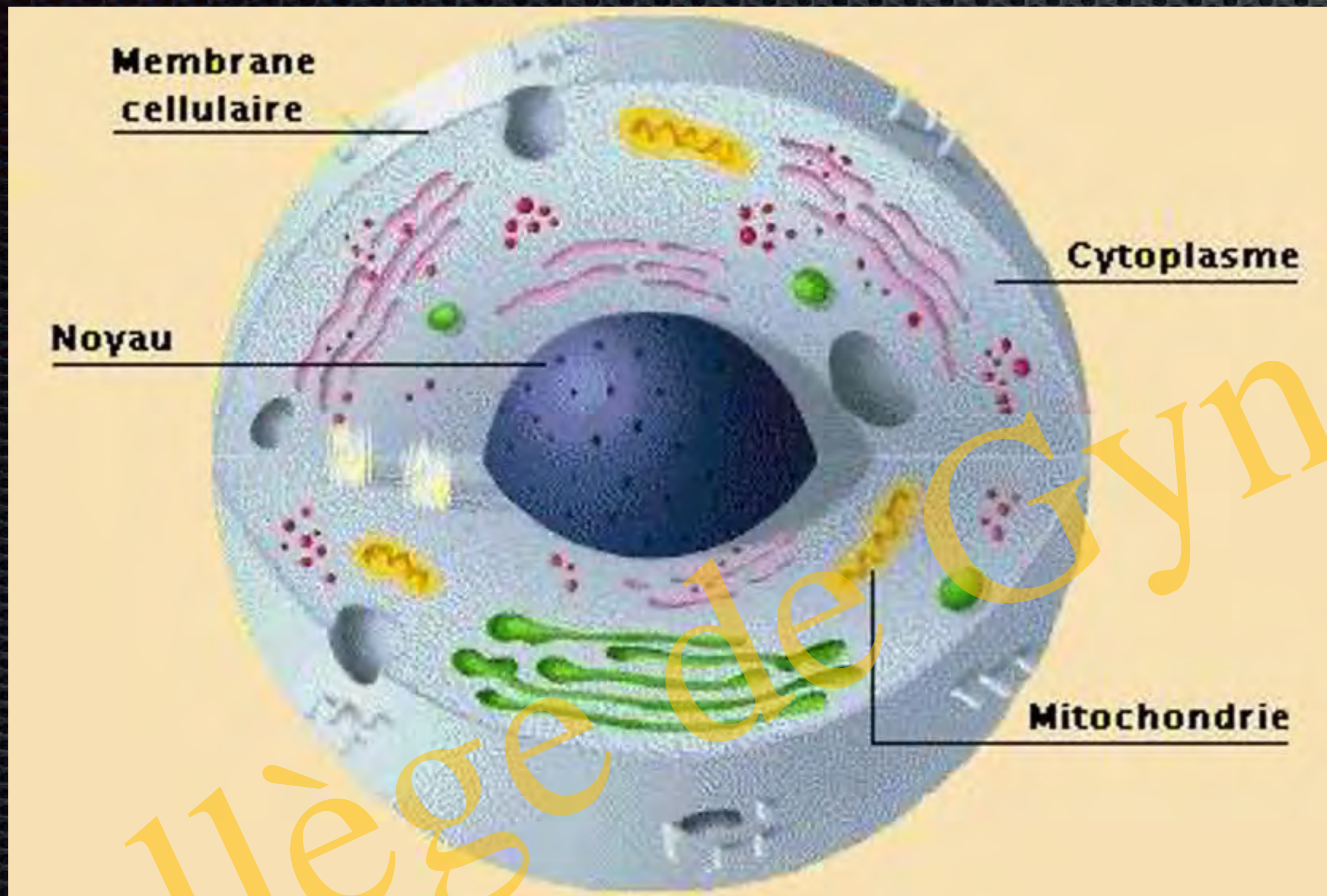


**Apports des examens
génétiques en Gynécologie
et en Obstétrique**

Georges HADDAD
28 janvier 2025

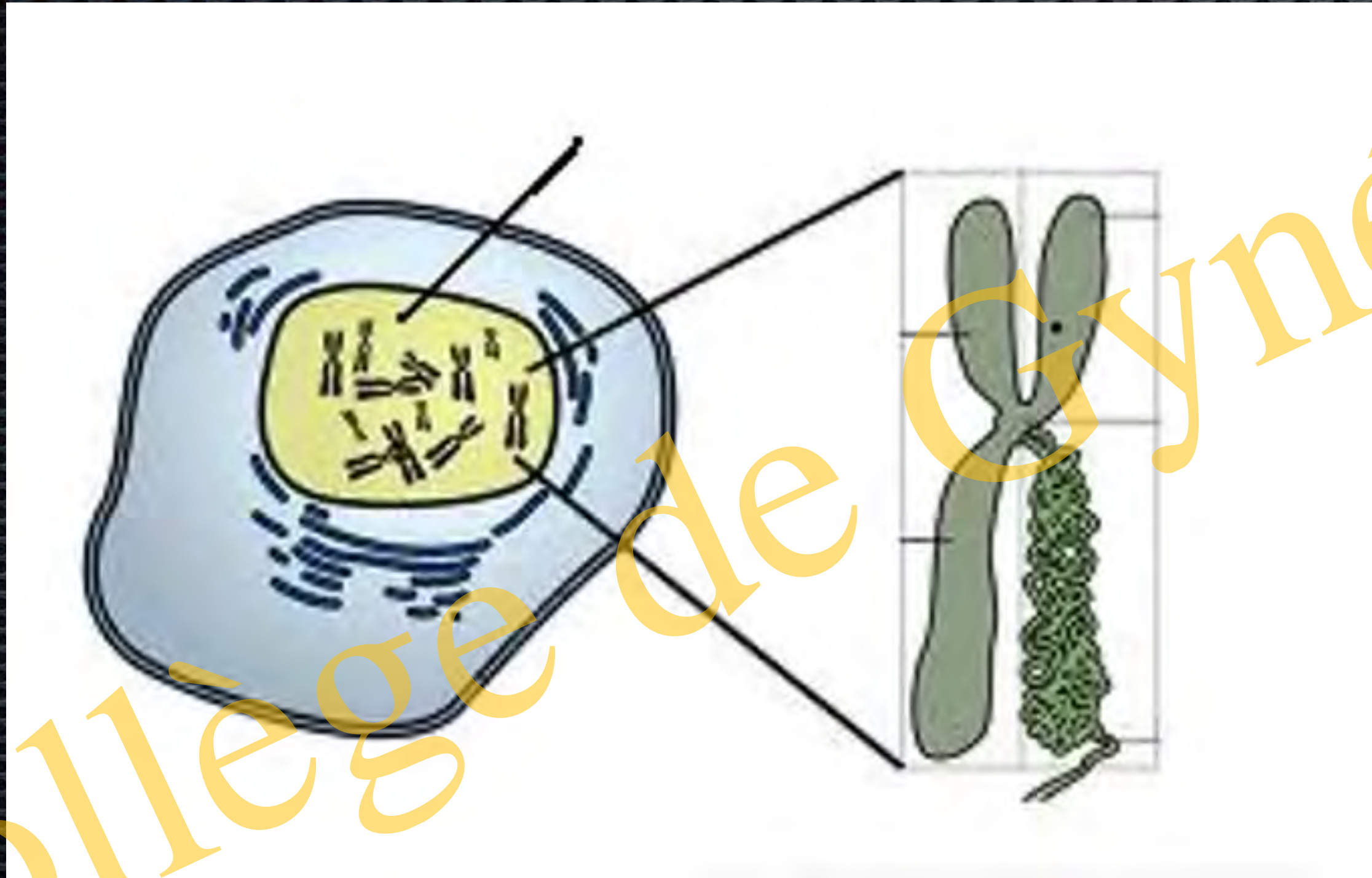
Collège de Gynécologie

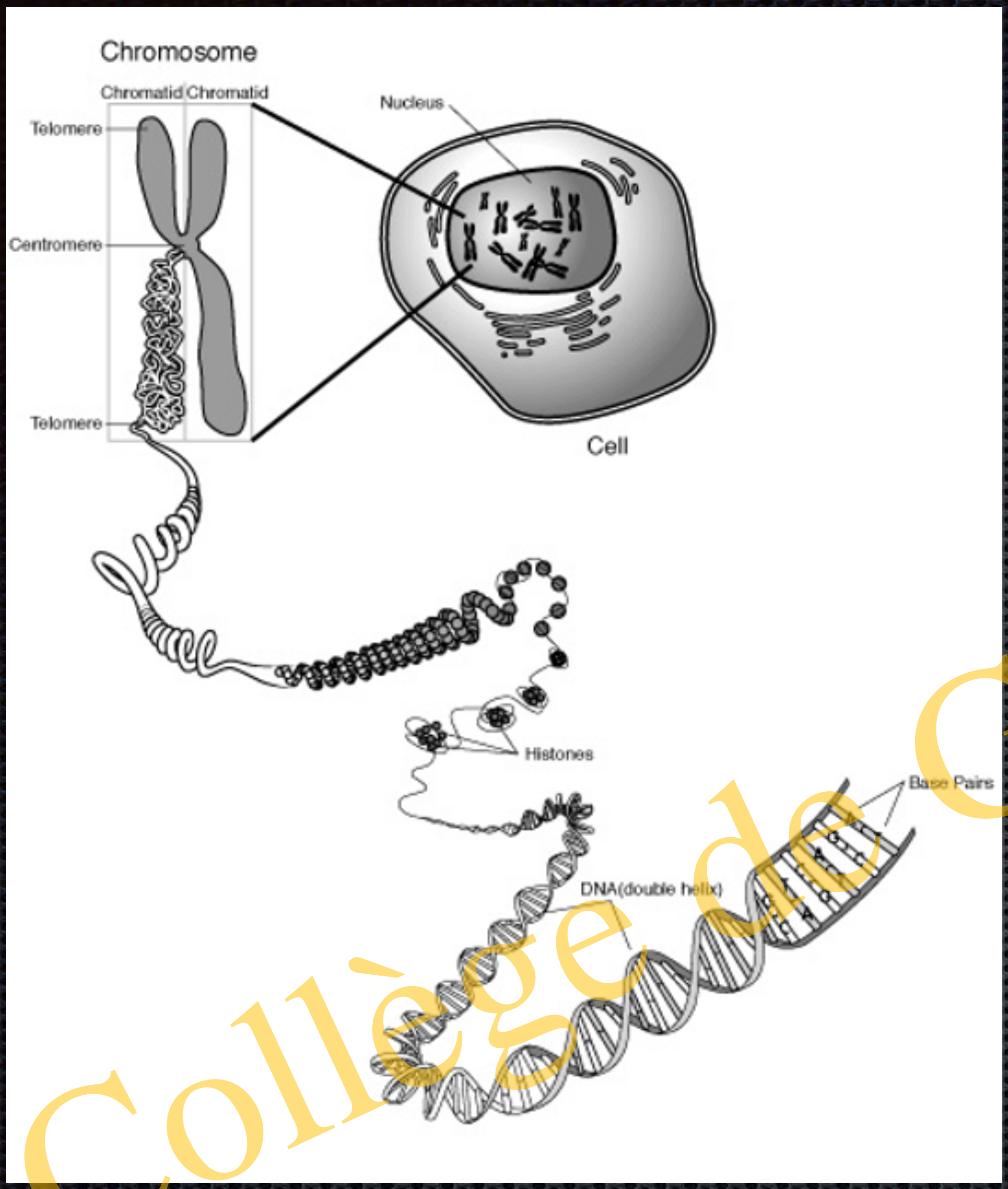
- Toutes les cellules animales sont constituées des mêmes parties principales.

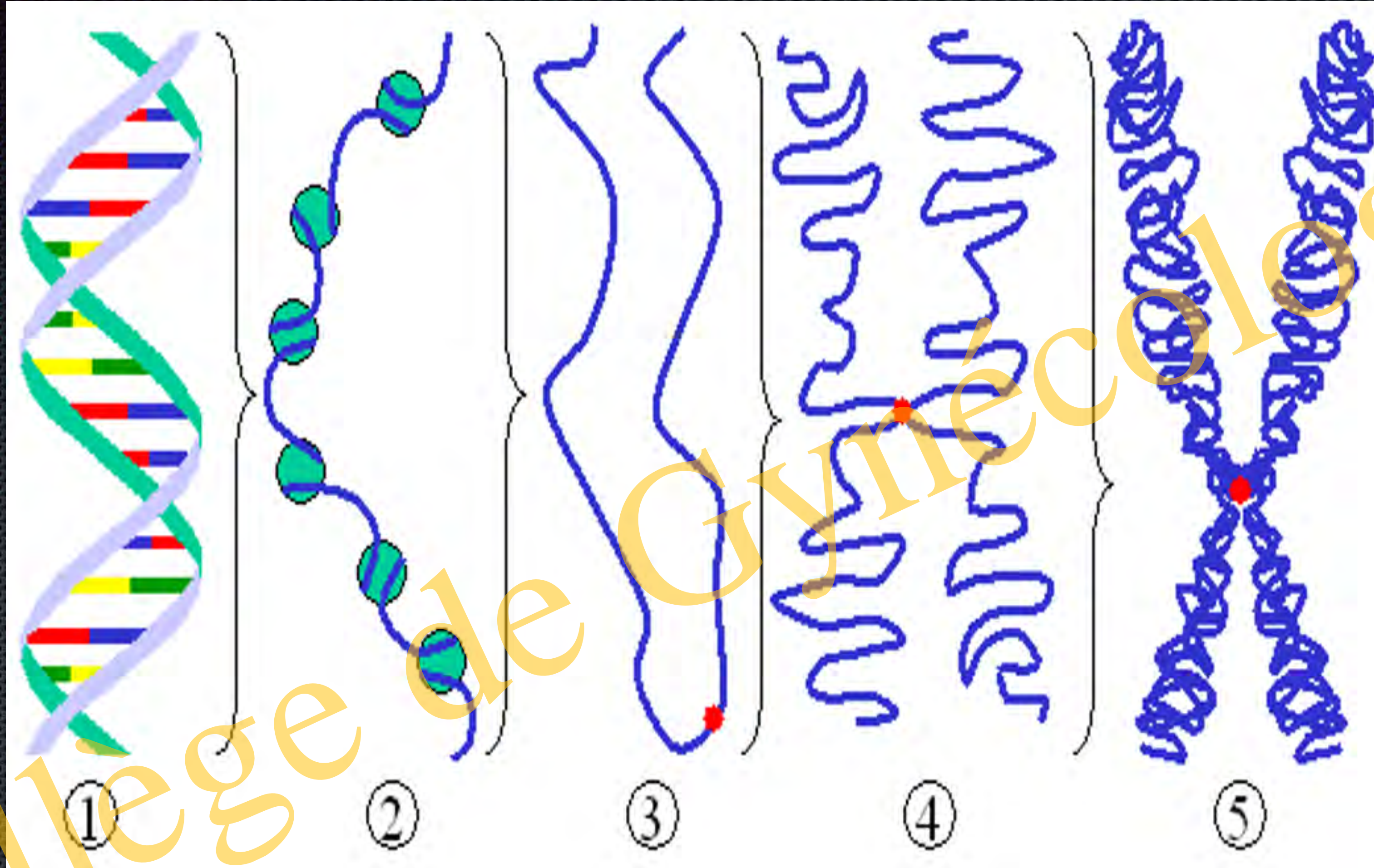


Collège de Gynécologie CVA

- Le noyau contient le matériel génétique de chaque individu.
C'est dans le noyau que l'on trouve les chromosomes.

