

RECOMMANDATIONS POUR L'INTERPRETATION CLINIQUE DES CNV (COPY NUMBER VARIATIONS)

Septembre 2022

Groupe de travail : Jean-Michel **Dupont** (Paris), Matthieu **Egloff** (Poitiers), Paul **Kuentz** (Besançon), Valérie **Malan** (Paris), Chantal **Missirian** (Marseille), Céline **Pebrel-Richard** (Clermont-Ferrand), Serge **Romana** (Paris), Caroline **Rooryck-Thambo** (Bordeaux), Anne-Claude **Tabet** (Paris), Detlef **Trost** (Paris)

Coordination : Matthieu **Egloff** (Poitiers), Céline **Pebrel-Richard** (Clermont-Ferrand)

Relecture : Paul **Kuentz** (Besançon)

Table des matières

I/ Prérequis : arguments	3
A. Données épidémiologiques _	3
B. Données de ségrégation	4
C. Données structurales	4
1. Taille du CNV	4
2. Contenu génique.....	5
3. Nombre de copies	6
II/ Classification	8
◆ PIEV : CNV de susceptibilité aux troubles neuro-développementaux, à <u>P</u> énétrance <u>I</u> ncomplète et/ou <u>E</u> xpressivité <u>V</u> ariable	8
◆ Classe 5 : CNV pathogène	9
◆ Classe 4 : CNV probablement pathogène	9
◆ Classe 3 : VOUS	10
◆ Classe 2 : CNV probablement bénin	10
◆ Classe 1 : CNV bénin	11
 Annexe 1 : Références bibliographiques :	13
Annexe 2 : Liste des principales bases de données :	15
Annexe 3 : Revue bibliographique et proposition de classification de CNVs	17

I / Prérequis : arguments

Le rôle du cytogénéticien est d'identifier et d'évaluer la pathogénicité des CNVs.

Plusieurs équipes ont proposé des outils d'aide à l'interprétation [Gijsbers *et al*, 2011 ; Vermeesch *et al*, 2012 ; Nowakowska *et al*, 2017 ; Kearney *et al*, 2011]. Par ailleurs, les dernières recommandations de l'ACMG quant à l'interprétation des CNV sont parues en 2020 [Riggs *et al*, ACMG Technical Standards, Genetics in Medicine, 2020 -> <https://www.nature.com/articles/s41436-019-0686-8.pdf>]. Il y est également présenté un calculateur de score en ligne visant à guider le praticien dans ce travail d'interprétation -> <http://cnvcalc.clinicalgenome.org/cnvcalc/>. A noter, enfin, l'existence de différents outils automatisés, aujourd'hui disponibles en Open source, conçus pour faciliter ce travail (liens accessibles sur le site du réseau AChroPuce).

◆ **La classification d'un CNV résulte d'un faisceau d'arguments plus ou moins critiques et doit être la plus reproductible possible quel que soit la technique utilisée, le biologiste en charge de l'interprétation et le contexte clinique.**

◆ **L'évaluation de la pathogénicité d'un CNV chez un patient donné dépend des connaissances scientifiques disponibles au moment de la validation biologique et est étroitement liée au contexte clinico-biologique.** Elle pourra être réévaluée en fonction de l'évolution des connaissances.

A. Données épidémiologiques

Au cours de son travail d'interprétation, le cytogénéticien est amené à consulter des bases de données de populations contrôles ou de patients.

✦ Bases de données de populations contrôles

Elles permettent d'évaluer la fréquence d'identification d'une variation génomique au sein d'une population générale. L'identification répétée d'une variation au sein d'une population témoin est en faveur de son caractère bénin.

⇒ DGV, GnomAD, 1000 Genomes Project...

✦ Bases de données de patients

Elles permettent d'évaluer la fréquence d'identification d'une variation génomique au sein d'une population de patients atteints de DI+/-MC et de confronter le tableau phénotypique du patient évalué à celui des individus enregistrés dans la base de données.