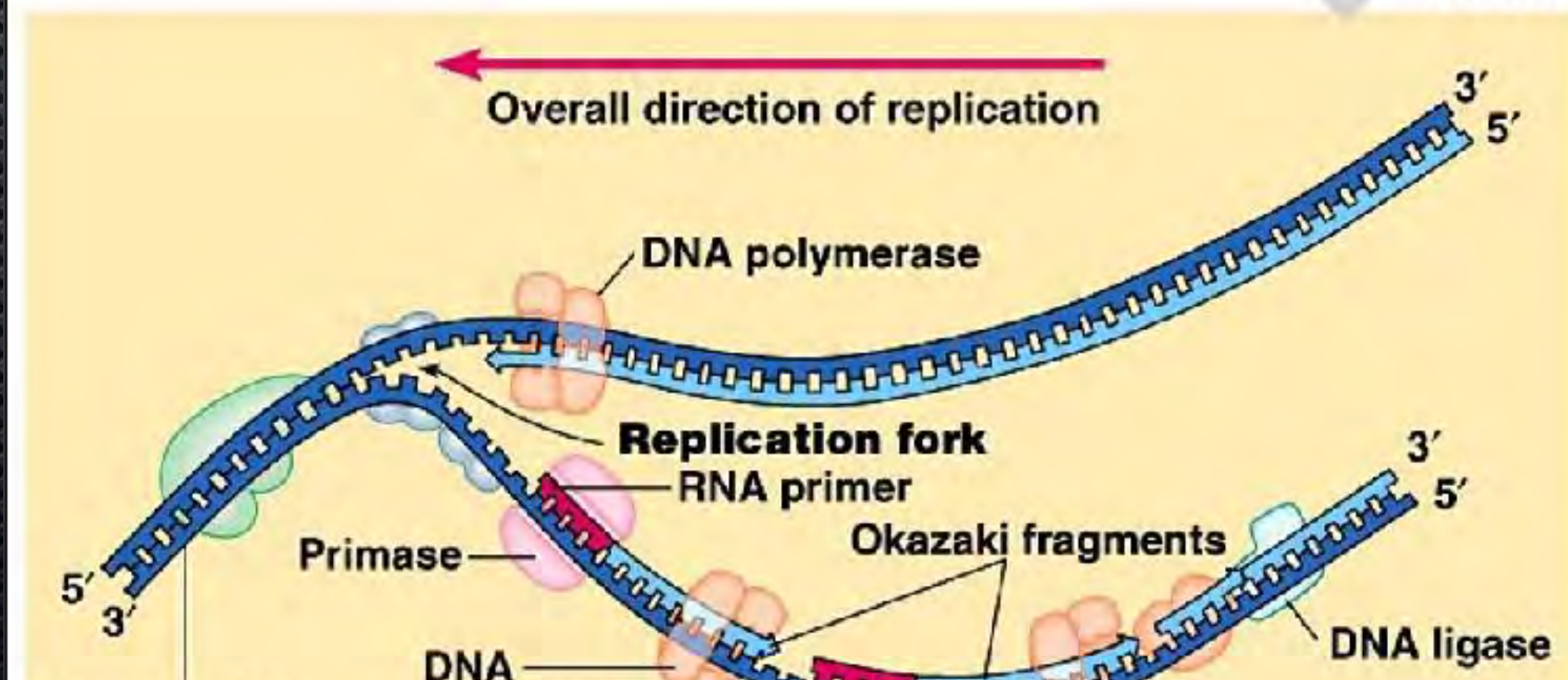
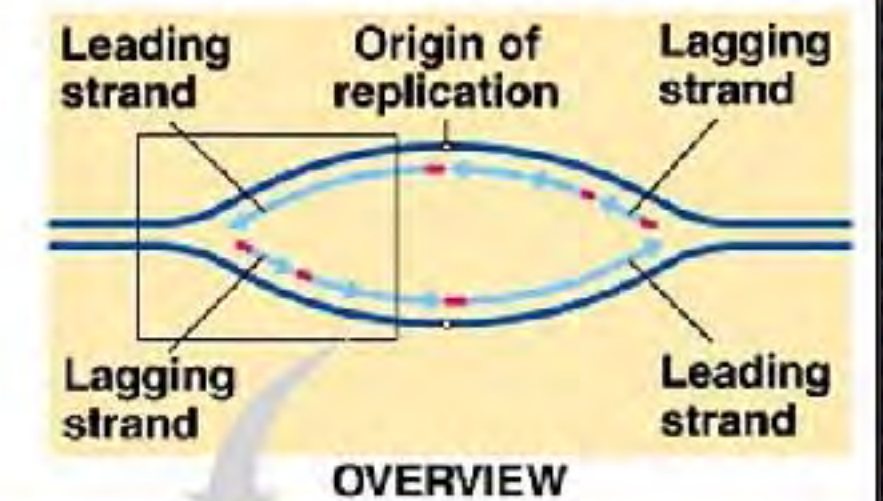
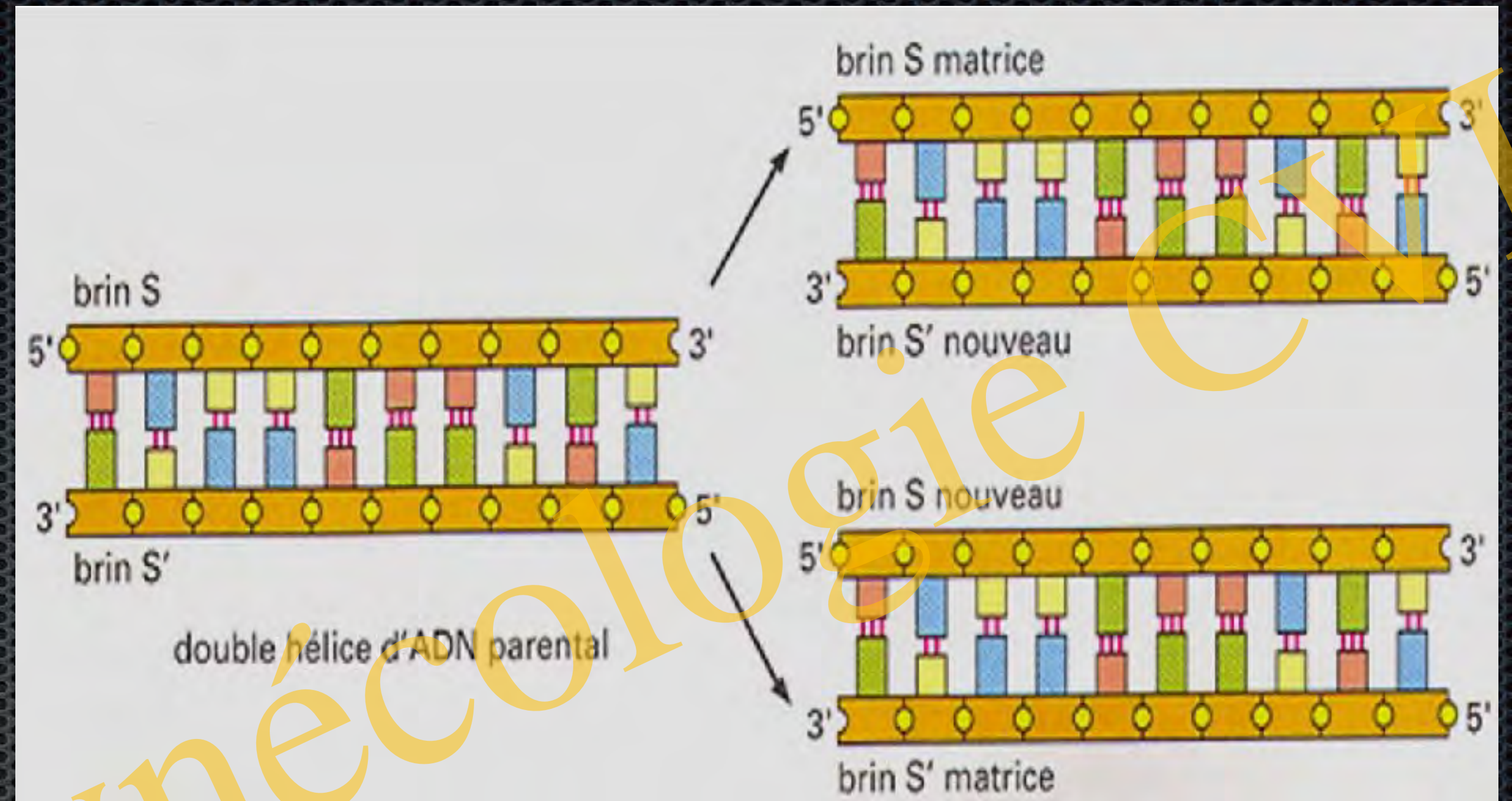






College de Génie et Technologie CVL

La réplication ou Duplication



Collège de Gynécologie

La transcription

ADN → ARN pré-messager

ADN

3' T A C C T G A A C G T C G T G A T T 5'

ARN

5'

A U G G A C U U G C A G C A C U A A

pré-messager

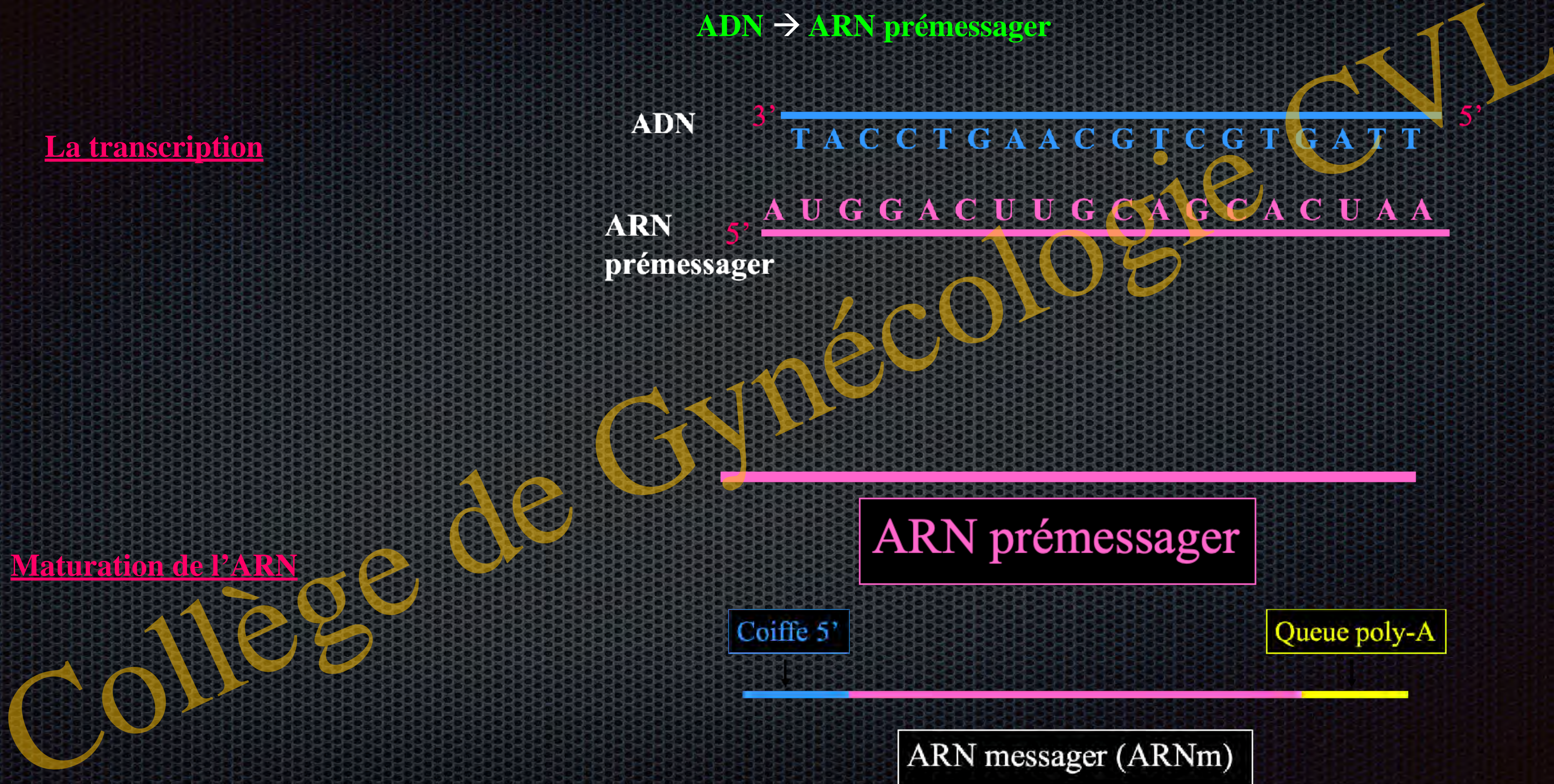
ARN pré-messager

Coiffe 5'

Queue poly-A

ARN messenger (ARNm)

Maturation de l'ARN

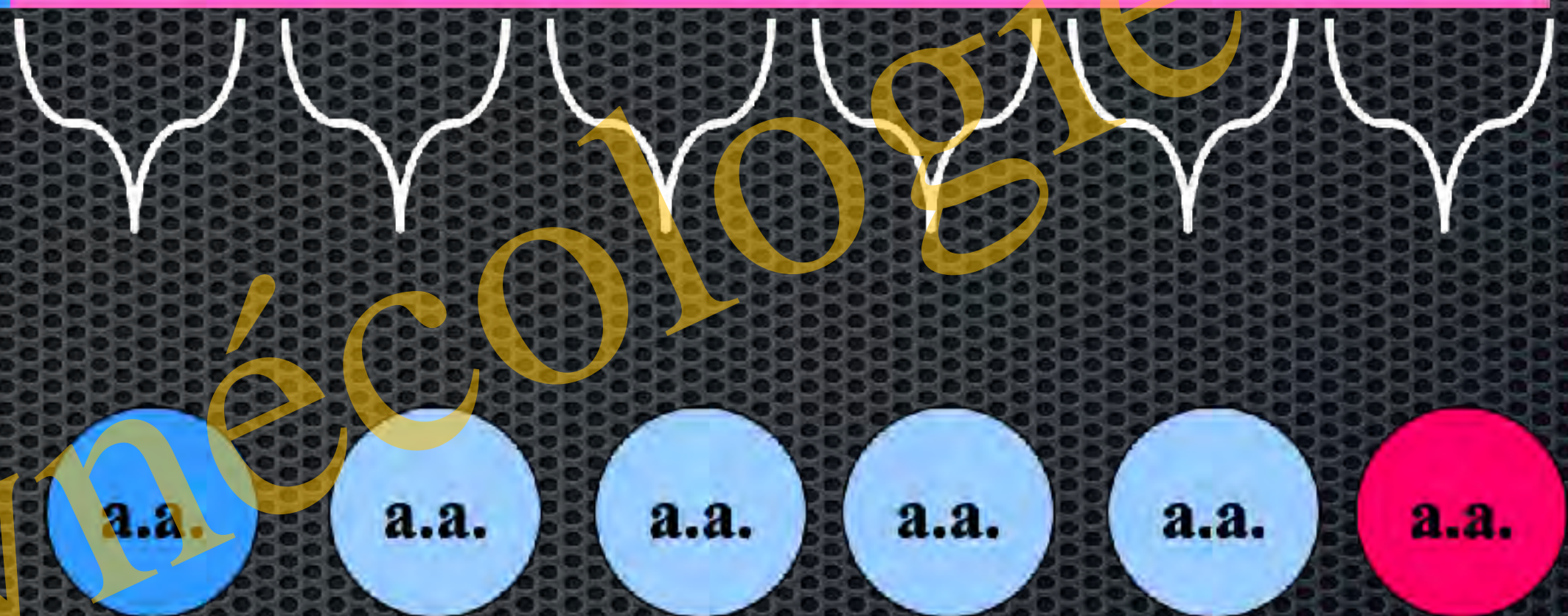


La traduction

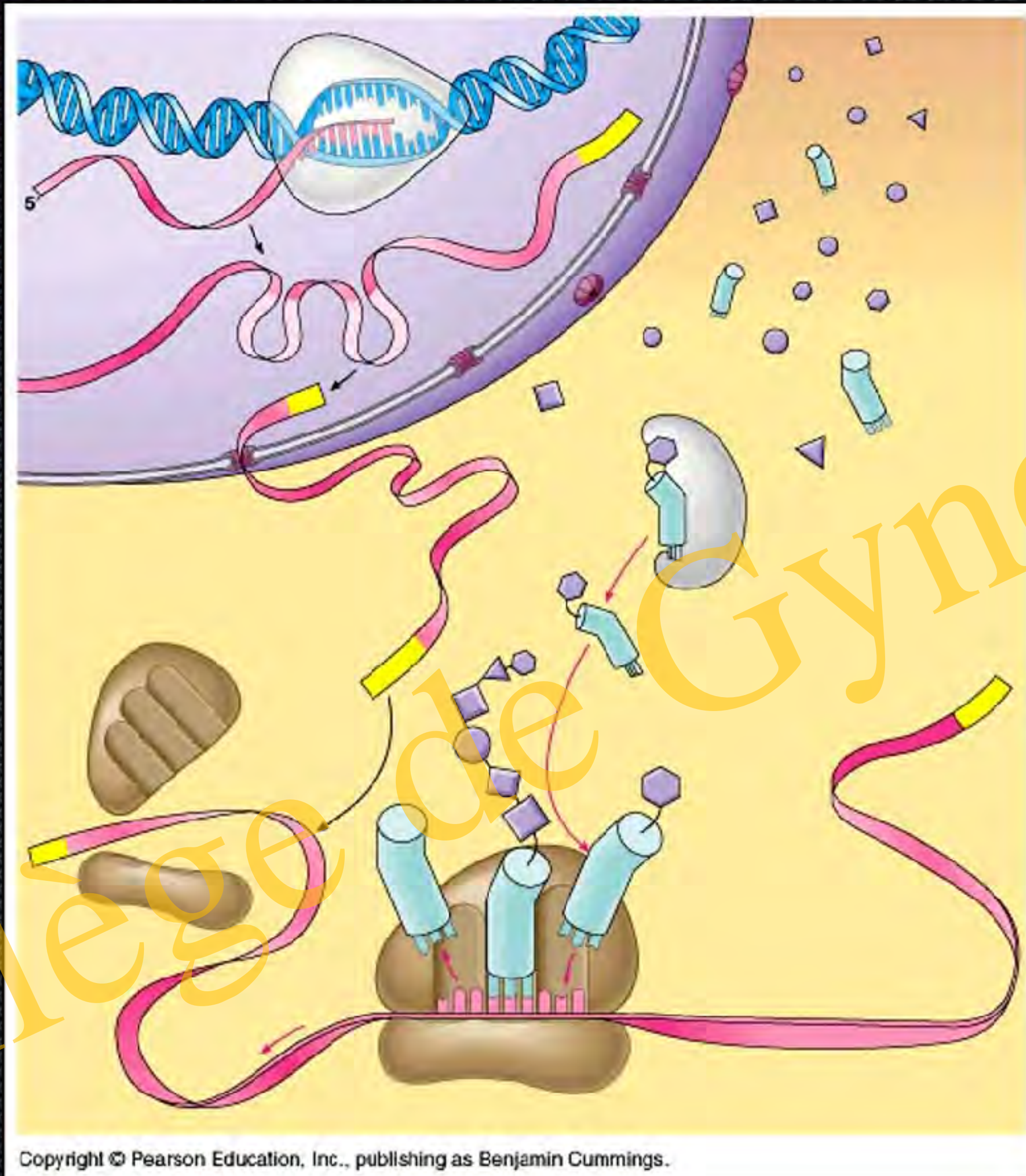
ARNm → Polypeptide

5' AUGGACUUGCAGCACUAA

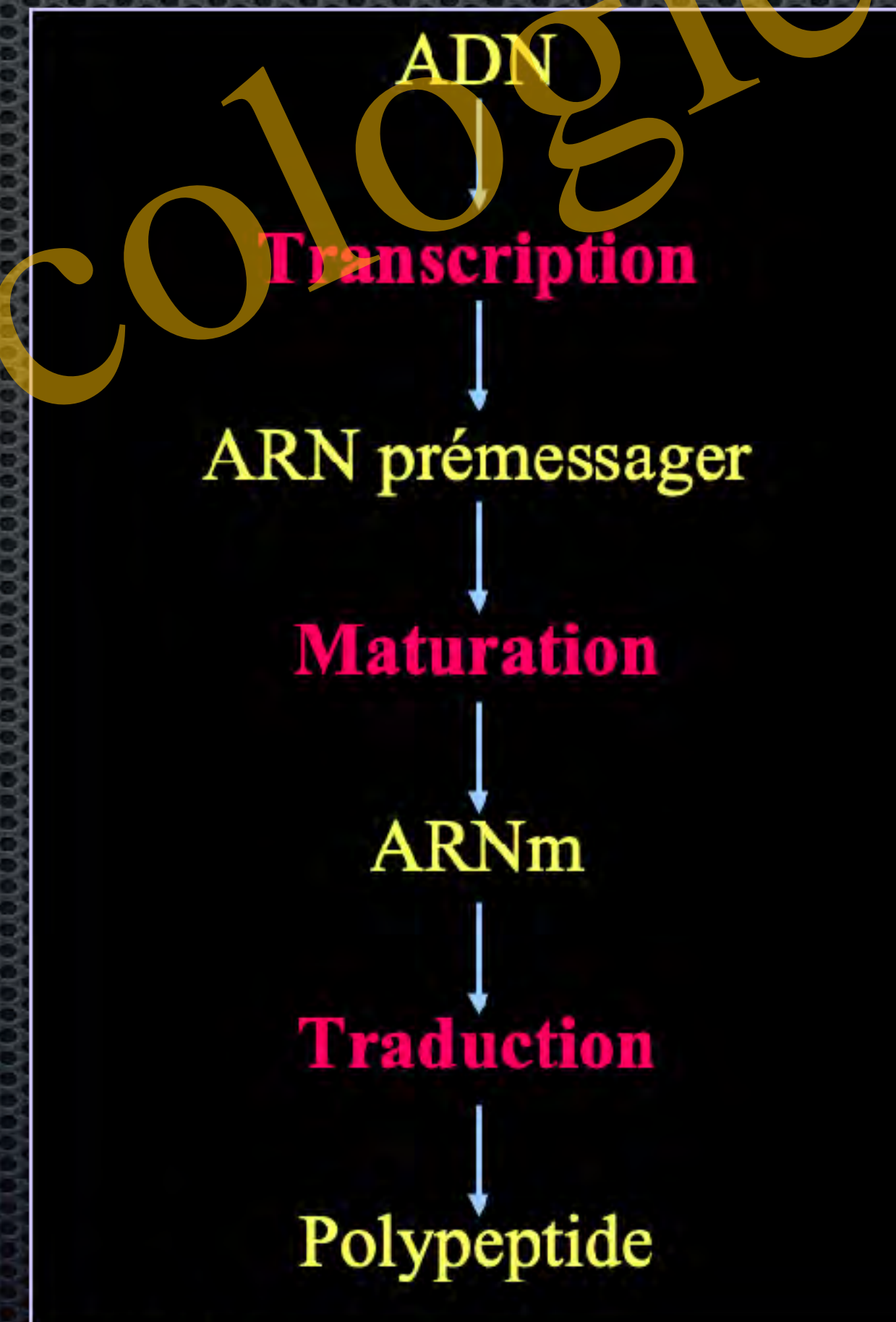
First base (5' end)	Second base				Third base (3' end)
	U	C	A	G	
U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U
	UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	C
	UUA } Leu	UCA } Ser	UAA Stop	UGA Stop	A
	UUG } Leu	UCG } Ser	UAG Stop	UGG Trp	G
C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U
	CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C
	CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	A
	CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	G
A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U
	AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	C
	AUA } Ile	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A
	AUG Met or start	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G
G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U
	GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	C
	GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	A
	GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	G



LA RELATION ENTRE GÈNES ET PROTÉINES



Gène → protéine



Campbell – Fig. 17.26

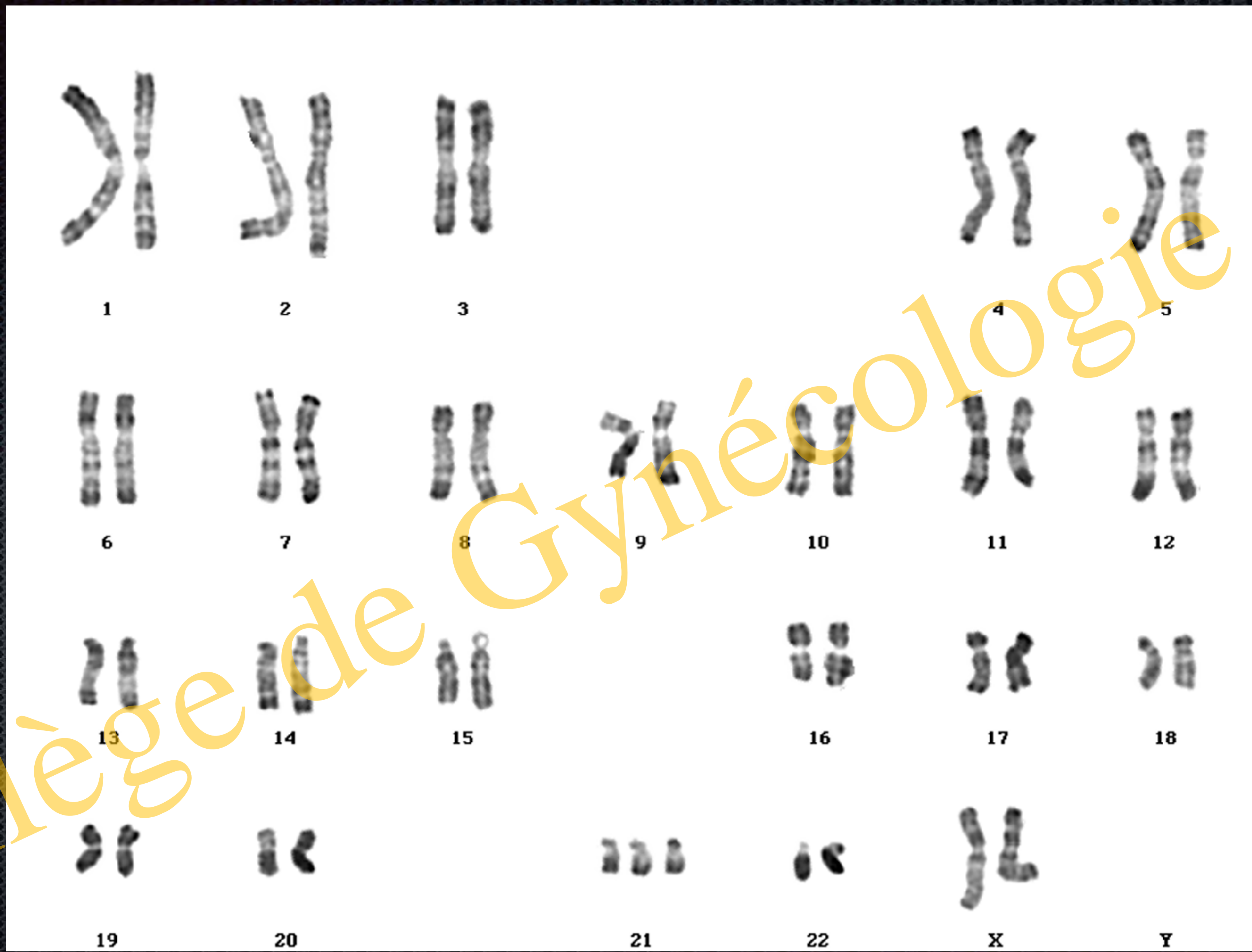
Collège de Gynécologie CVL

CARYOTYPE

CARYOTYPE NORMAL (GTG)

46, XX





1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

X

Y

Collège de Gynécologie CVA

Applications en GYN OBS

Reproduction: Aménorrhée primaire, Azoospermie
FCS à répétition

Collège de Gynécologie CVA

Collège de Gynécologie CVL

CGH array

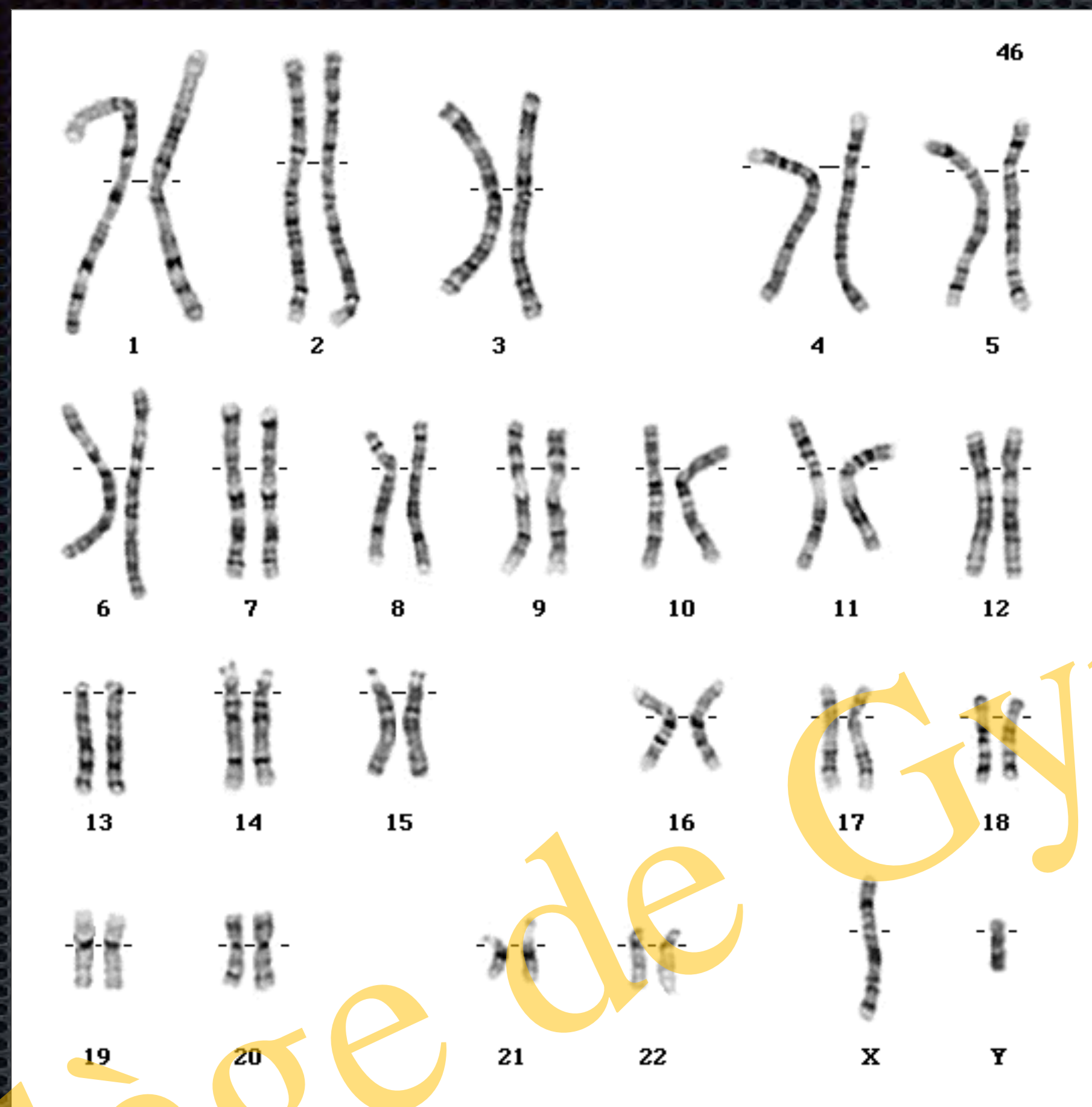
TERMINOLOGIE

Array comparative genomic hybridization
(CGH array, array CGH, a-CGH ou aCGH)

Caryotype moléculaire

HGC sur micro-réseau d'ADN

Analyse Chromosomique sur Puce à ADN

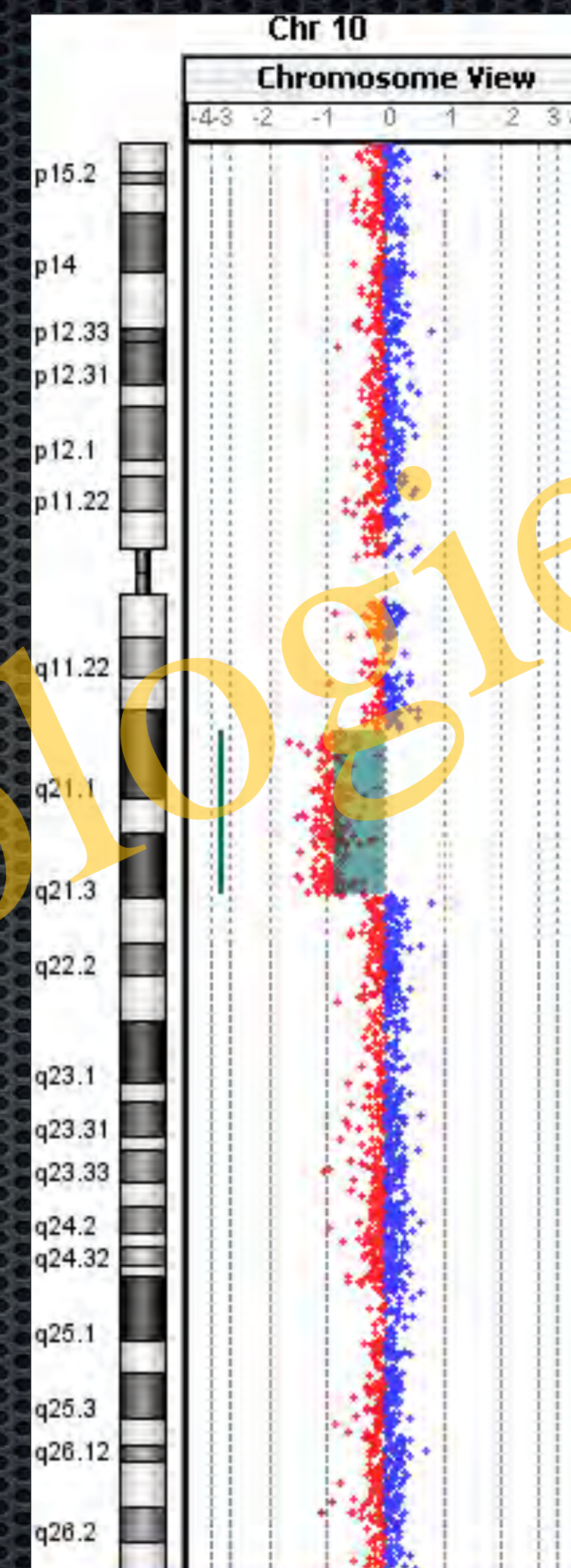


Caryotype

Étude globale du génome

Résolution: 5-10 Mb

(5-10.10⁶ paires de bases)



CGH array

Étude globale du génome

Résolution: 1kb – 1 Mb

(1000 paires de bases pdb - 10⁶ pdb)

CGH array

Étude globale du génome

Résolution: 1 kb – 1 Mb

(1000 paires de bases – 10^6 paires de bases)



Chromosome 7

159 Mb
($158 \cdot 10^6$ paires de bases)

chromosome entier

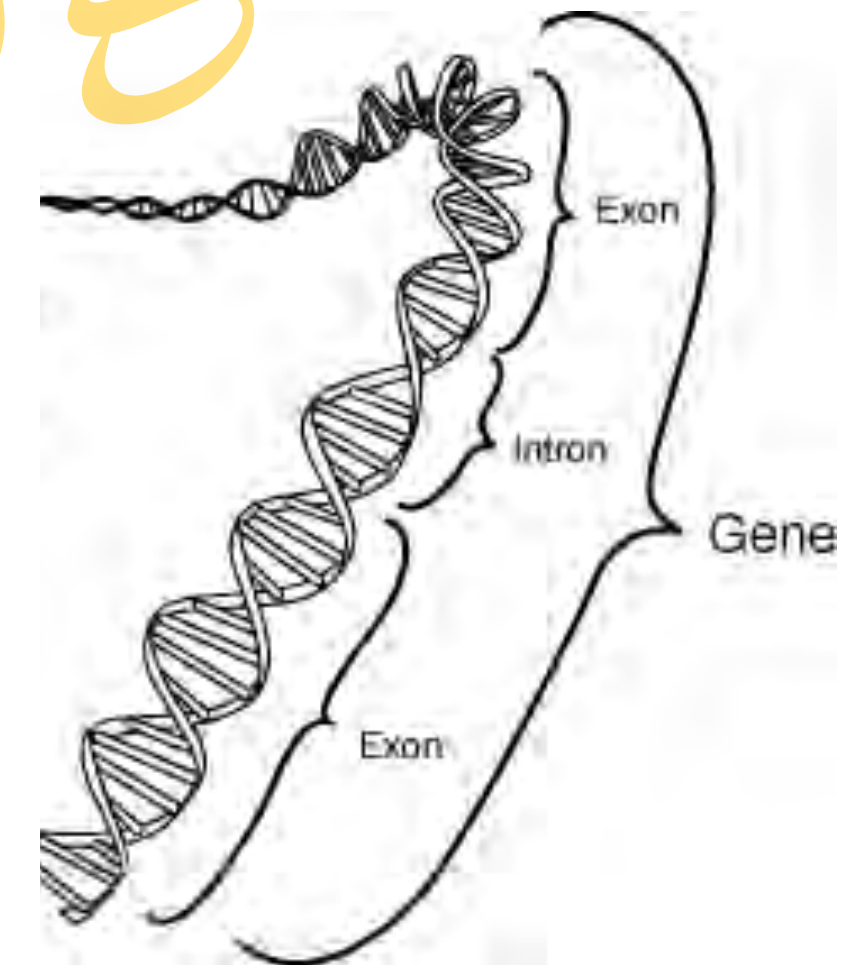


5-10 Mb
($5-10 \cdot 10^6$ paires de bases)

Bande chromosomique sur
caryotype standard

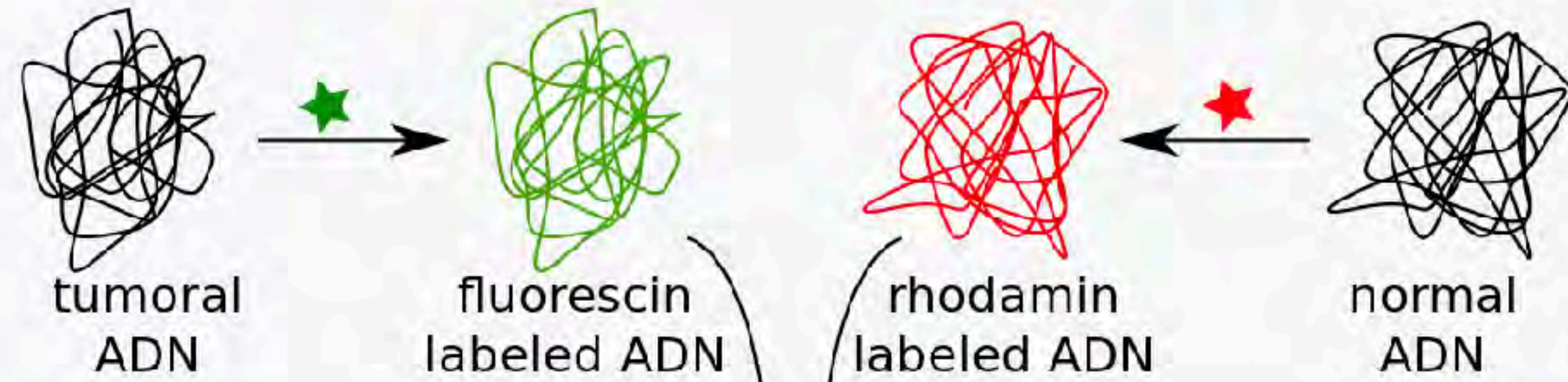


~9 gènes / Mb



~ 0.03 Mb (30
000 paires de bases)