⇒ OMIM, UCSC, Ensembl, DECIPHER, ClinGen, ClinVar, LOVD, HGMD...

Il est également recommandé de consulter les bases de données locales : Cartagena, BANCCO, base interne au laboratoire.

Les informations extraites des bases de données de patients seront confrontées aux données issues de la littérature.

Certaines limites doivent être prises en considération :

- Les CNV enregistrés dans ces bases de données peuvent avoir été identifiés par des technologies différentes, ce qui est susceptible de générer des variations mineures dans l'estimation de la taille du CNV enregistré d'un patient à l'autre
- Le sexe chromosomique des individus porteurs du CNV d'intérêt n'est pas toujours renseigné or, un CNV identifié sur l'X considéré comme bénin chez une femme peut être délétère chez un homme
- Les variations issues d'études rapportant de grandes populations témoins ne sont pas confirmées par une autre technique
- Certains facteurs ne sont pas pris en compte : pénétrance incomplète et/ou expressivité variable, âge de déclaration de la pathologie, empreintes parentales...
- Redondance de données : plusieurs publications peuvent faire référence au même individu enregistré dans plusieurs bases de données
- Le recrutement des témoins n'inclut pas uniquement des sujets sains
exemple : une cohorte de patients présentant une cardiopathie peut être considérée comme une population contrôle dans le cadre d'une étude sur la déficience intellectuelle
- Un CNV considéré comme bénin à l'état hétérozygote peut être pathogène à l'état homozygote

B. Données de ségrégation

Le caractère **de novo** est en faveur de la pathogénicité du CNV, le caractère **hérité** reste plutôt en faveur du caractère bénin de la variation (99% des CNV bénins sont hérités [McCarroll *et al*, 2008]).

Néanmoins, il existe des exceptions :

- le CNV peut être un variant pathogène familial
- le CNV peut être une variation à pénétrance incomplète et/ou expressivité variable
- le CNV peut être une délétion héritée révélant une maladie récessive
- le CNV est une variation à transmission liée à l'X (mère conductrice asymptomatique, fils atteint)
- le CNV peut concerner une région soumise à empreinte
- le CNV peut être en mosaïque chez le parent porteur
- le CNV peut être de taille différente chez le patient et chez le parent porteur

Une enquête familiale étendue permettant d'apprécier la ségrégation intra-familiale d'une variation peut s'avérer utile pour mieux interpréter le CNV

Rappel : Les examens ne peuvent être prescrits chez un mineur ou chez un majeur sous tutelle que si celui-ci ou sa famille peuvent personnellement bénéficier de mesures préventives ou curatives immédiates [Article R1131-5 du code de la santé publique].

C. Données structurales :

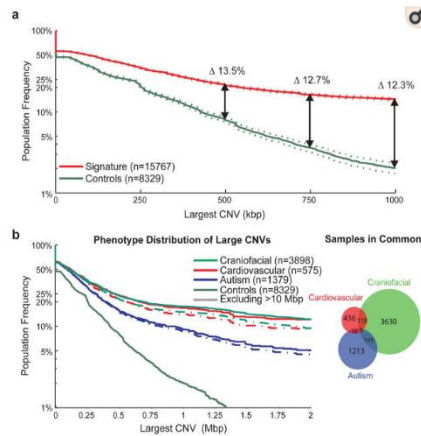
1. Taille du CNV :

En règle générale, la taille des CNV pathogènes est significativement plus grande que celle des CNV bénins. En effet la taille médiane des CNV considérés comme bénins est de 200 kb et 90-95% des CNVs bénins ont une taille < 500 kb [Redon *et al*, 2006 ; Itsara *et al*, 2009]. Seuls 1 à 2% des CNVs identifiés chez des individus sains ont une taille > 1 Mb [Itsara *et al*, 2009 ; Conrad *et al*, 2010].

Nat Genet. 2011 Aug 14;43(9):838-46. doi: 10.1038/ng.909.

A copy number variation morbidity map of developmental delay.