Gène

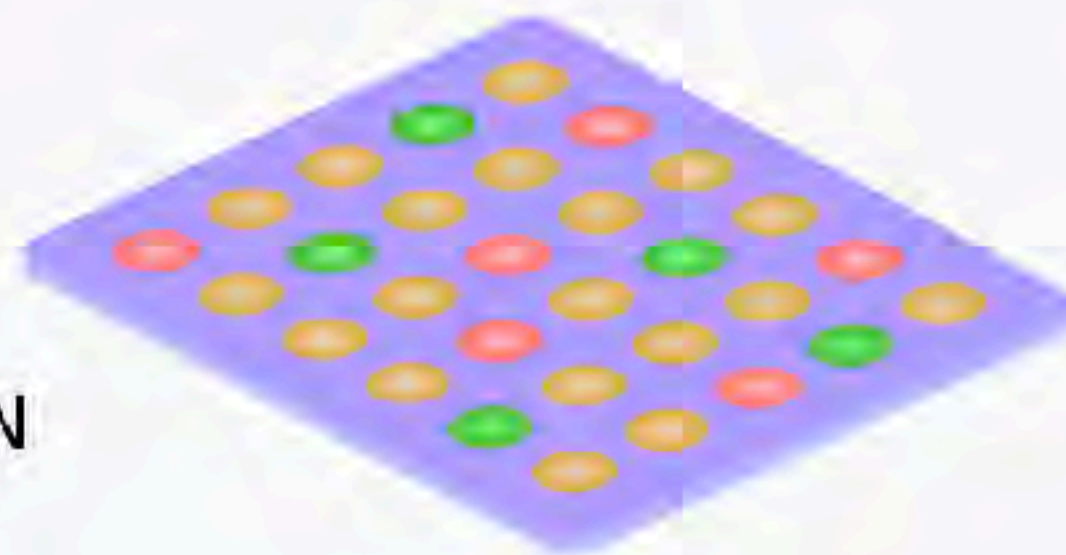


Cot-1

probes mixture

ADN array
(1 probe / spot)

Hybridized ADN
with probes
Red : ADN losses
Green : ADN gain
Orange : balanced ADN



Avantages de la CGH array

Détection d'environ **12%** d'anomalies chromosomiques cryptiques
(non visibles sur le caryotype) chez les foetus ayant des malformations
congénitales

Collège de Gynécologie CVL

CNVs (Copy Number Variants)

Segment d'ADN > 1kb présent en un nombre variable de copies en comparaison d'un génome de référence

Le terme de CNV est apparu avec le développement de la CGH array

Avantages de la CGH array en prénatal

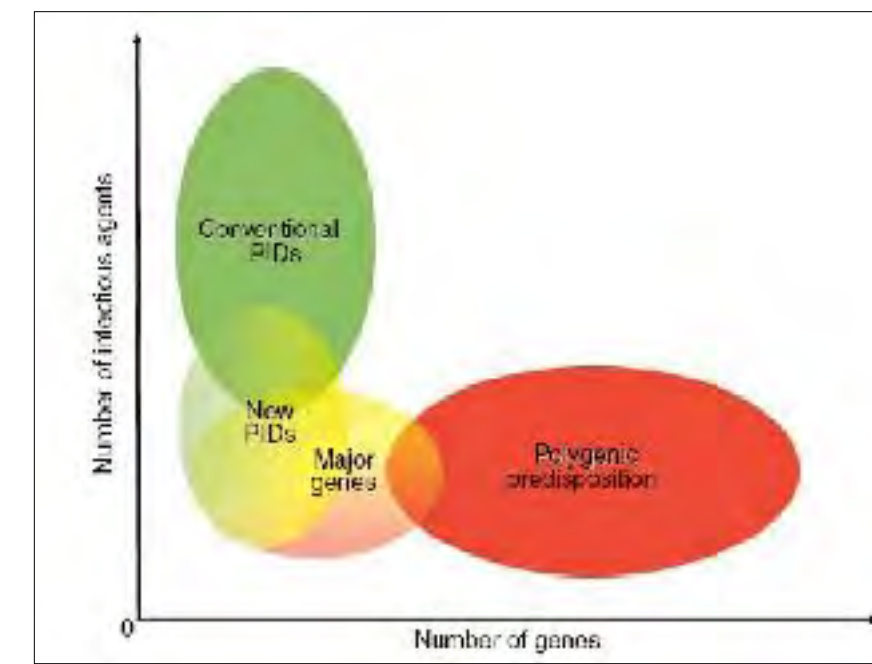
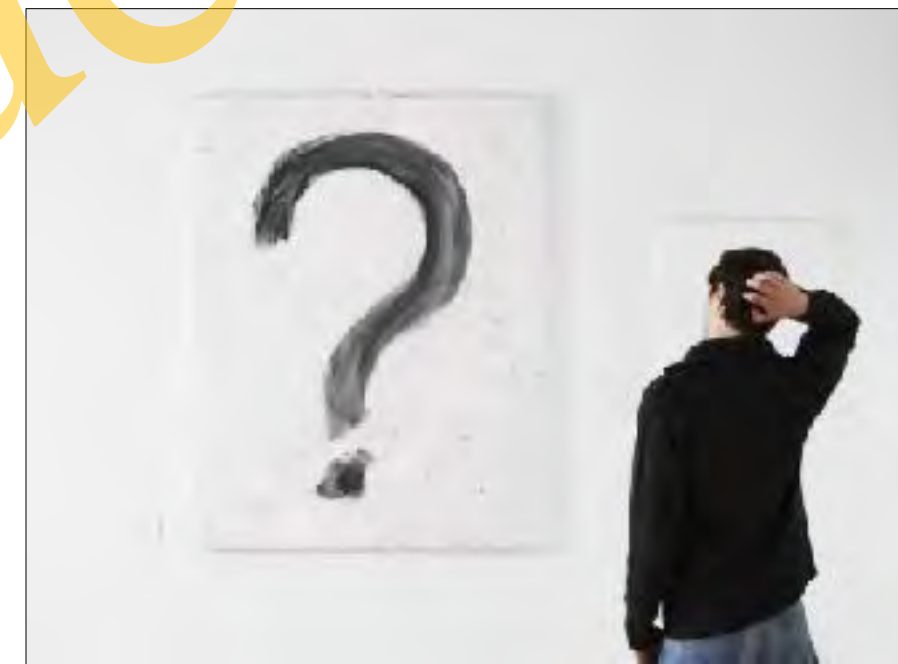
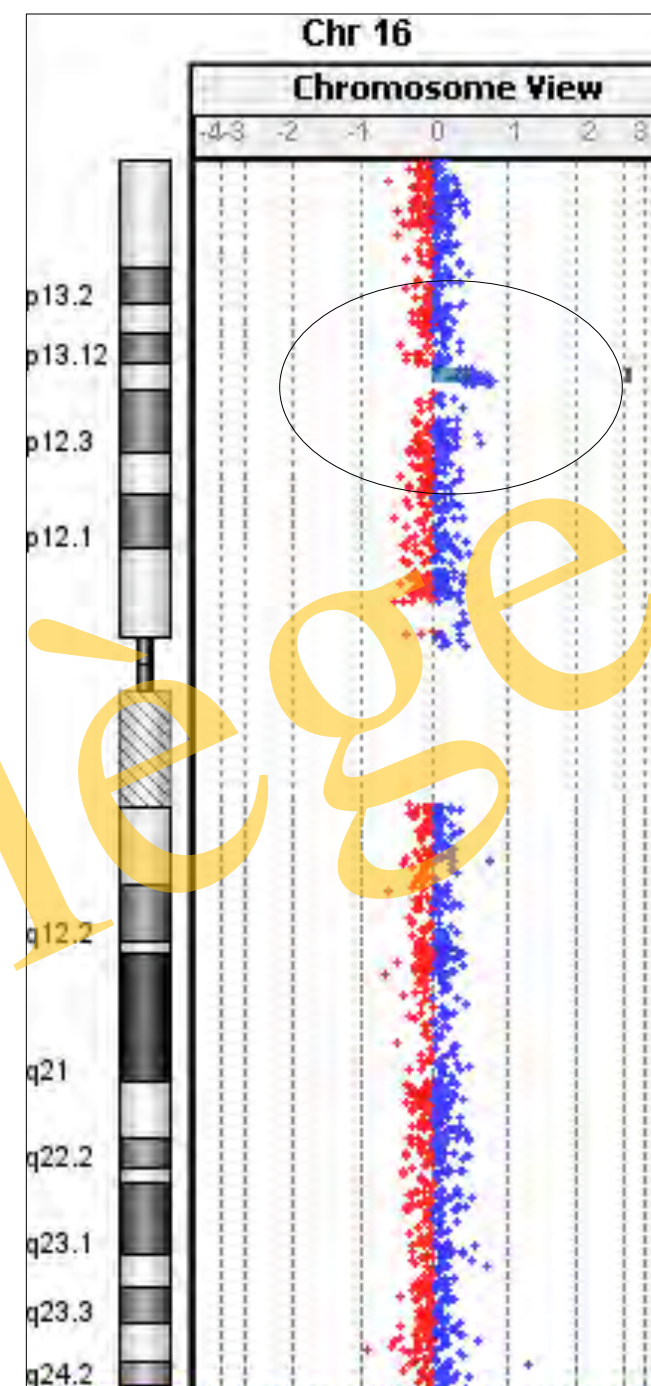
- Une recherche plus rapide des anomalies chromosomiques
 - Examen réalisé à partir de cellules amniotiques ou de villosités choriales non cultivées
 - Résultat en moins de 7 jours
- Détection d'anomalies chromosomiques cryptiques pathogènes
- Meilleure caractérisation du déséquilibre génomique identifié (taille et contenu en gènes)

Collège de Gynécologie CVL

Limites de la CGH array en prénatal

Détection d'anomalies chromosomiques (CNVs)

- Impact clinique difficile à prédire
- Facteurs de susceptibilité à des troubles neuropsychiatriques / à un déficit intellectuel / à l'autisme....
- Découverte fortuite et non reliées au phénotype



1773 foetus

Indications	Nombre de foetus	%CNV pathogènes
Hypoplasie cérébelleuse	n=30	16.7%
Holoprosencéphalie	n=53	15.1%
Anomalies squelettiques	n=60	13.3%
Pieds bots / mains bottes	n=59	13.6%

Collège de

Gynécologie CML

Détection d'anomalies chromosomiques cryptiques / difficiles à visualiser sur le caryotype

Patiente âgée de 27 ans G1 P0 Frère spina bifida
12 SA1/2: Clarté nucale à 3.4 mm
Risque combiné 1/120
DPNI négatif

24 SA : Foetus EPF > 99^{ème} centile, pyélectasie bilatérale



ACPA : Délétion 22q13 5,3 MB Sd de Phelan McDermid de Novo

Dans environ 38% des cas, l'étude du caryotype foetal et /ou ACPA permet de déterminer la cause du trouble

Mais dans « plus de 60% de ces grossesses il n'y a pas de diagnostic et aucun élément pouvant orienter un conseil génétique

Collège de

Gynécologie

Séquençage EXOME

WES

Collège de Gynécologie CVL

Un exome est une partie du matériel génétique (génom) qui contient des exons. C'est la partie du génome qui détermine l'anatomie.

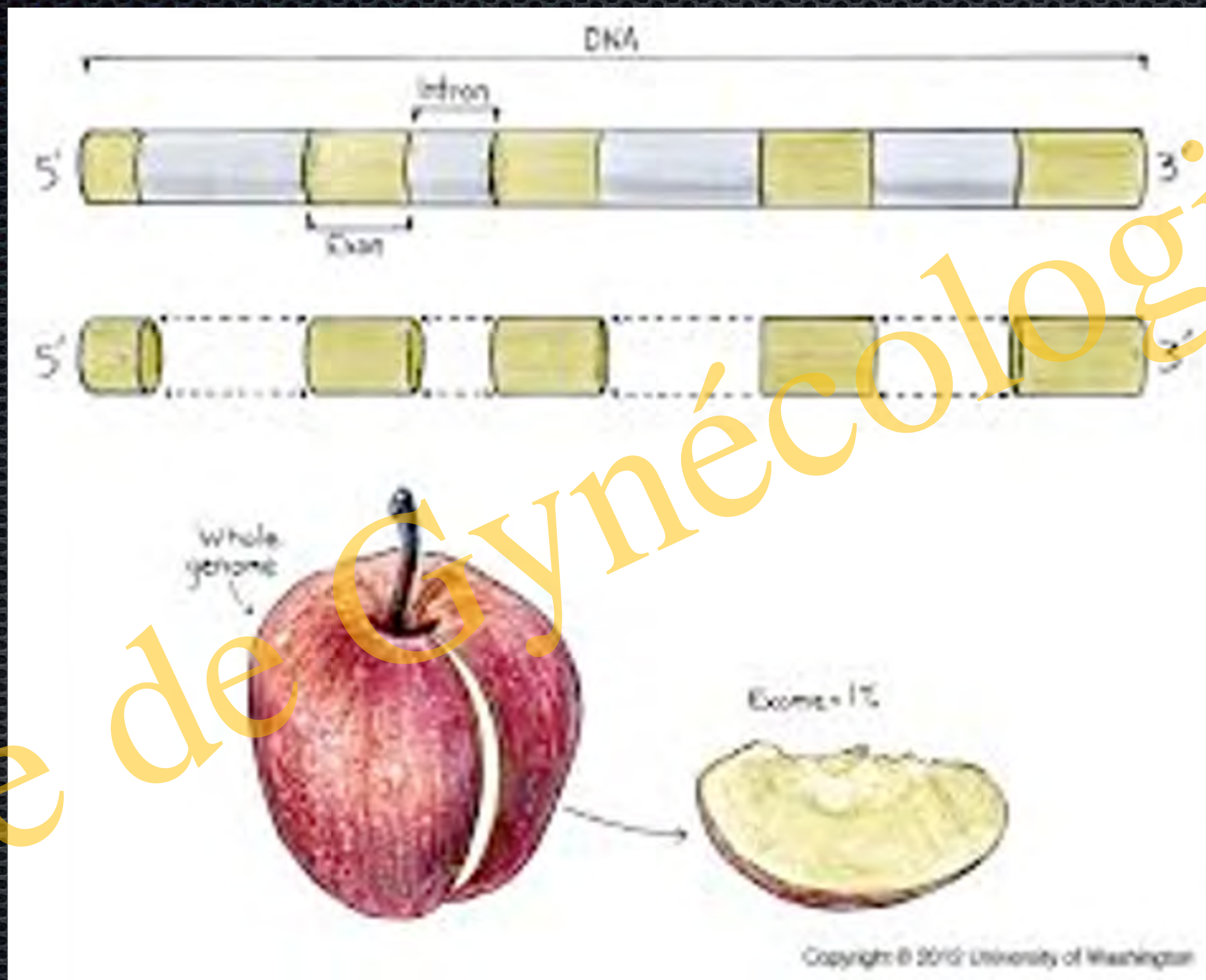
Etude des séquences codantes, 1% du génome

Site principale des mutations

Collège de

Cynécologie CVL

Collège de Gynécologie CML



Le séquençage de l'exome entier (WES) est le séquençage des exons qui comportent tous les gènes codant pour les protéines du génome.

Le séquençage de l'exome entier comprend deux étapes:

- La première consiste à cibler les séquences dans l'exome humain uniquement. (En génétique humaine, ces régions cibles représentent environ 60 millions de paires de bases, soit environ 1% du génome humain de référence.)
- La deuxième étape consiste à séquencer l'ADN à l'aide de n'importe quelle plateforme de séquençage d'ADN à haut débit et à analyser les résultats.

Le WES permet de rechercher des variations ponctuelles au niveau de la séquence codante de tous les gènes identifiés dans le génome humain ainsi que les délétions ou duplications (CNV), avec une performance comparable à celle de l'analyse par ACPA.

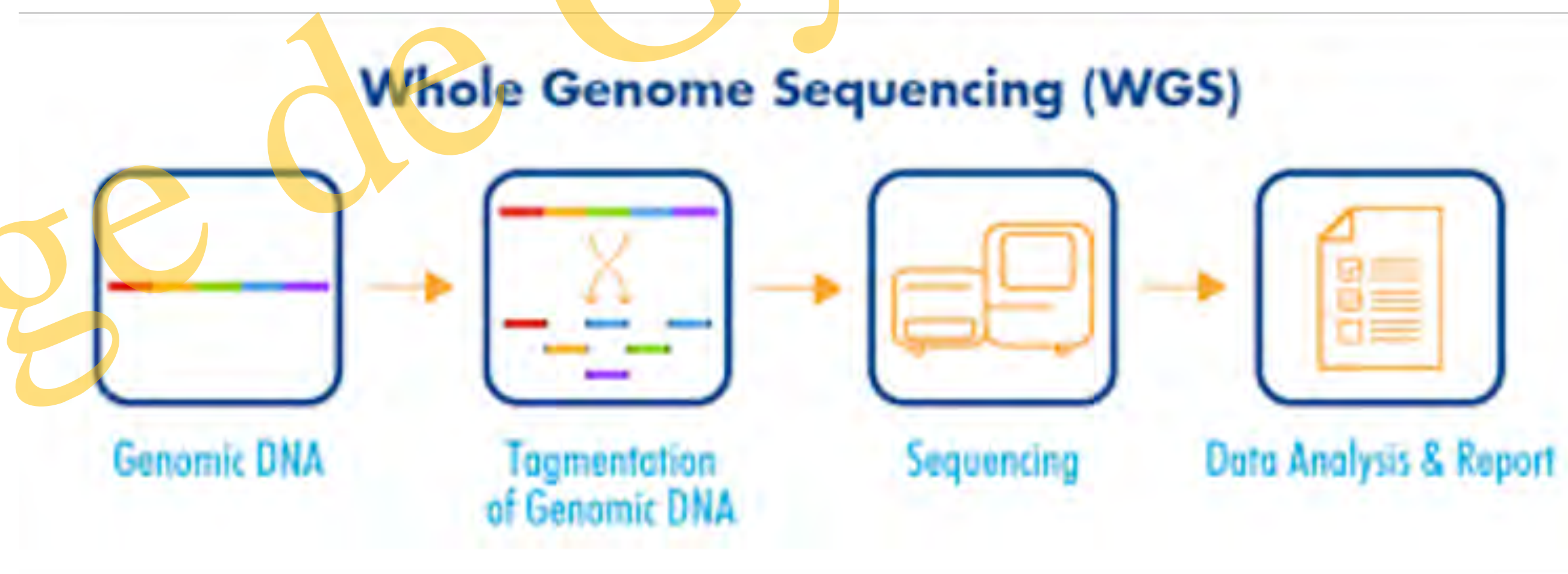
Collège de Gynécologie

Etude du Génome Complet
Whole Genome Sequencing

Collège de Gynécologie CVL

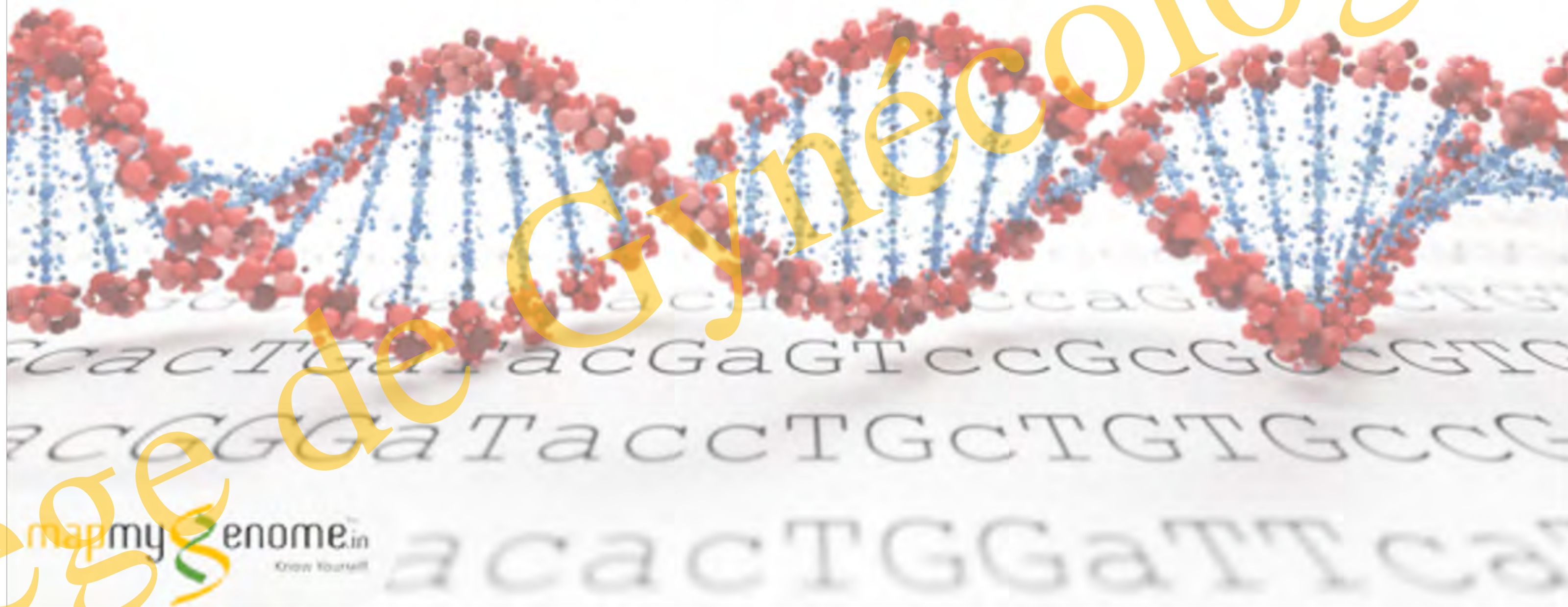
Intérêt du whole génome

- ▣ Recherche les mutations rares, hors des exons
- Mutations du promoteur
- Mutations introniques



Whole Genome Sequencing

- All you need to know



Collège de Gynécologie CVL

Whole Genome Sequencing vs Exome Sequencing

More Information Online WWW.DIFFERENCEBETWEEN.COM

	Whole Genome Sequencing	Exome Sequencing
DEFINITION	A technique that sequences the precise nucleotide order of the entire genome.	A technique that sequences the nucleotide order of the protein-coding genes (exome).
COST	High cost	Low cost
SEQUENCING INTRONS	Yes	No
TIME	Time-consuming	Comparatively lesser time is spent to perform exome sequencing.
USE	To look for genetic aberrations (g., single nucleotide variants, deletions, insertions and copy number variants).	Detection of rare and common genetic variants in humans.

Collège de Gynécologie C.V.V

Next-Generation Sequencing

Collège de Gynécologie CVL

Le NGS est particulièrement avantageux pour le séquençage ciblé, où des régions d'intérêt spécifiques sont amplifiées et séquencées de manière sélective.

Le NGS, ou aussi séquençage à haut débit: Utilisation de plateformes de séquençage massivement parallèles qui peuvent séquencer simultanément des millions de fragments d'ADN.

Collège de Gynécologie

Collège de Gynécologie CVL

Exemple

Indication +++ dans les IOP

INDICATION MASCULINE

(53) OATS

(54) ABCD

INDICATION FEMININE

(55) Diminution de la réserve ovarienne

(10) Infertilité non étiquetée

(52) Azoospermie

(08) Bilan pré ICSI / FIV / Don de gamètes

(56) IOP sporadique

(27) Suspicion de syndrome de Turner

(02) Suspicion de syndrome de Klinefelter

(10) Infertilité non étiquetée

(57) IOP familiale

TEST DEMANDÉ

Caryotype constitutionnel sanguin (code : 09703)

Recherche des mutations fréquentes du gène CFTR (code : CF139)
(+/-variant d'épissage IVS8 (T)(TG) +/- mutations rares) (test reflex)

Micro-délétions du chromosome Y (code : DELY)

Etude du gène FMR1 (syndrome X fragile) (code : FRAXA)

AC Anti-ovaires (code : 36901)

MTHFR (677 C>T)+ (1298 A>C) (code : MTHFR)

MTHFR (677 C>T) (code : 43208)

MTHFR (1298 A>C) (code : 43209)

AC Anti-testicules (code : 34206)

Chlamydia trachomatis : diagnostic moléculaire sur prélèvement Génital (code : CTPCR)

Panel Infertilité masculine* (193 gènes) (code : IS070)

Panel Infertilité masculine féminine* (204 gènes) (code : IS047)

Autres :

Collège de

de

Cyméologie

ologie

CVL

NGS vs WGS		
	More Information Online: WWW.DIFFERENCEBETWEEN.COM	
	NGS	WGS
DEFINITION	NGS is a massively parallel second-generation sequencing technology that is high throughput, low cost, and speedy	WGS is a comprehensive method of analyzing the entire genomic DNA of a cell at a single time by using various sequencing techniques
GENERATION OF THE SEQUENCING TECHNIQUE	Consists of only second-generation sequencing methods	Consists of first, second, and third generations sequencing methods
SPECIFIC SEQUENCING TECHNIQUES	Illumina sequencing, Roche 454 sequencing and ion torrent sequencing	Sanger sequencing, short gun sequencing, next generation sequencing, SMRT sequencing, pyrosequencing, and nanopore sequencing
PROCESS	Involves three basic steps: DNA fragmentation, sequencing the libraries, and data analysis	Involves identifying the order of bases of the whole genome in a single process, comparing the DNA sequence to a standard reference, and identifying the variations
SEQUENCING WHOLE OR PART OF THE GENOME	Does not sequence the whole genome	Entails sequencing all of an organism's chromosomal DNA
COST	Low cost method compared to WGS	High cost method compared to NGS
SPECIFIC SEQUENCING TECHNIQUES	De novo genome sequencing, whole-genome sequencing, transcriptome analysis, small RNA and micro RNA sequencing, targeted resequencing, whole-exome sequencing, etc.	Gene sequencing at SNP level to pinpoint functional variants in association studies, therapeutic intervention in personalized medicine, evolutionary biology, comparative genomic analysis, mutations and rearrangements studies, rare variant association studies, predicting disease susceptibility and drug response, etc.

Limites et difficultés

Patiente âgée de 42 ans G5 P3
1 garçon et 2 filles (respectivement 20; 18 et 12 ans)

12 SA+2: Clarté nucale à 4.4 mm, suspicion Cardiopathie
PVC ; ACPA RAS

18 SA1/2: D Faciale, rétrognatisme, Fente palatine, microtie, colobome rétinien;
Crosse aortique droite, cardiomégalie
hypospadias,

23 SA : Hypotrophie rénale bilatérale, LA en nette diminution, Image liquidienne anormale intra-abdominale
dyskinésie calleuse, hétérotopies péri-ventriculaires

Pas de désir ni de demande d'IMG (acceptée dès 18 SA par le CPDPN)

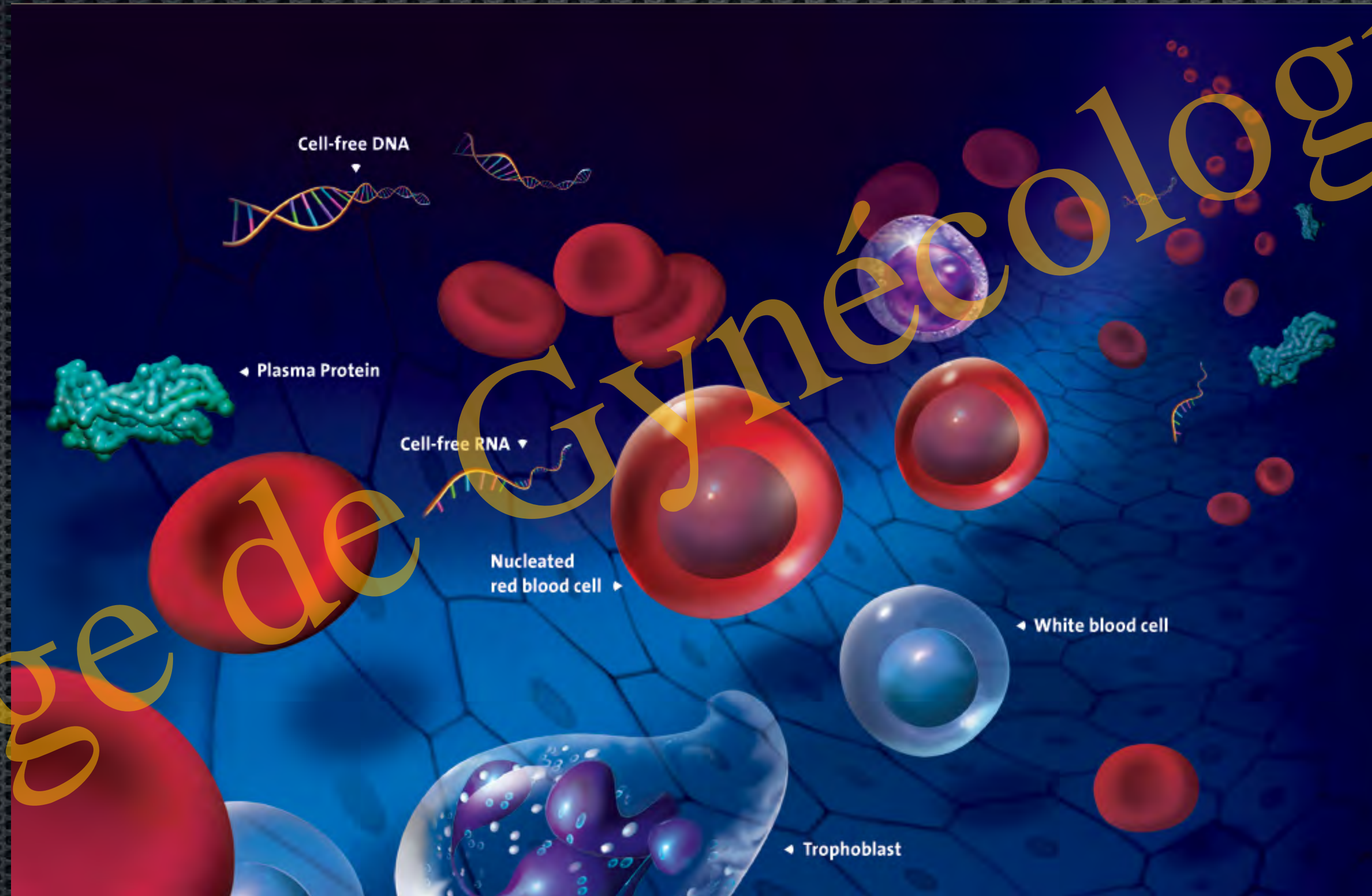
Exome en trio : RAS pour le Conjoint et sur LA

mais découverte d'une mutation BRCA 2 chez la patiente

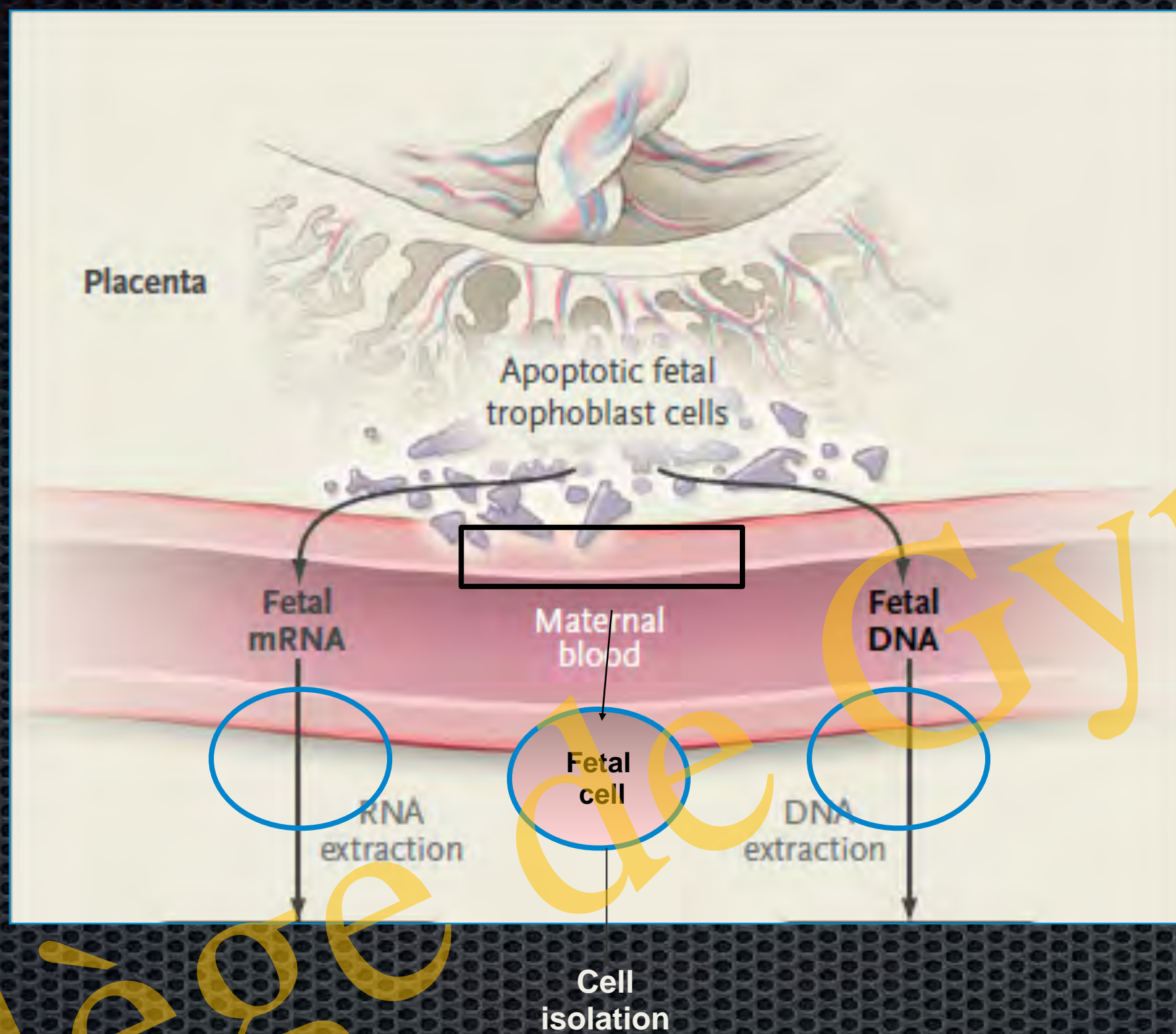
Collège de Gynécologie CVL

DPNI

Notion connue depuis le début du XXème siècle



Collège de Gynécologie CVL

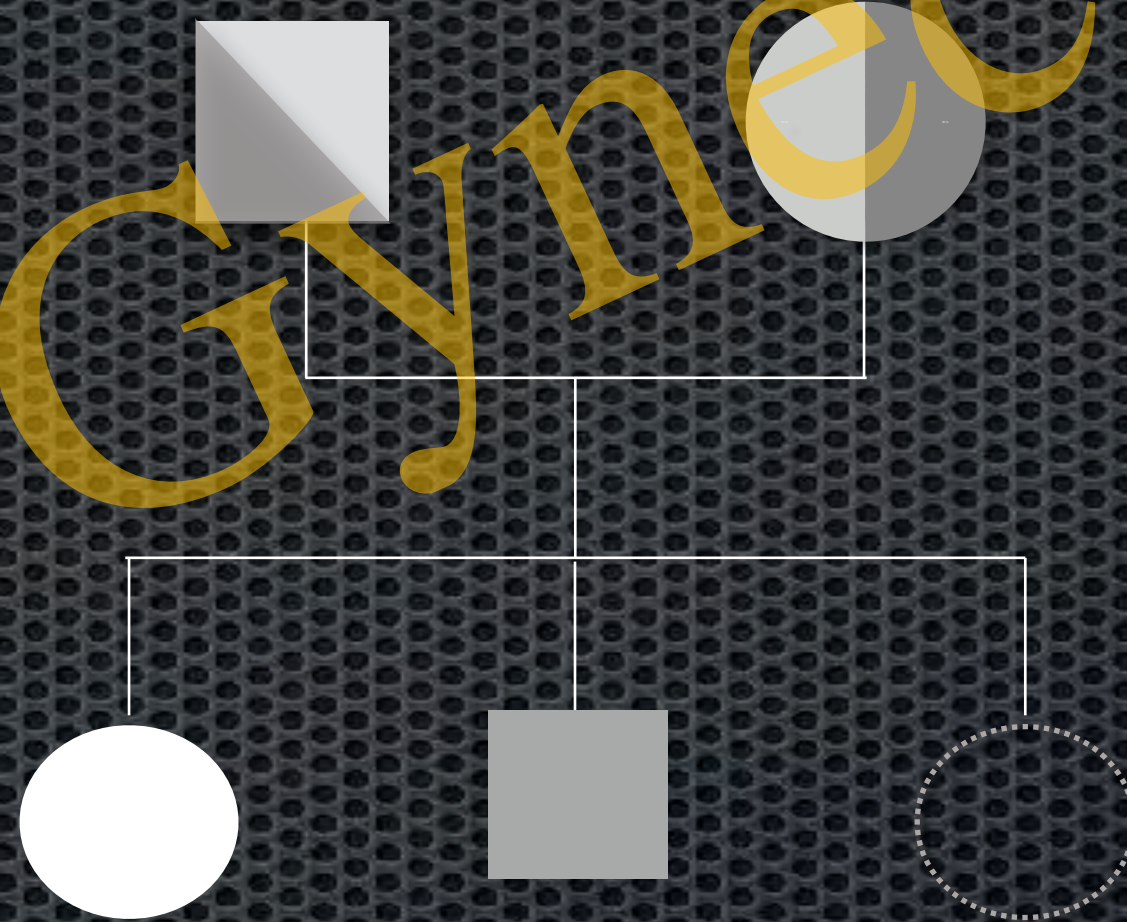


- Source: Cellules trophoblastiques
- Detection ≈ 5-6 SA
- Disparition rapide après accouchement
- Ne persistent pas après une grossesse

According Bodurtha J, Strauss JF III. N Engl J Med 2012;366:64-73.
 According J.M Costa

- *Mais le développement de la PCR en 1989-90 et surtout la mise en évidence de la séquence SRY dans le sang maternel de gestantes d'un fœtus de sexe masculin a permis de confirmer ces hypothèses et d'ouvrir la voie à cette piste de recherche*

voire aussi pour débuter un traitement maternel dans le cas
d'hyperplasie congénitale des surrénales



Collège de Gynécologie CVL

ANALYSE PAR SÉQUENCAGE PARRALLÈLE MASSIF (MPS)



Calcul de la fraction du Ch 21

=% seq de 21 par rapport au total du séquençage de tous les chromosomes

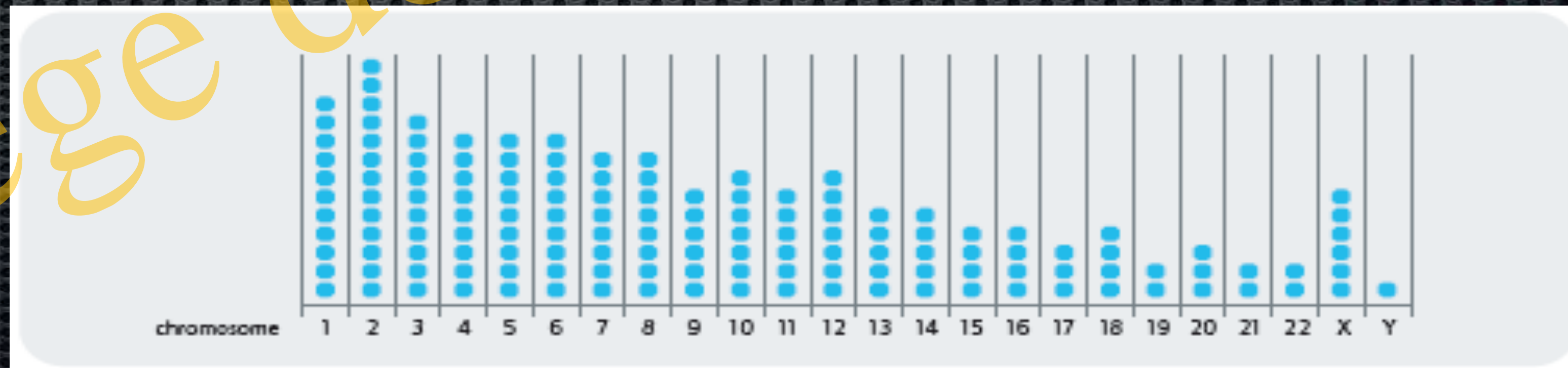
Puis Calcul du Z-score

=%21moyenne de l'échantillon %21reference/DS
mediane%21reference

Interpretation

TCCGCCAGGCCATGAGGGACGGAAATGGCTGAT

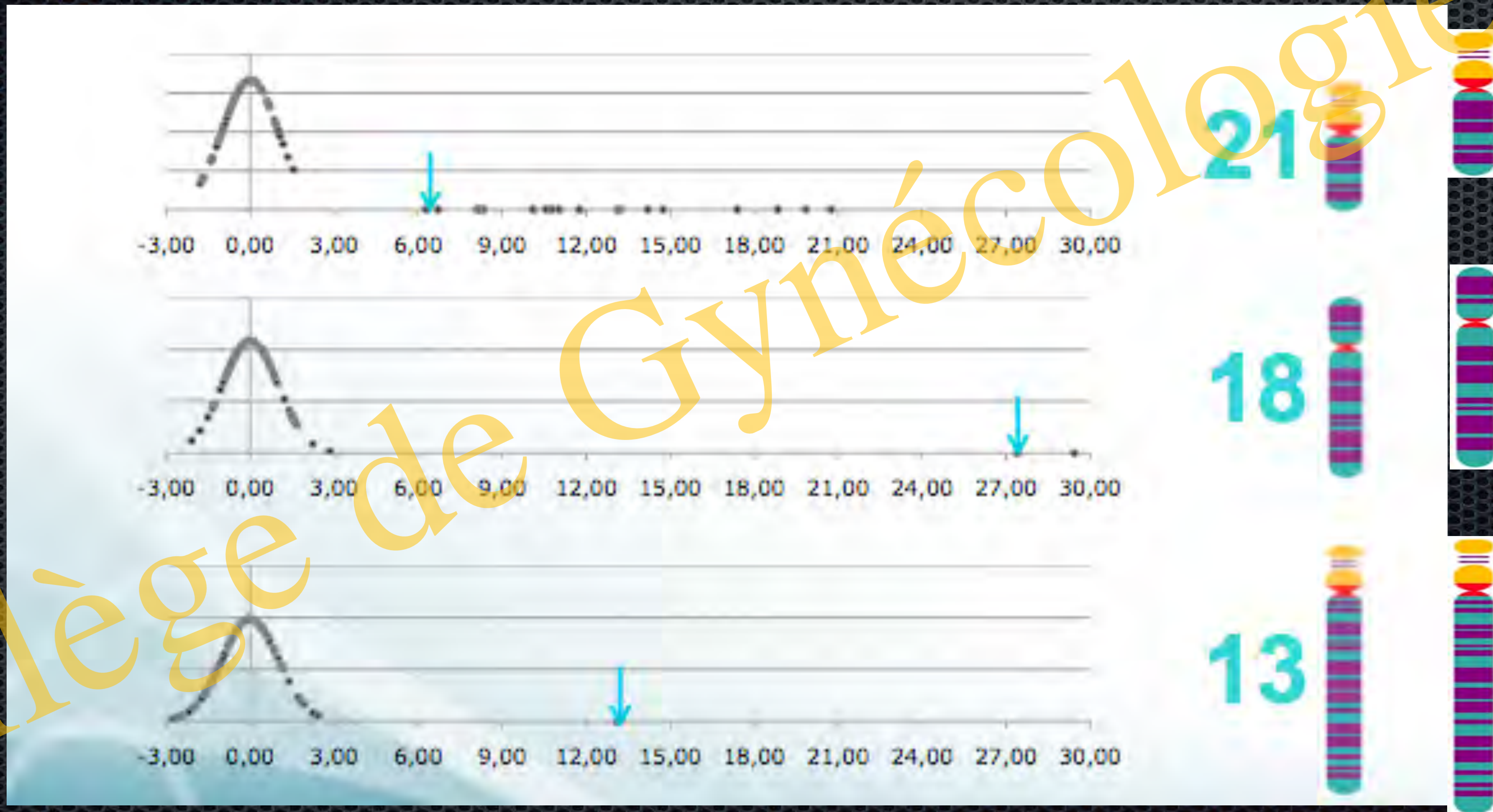
x9 10+6/sample



According J.M Costa

ANALYSE PAR SÉQUENCAGE PARRALLÈLE MASSIF (MPS)

Un Z-score de 3 signifie que la valeur de la mesure est déportée de 3 DS de la cible.
La probabilité de trouver ce chiffre de façon physiologique (non pathologique) est de 0.17% pour une population normale

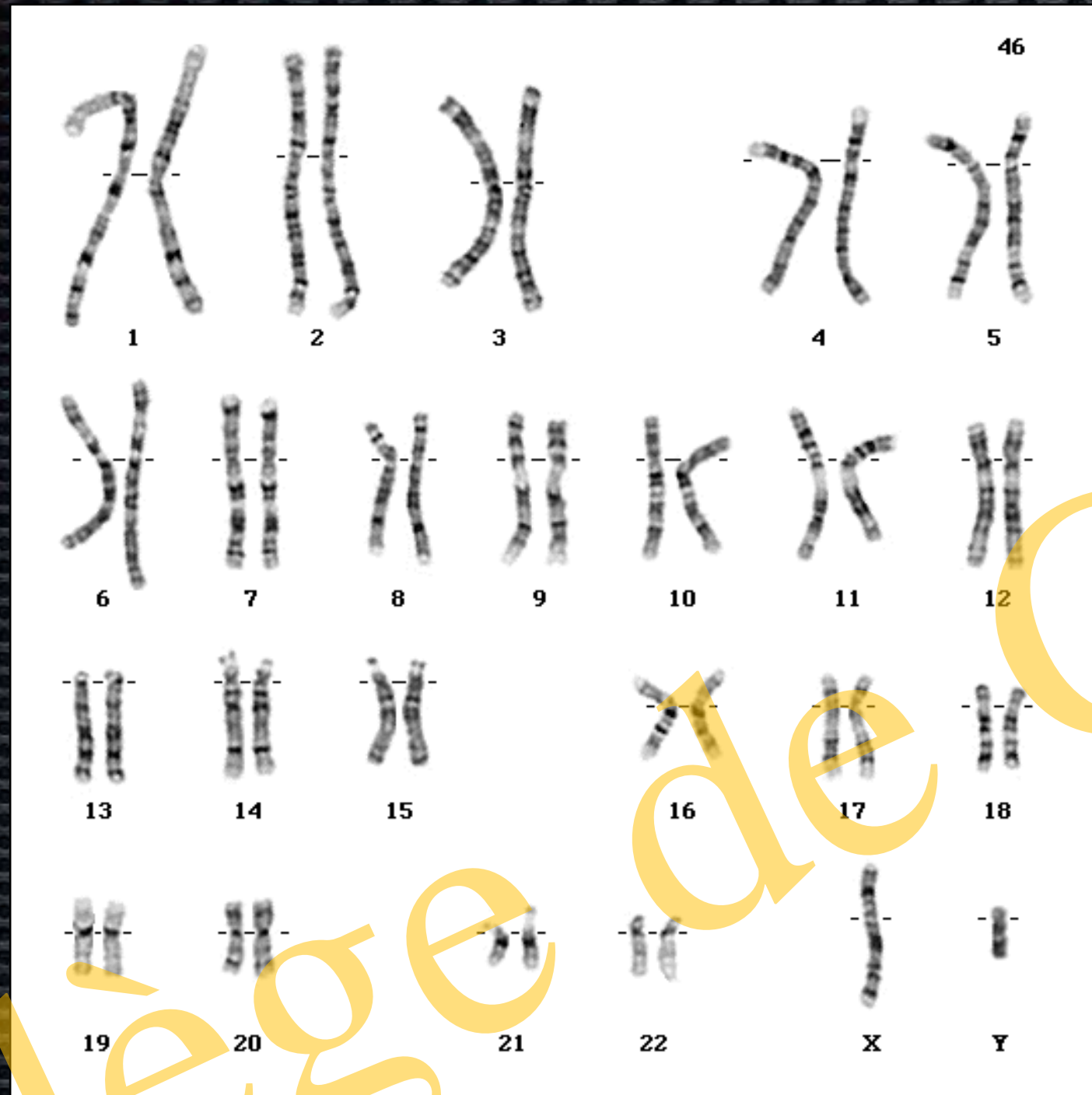


According J.M Costa

Tests d'ADN libre circulant pour le dépistage des aneuploïdies

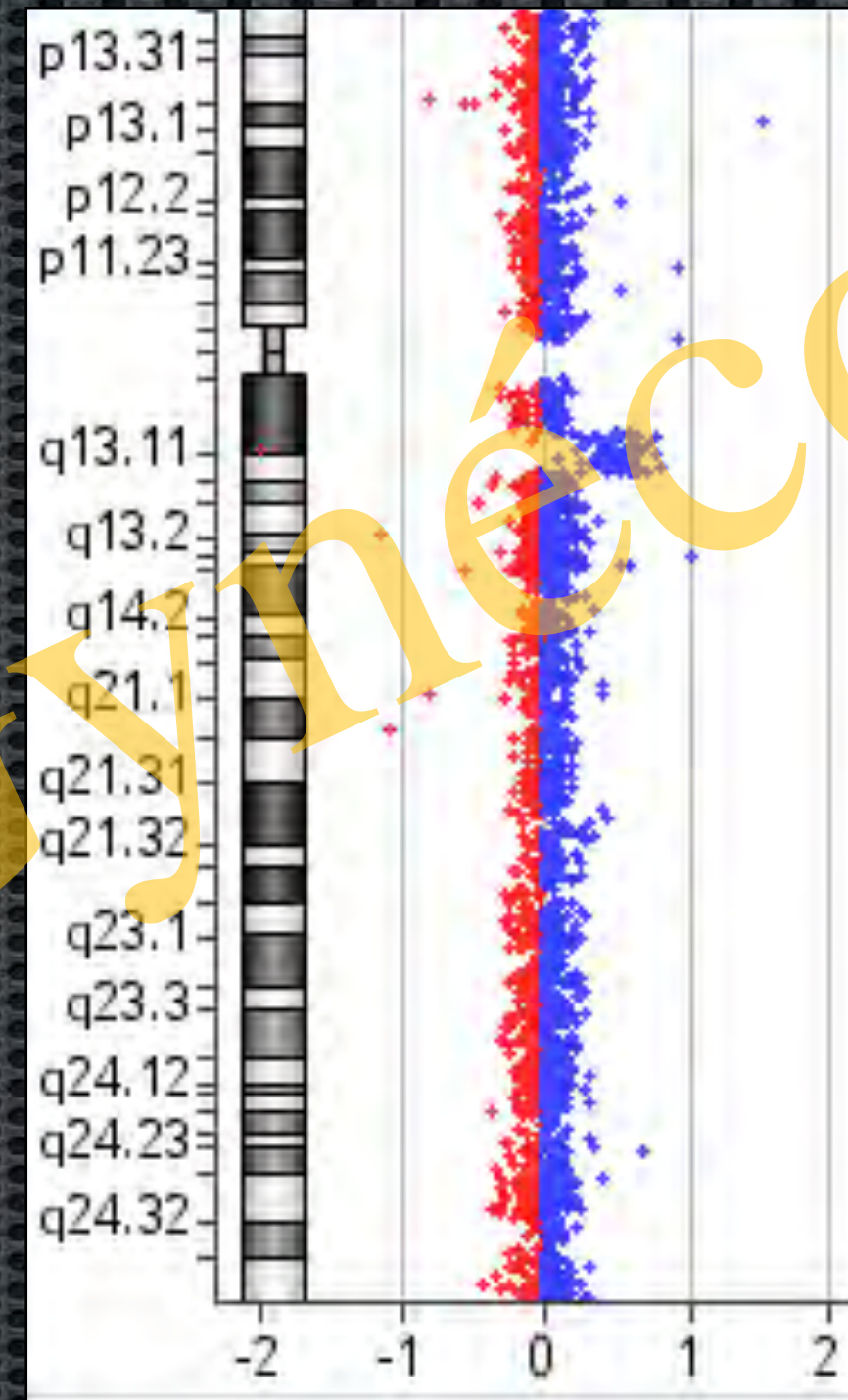
Pas une étude globale du génome contrairement au caryotype et à la CGHarray

Caryotype



Étude globale du génome

CGHarray



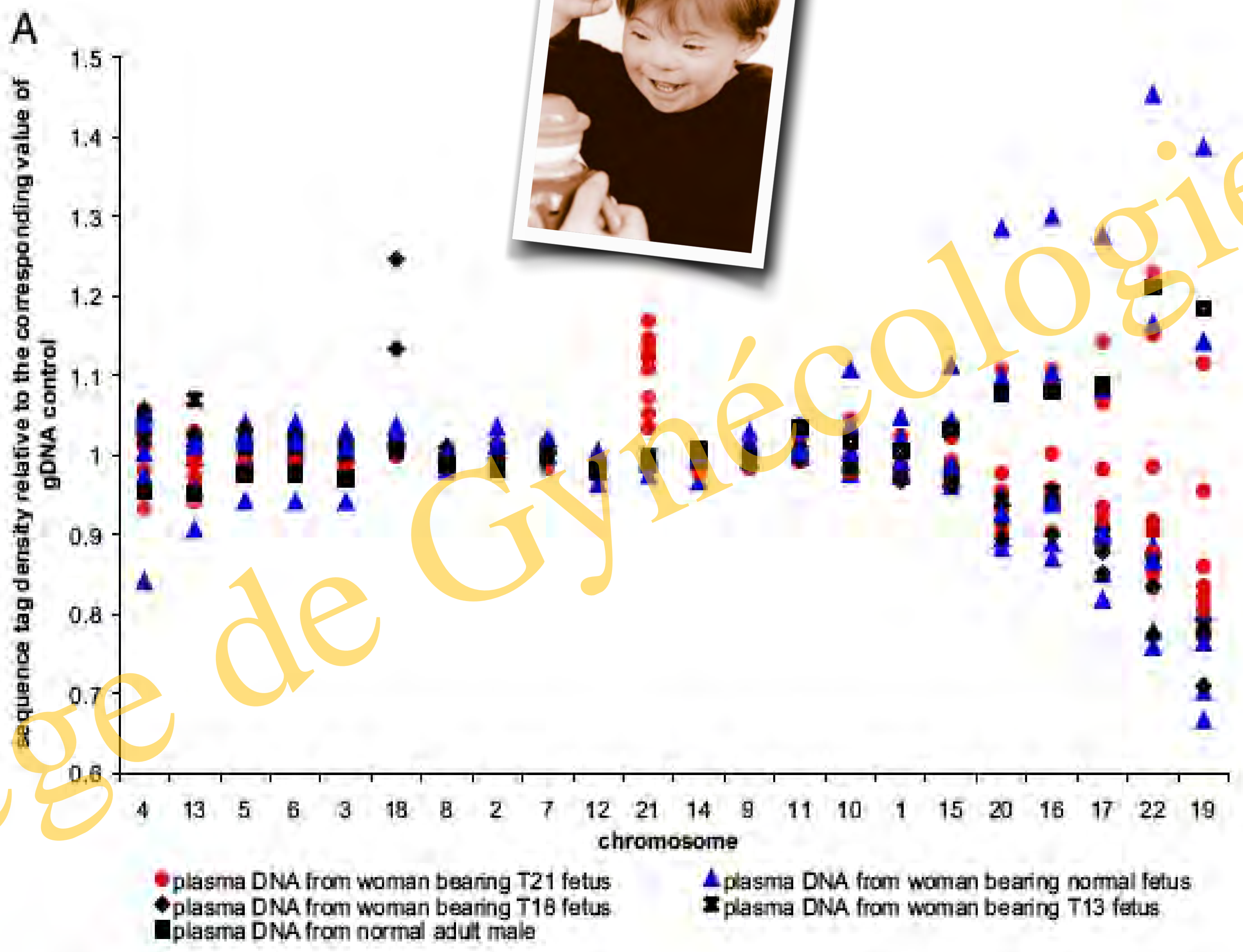
Étude globale du génome

ADN foetal lc



Étude ciblée du génome

T21/18/13/ dysgonosomies +/- Sd microdélétionnels



Collège de Gynécologie

CVL

Séquencage haut débit

Technique fiable aussi pour la trisomie 13 et 18

Puis pour les CNVs surtout si > 7 Mb
Délétion et duplication

Et par conséquence d'autres anomalies foetales

Les anomalies des gonosomes

T16, T22

1p-, 22q-, 4p-, 8q-...

Echographie T1

CN \geq 3,5 mm
Malf Foetale

CN \leq 3,5 mm

Pas de mesure de la CN

Invasif /ACPA

Risque combiné
11-13,6SA

Risque intégré
16-17,6 SA

MSM seuls au T2
15-17,6SA

$> 1/50$

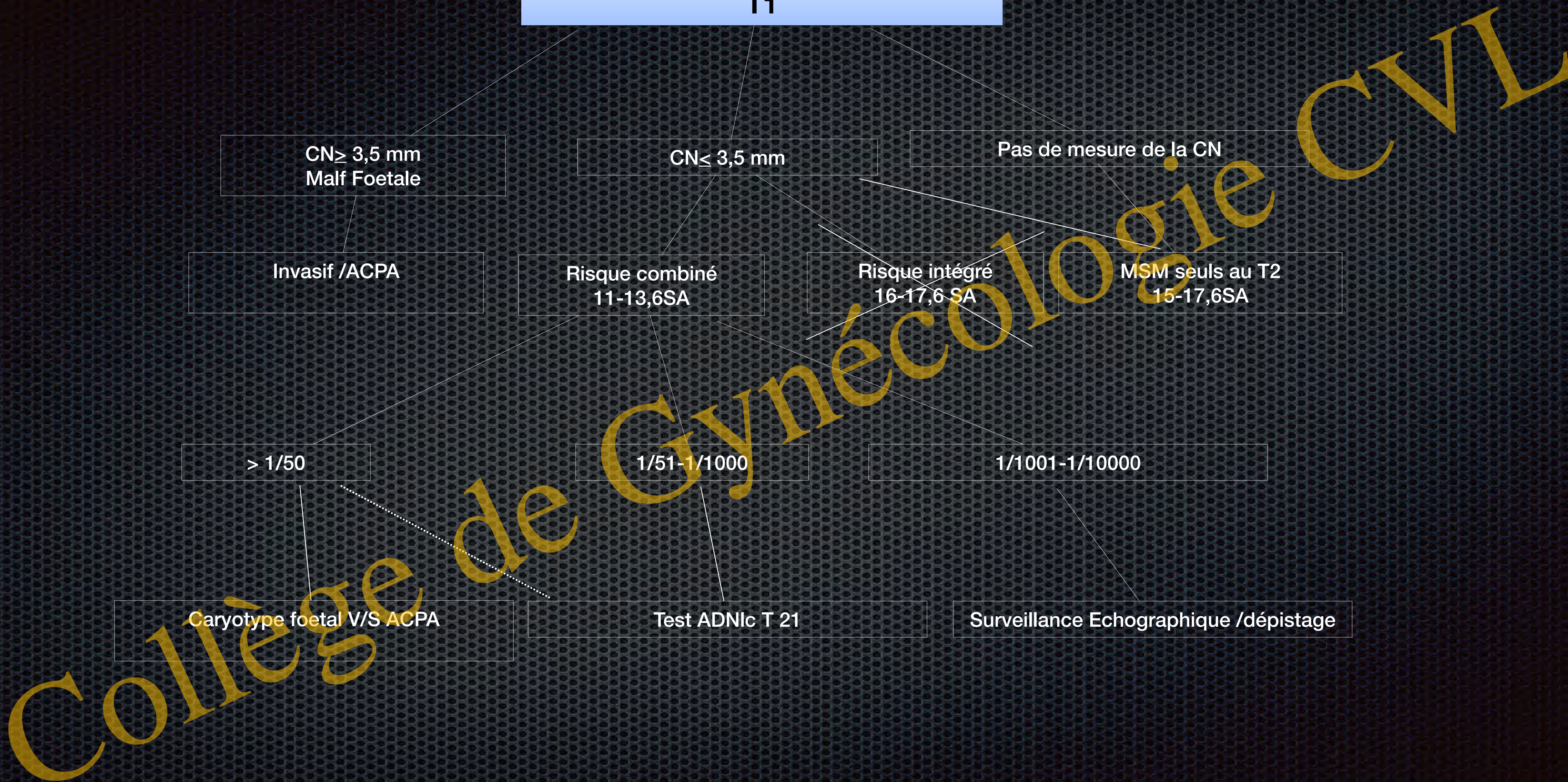
$1/51-1/1000$

$1/1001-1/10000$

Caryotype foetal V/S ACPA

Test ADNlc T 21

Surveillance Echographique /dépistage



Test ADN Ic T21



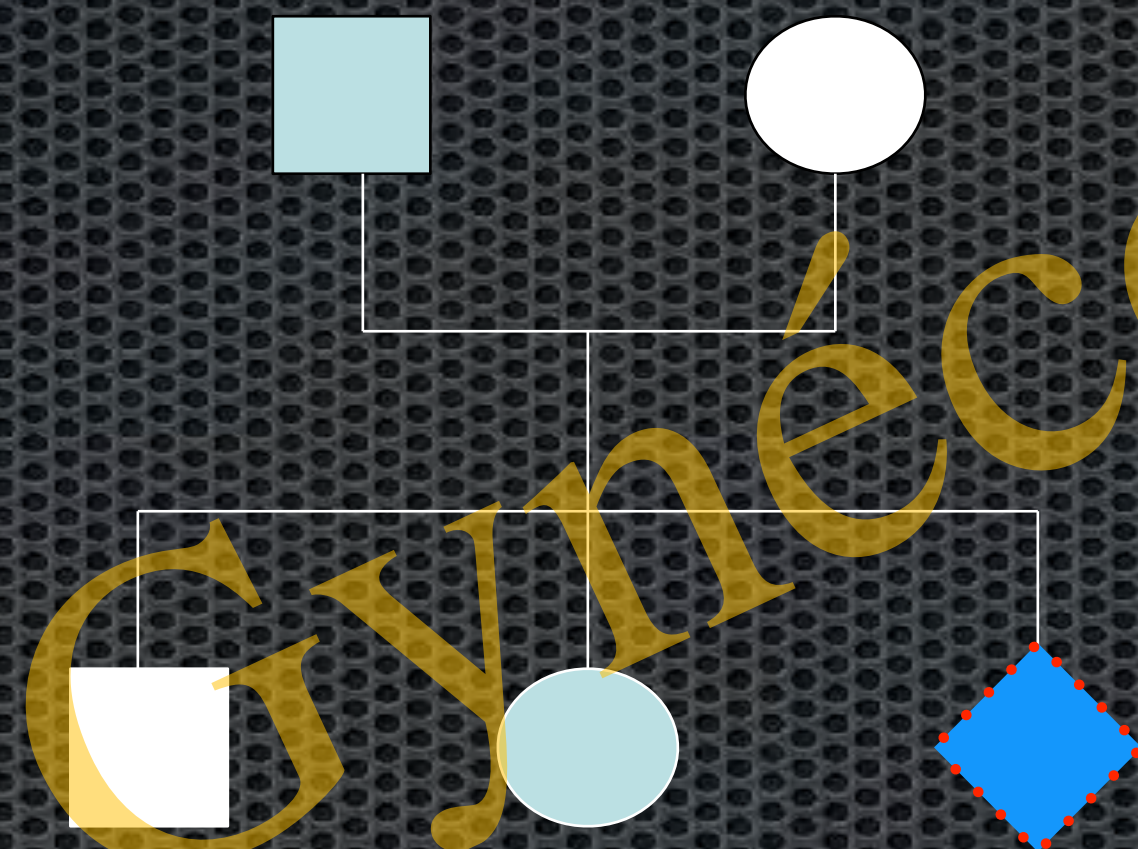
Collège de Gynécologie CML

- *ADNIcT21 possible :*
 - *Grossesse multiples*
 - *ATCD grossesse avec trisomie 21*
 - *Selon conseil génétique parent porteur d'une TR impliquant un chromosome 21*
- *Invasif possible voire DPNI :*
 - *A titre exceptionnel : Patiente de plus de 38 ans vue après 18 SA (entente préalable)*

Elargissement des indications notamment dans
les indications de maladies monogéniques

Collège de Gynécologie CVA

pathologie dominante autosomique portée par le conjoint,



Par exemple STB, NF1.....

Collège de Gynécologie CVL

*pathologie récessive mais avec des mutations
différentes chez les parents*



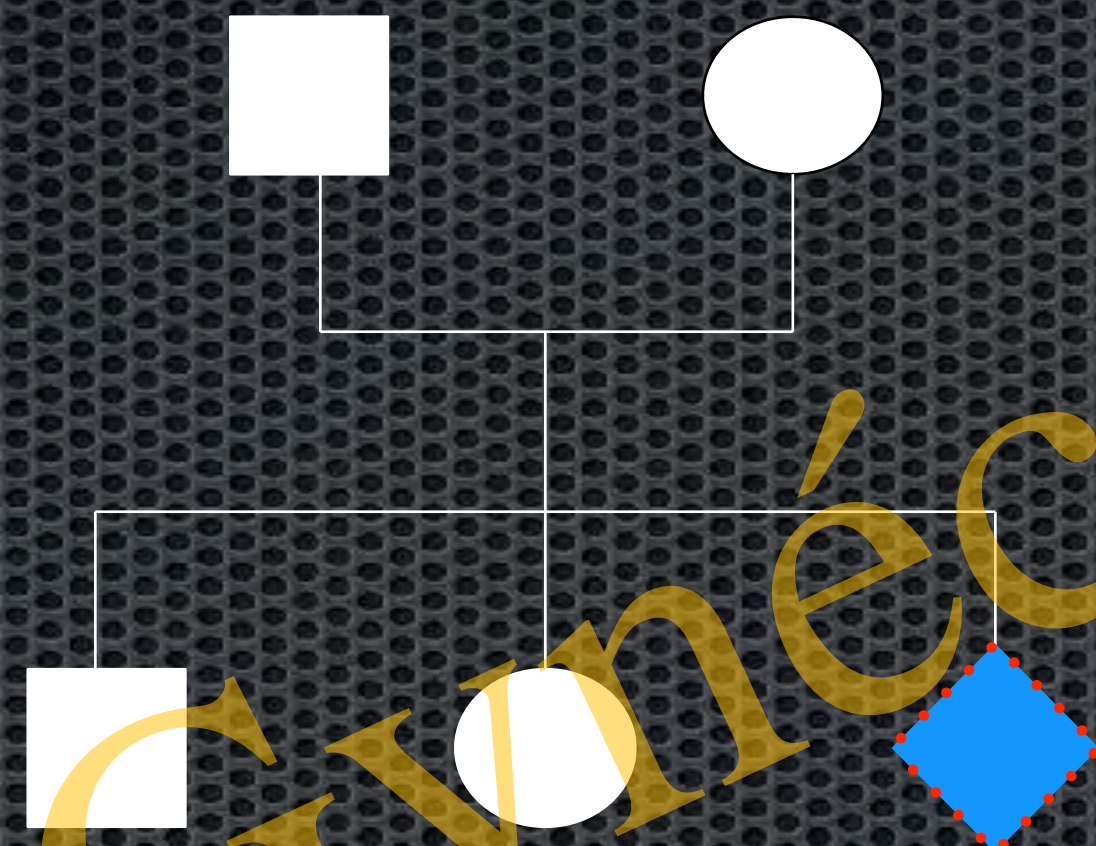
**Par exemple CF, Myopathie des
ceintures**

Maladie récessive liée à l'X



Collège de Gynécologie CML

Aussi sur signes d'appel échographique lors d'une suspicion d'une pathologie monogénique, fruit d'une néomutation

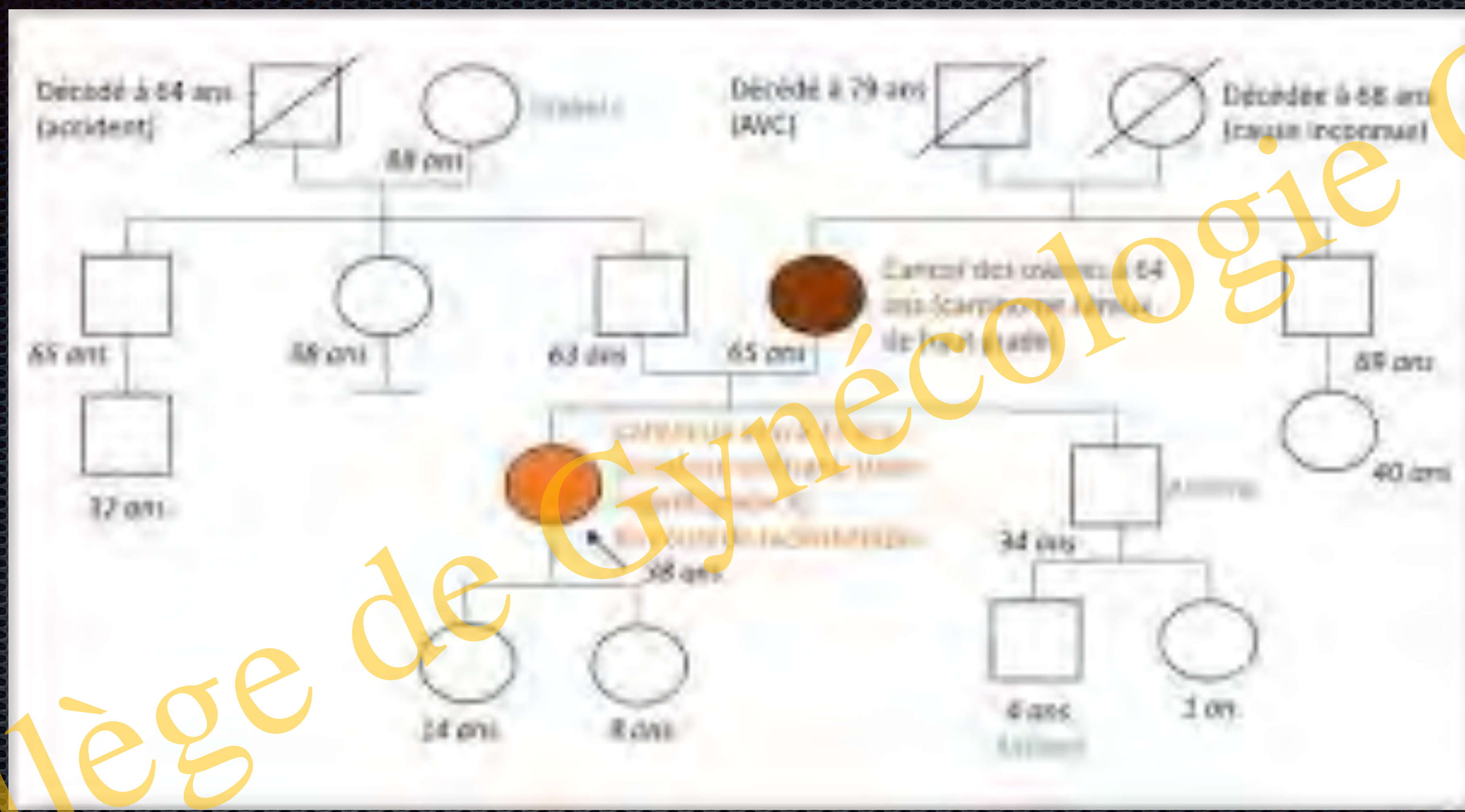


Achondroplasie (mutation du gène FGFR3)

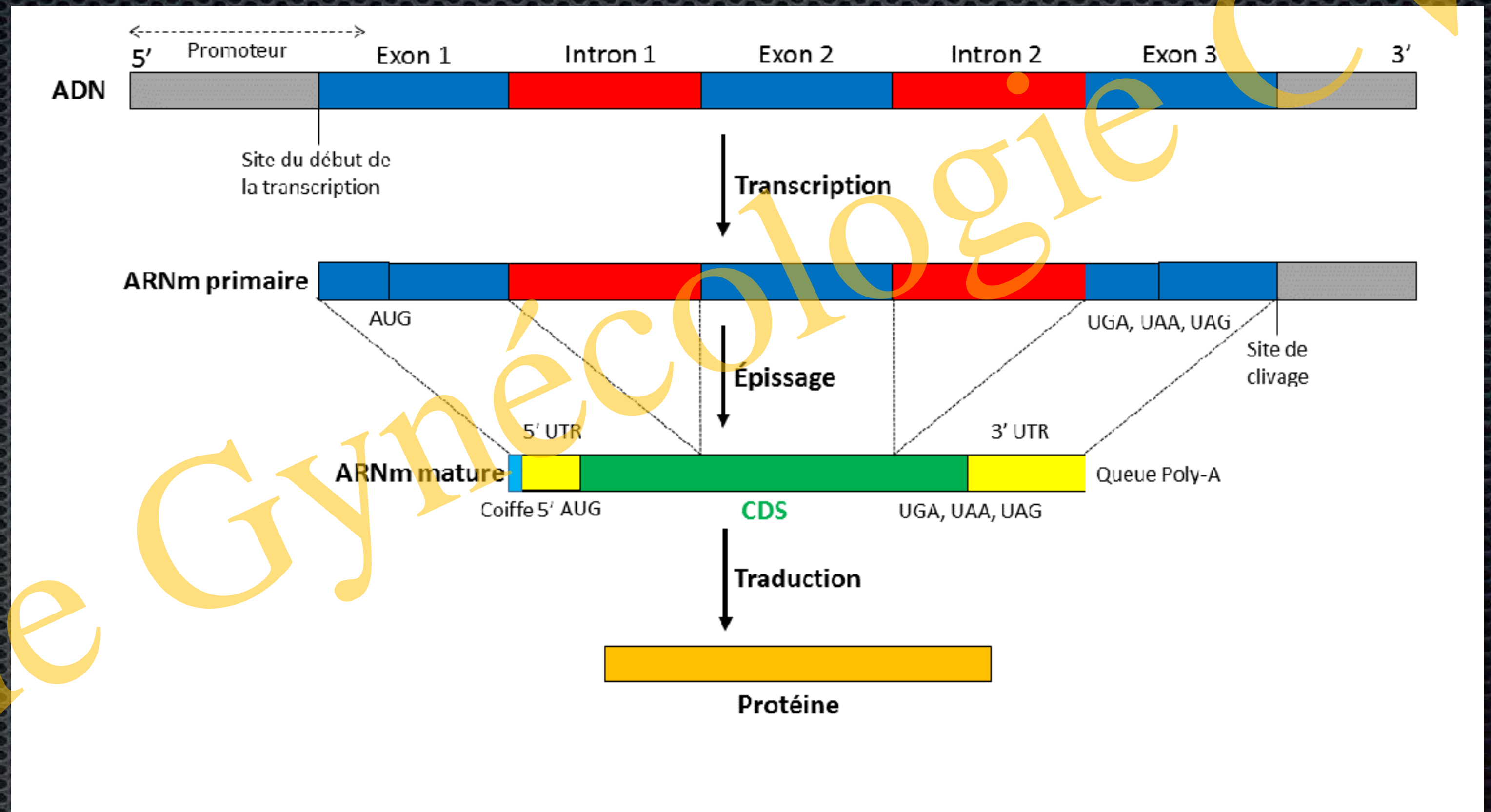


ONCO-GENETIQUE

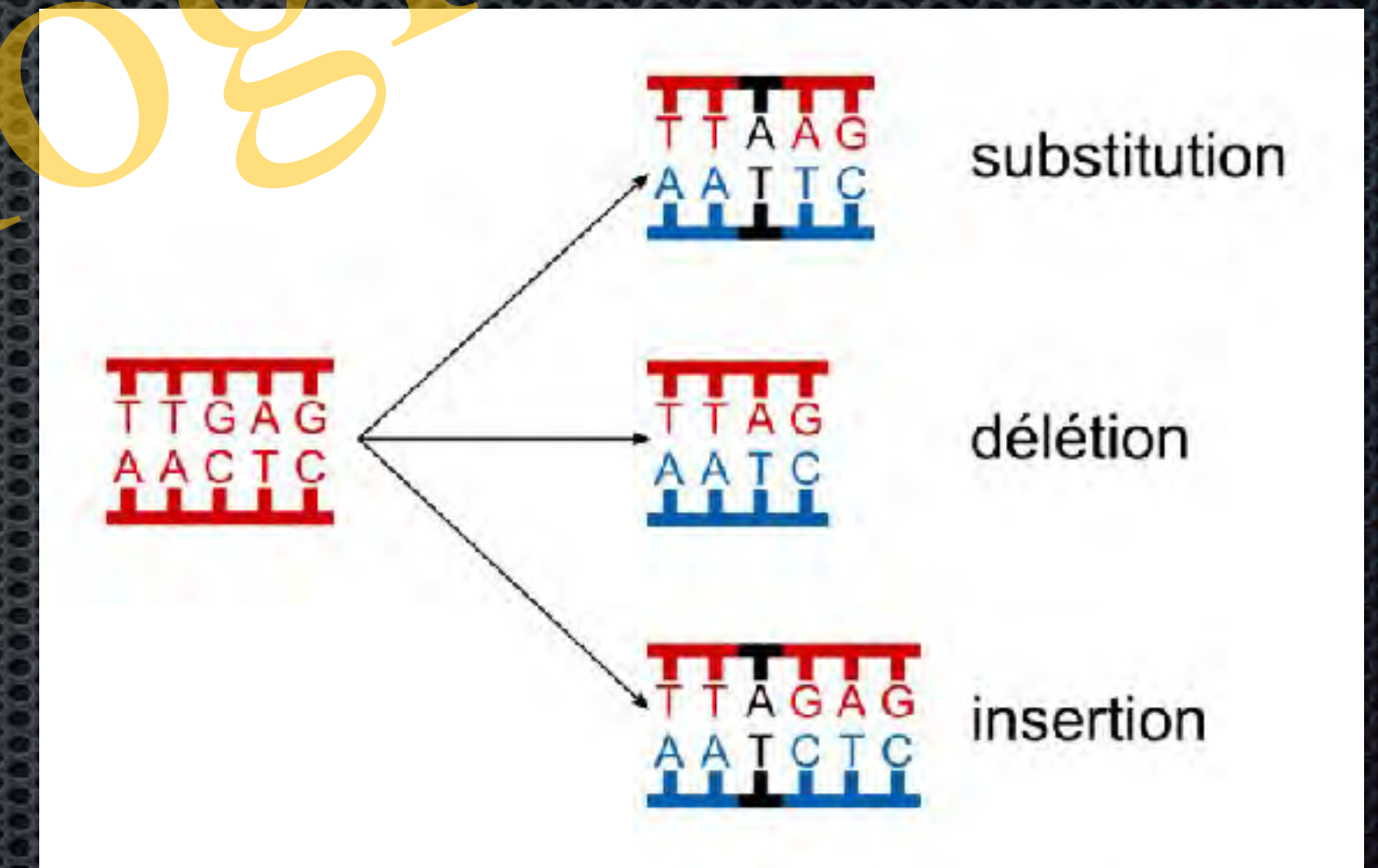
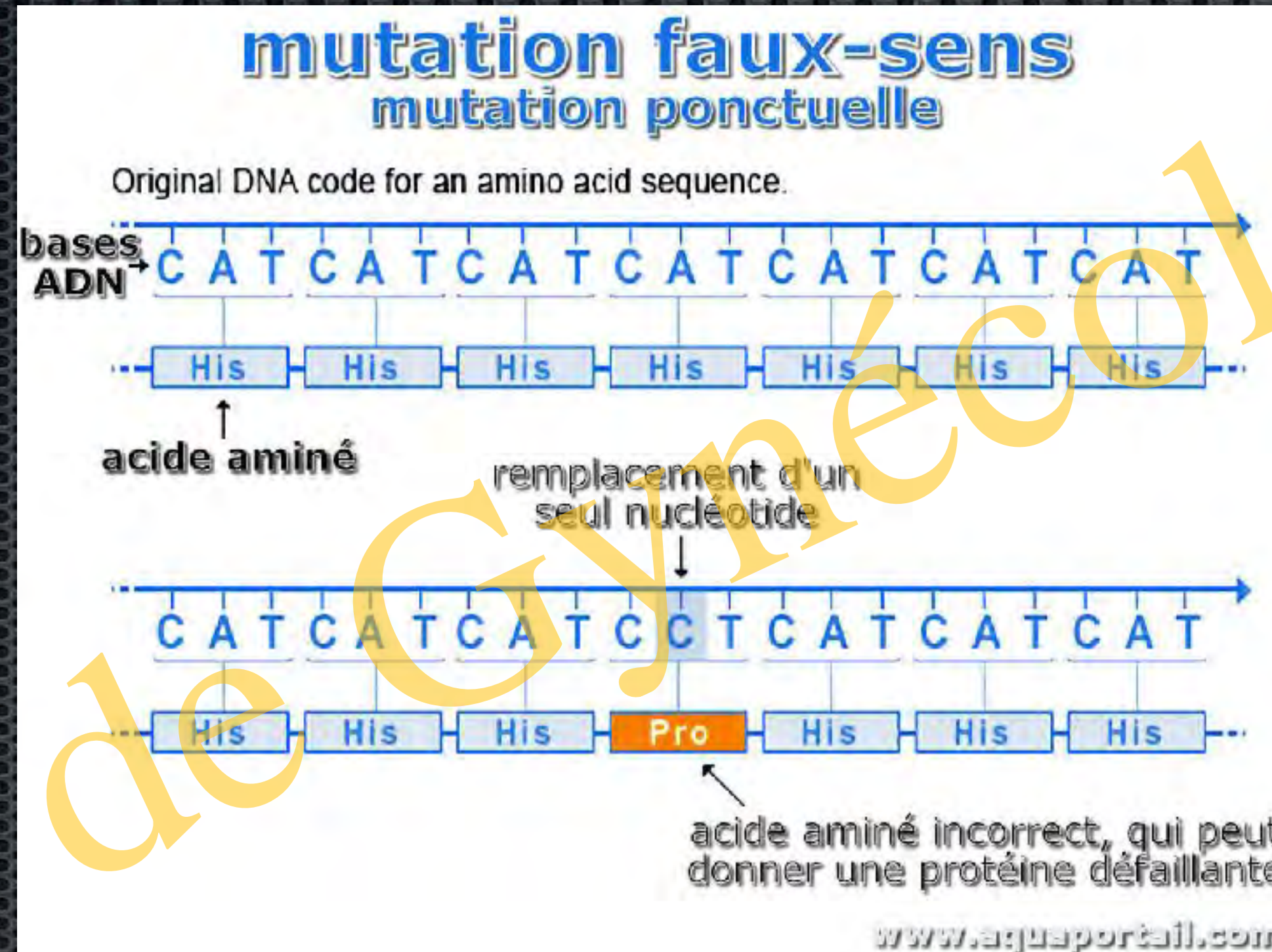
Collège de Gynécologie CVL



Un gène

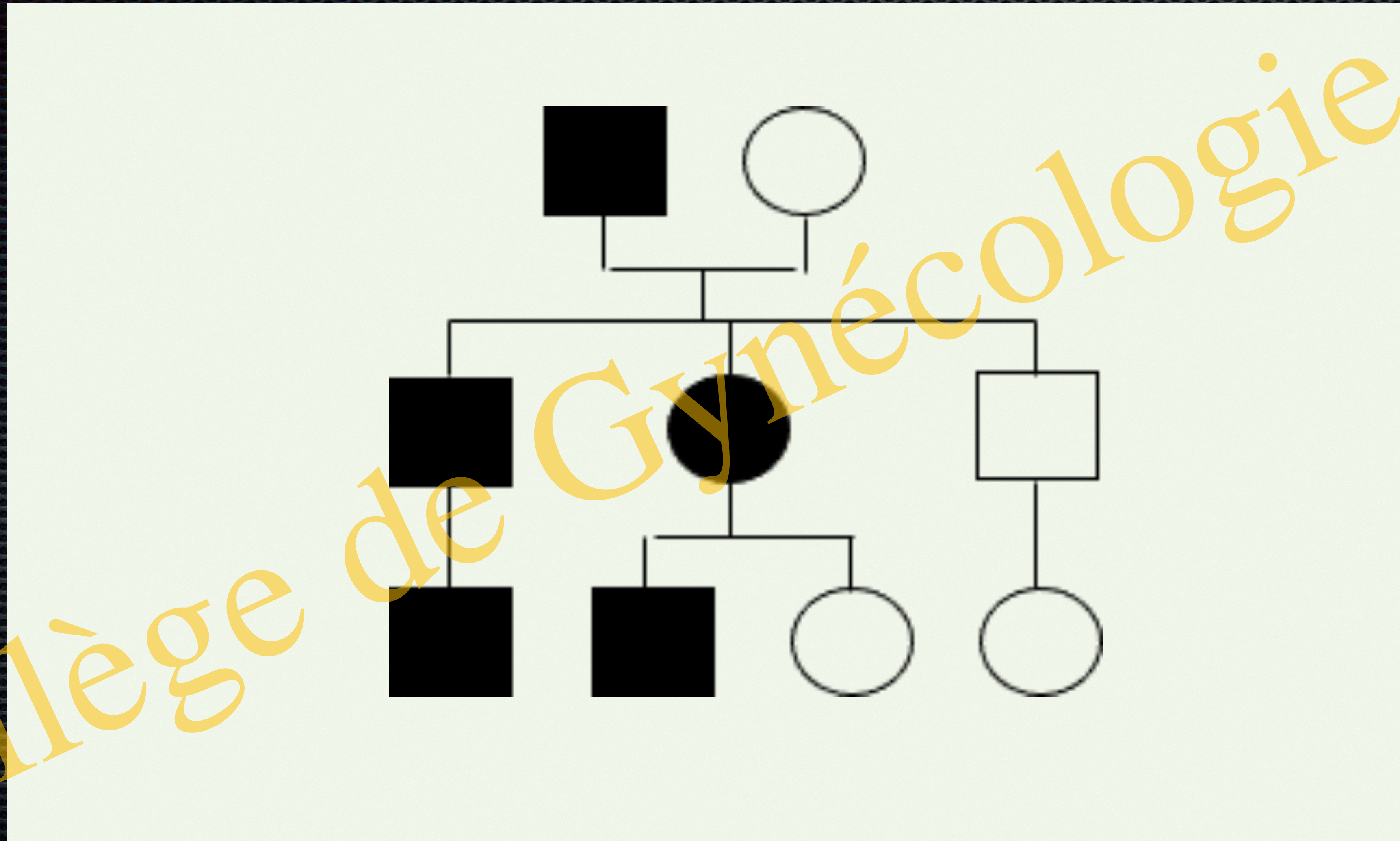


Anomalie génétique :
anomalie au niveau d'un
gène



Collège

Transmission autosomique dominante



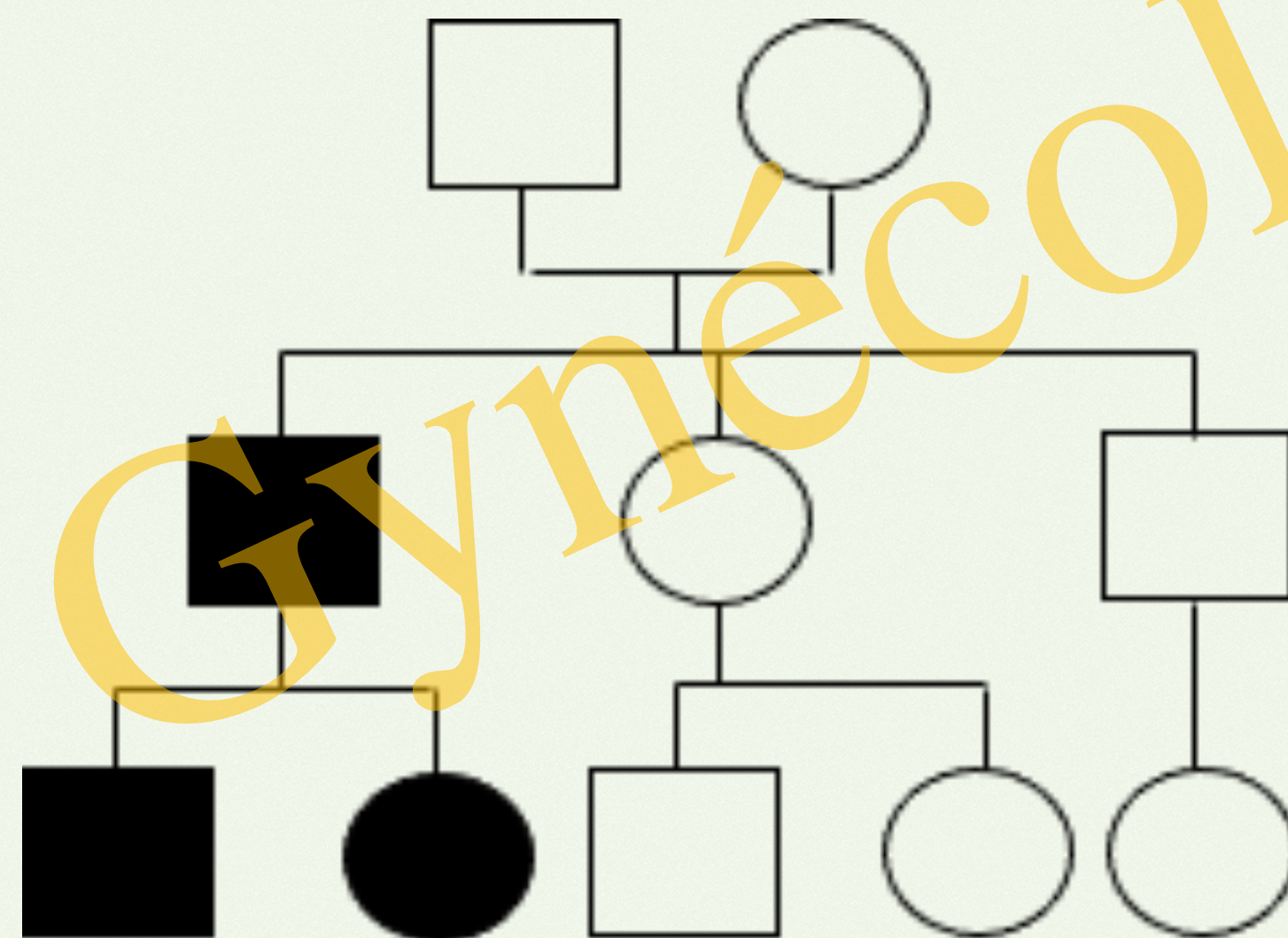
Collège de

de

Gynécologie

CVL

De novo



Collège de Gynécologie CVA

Score Eisinger

CALCUL DU SCORE D'EISINGER ET CONDUITE À TENIR

Mutation BRCA1/2 identifiée dans la famille	5
Cancer du sein chez une femme avant 30 ans	4
Cancer du sein chez une femme entre 30 et 39 ans	3
Cancer du sein chez une femme entre 40 et 49 ans	2
Cancer du sein chez une femme entre 50 et 70 ans	1
Cancer du sein chez un homme	4
Cancer de l'ovaire avant 70 ans	4

RÉSULTATS

3 ou + :

consultation d'oncogénétique

Inférieur à 3 :

dépistage organisé

Source : Cancer du sein - Quelles modalités de dépistage, pour quelles femmes ? (INCa, septembre 2015)

Indications de consultation oncogénétique

- Indication Théranostique: indication des anti-PARP
 - *K sein avancé ou métastatique Her2 négatif*
 - *K ovaire (mise en évidence d'une mutation tumorale ou constitutionnelle)*
 - *Panel HBOC 13 gènes Ou Panel complet sein/ovaire et prostate*
- Indication Théranostique & ATCD carcinologiques familiaux
 - *Panel HBOC 13 gènes Ou Panel complet sein/ovaire et prostate*

- Indications pour antécédents carcinologiques Familiaux:

prise en charge de prévention pour le ou la patient.e et ses apparentés

Consultation oncogénétique et demande d'analyse du Panel HBOC ou

panel Complet sein/ovaire et prostate

Indication consultation oncogénétique

- 3 cancers du sein dans la même branche parentale
- 2 cancers du sein dans la même branche parentale dont :
 - 1 bilatéral
 - ou 1 diagnostiqué avant 40 ans
 - ou 2 diagnostiqué avant 50 ans
- Un cancer du sein + un cancer de l'ovaire (même personne ou apparenté au 1er degré ou 2ème degré si branche paternelle)
- Un cancer du sein diagnostiqué avant ou à 30 ans (35-40 ans)
- Un cancer du sein isolé triple négatif diagnostiqué avant 50 ans
- Un cancer du sein isolé chez l'homme
- Un cancer de l'ovaire isolé séreux de haut grade quel que soit l'âge

Panel HBOC

Recommandé par le GGC Groupe Génétic Cancer

Soit 13 gènes : BRCA1, BRCA2, PALB2, CDH1, PTEN, TP53, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, RAD51C, RAD51D

+ ou - Panel complet sein/ovaire et prostate soit 27 gènes

ATM, BRIP1, BARD1, CHEK2, NF1, NBN, MUTYH, RAD50

Classement des variants

Classement ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics : 1 à 5

Classe 1 : Bénin

Classe 2 : Probablement Bénin

Classe 3 : VOUS Variant of uncertain significance ou VSI variant de signification inconnue

Classe 4 : Probablement pathogène

Classe 5 : Pathogène

Collège de

de

Gynécologie

- **En prénatal** : Risque combiné, DPNI, FISH, Caryotype, ACPA , Exome, NGS
- **Reproduction**: Caryotype , NGS dans IOP, infertilité masculine et féminine
- **Oncogénétique** : Théranostique, prévention pour les apparentés, HBOC et plus
- **Pluridisciplinarité** : Gynéco-Obstétriciens, Oncologues, Echographistes, généticiens, conseillers en génétique, Pédiatre, neurologues, cardiologues, radiologues