Cooper GM¹, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu TH, Baker C, Williams C, Stalker H, Hamid R, Hannig V, Abdel-Hamid H, Bader P, McCracken E, Nivazov D, Leppig K, Thiese H, Hummel M, Alexander N, Gorski J, Kussmann J, Shashi V, Johnson K, Rehder C, Ballif BC, Shaffer LG, Eichler EE.



CNV size distributions in affected and unaffected individuals

The population frequency of the largest CNV in a sample is displayed as a survivor function with the proportion of samples carrying a CNV of a given size displayed as a curve, with 95% confidence intervals indicated by dotted lines. (A) The distribution of large CNVs in the Signature set (filtered to only contain events detectable by the Illumina 550K array) versus our control population (downsampled to only events detectable by the Signature 97K array) is indicated for the overall population. After corrections for different array densities, we observed a >13.5% increase in CNV burden beyond 500 kbp in cases with a proportion of the burden representing potentially novel loci. (B) We also performed a similar analysis on subphenotypes; in this analysis, we included all Signature CNVs in conjunction with downsampled control CNVs as we are highlighting interphenotype differences rather than case versus control frequencies. This is demonstrated here for the autism, cardiovascular and craniofacial phenotypes, which represent fairly distinct sample sets and show an increased burden for the cardiovascular and craniofacial phenotypes, even after exclusion of karyotypically visible (>10 Mbp) events.

Précautions : des CNVs de grande taille peuvent être aussi bénins [Barber, 2005 ; Filges *et al*, 2009 ; Itsara *et al*, 2009 ; Bateman *et al*, 2010] et de très petits CNV peuvent être pathogènes [Nowakowska *et al*, 2010] ou contenir uniquement des régions régulatrices de gènes d'intérêt avec, pour conséquence, des perturbations d'expression génique délétères. Aussi, même si la taille du CNV identifié constitue un critère d'orientation, elle ne peut être dissociée de l'évaluation du contenu de la variation détectée [Huguet *et al*, 2018].

2. Contenu génique :

Le plus souvent, un CNV impliquant une région dont la densité génique est importante est en faveur du caractère pathogène du CNV. En revanche, lorsque la séquence concernée est riche en régions répétées et/ou pseudogènes, voire ne contient pas de gène, le CNV identifié est bénin dans la majorité des cas [Huguet *et al*, 2018].

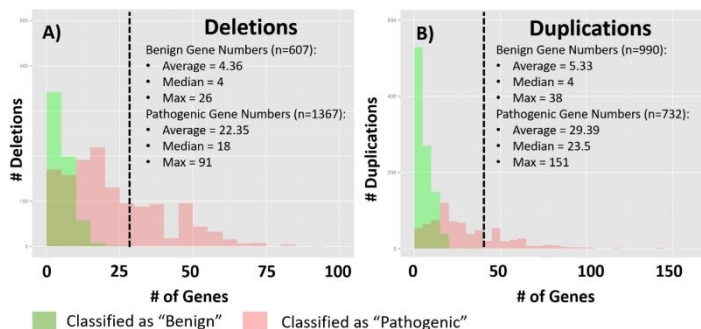
Genet Med. 2020 Feb;22(2):245-257. doi: 10.1038/s41436-019-0686-8. Epub 2019 Nov 6.

Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)

Erin Rooney Riggs¹, Erica F Andersen^{2,3}, Athena M Cherry⁴, Sibel Kantarci⁵, Hutton Kearney⁶, Ankita Patel⁷, Gordana Raca⁸, Deborah I Ritter⁹, Sarah T South¹⁰, Erik C Thorland⁶, Daniel Pineda-Alvarez¹¹, Swaroop Aradhya⁴, Christa Lese Martin¹²

Affiliations + expand

PMID: 31690835 PMCID: PMC7313390 DOI: 10.1038/s41436-019-0686-8



Supplemental Figure 1.5: Analysis of gene content across clinically-classified copy number variants (CNVs) in dbVar. CNVs involving autosomes with clinical classifications between 200 kb-5Mb within dbVar studies nst37 and nst101 were analyzed for gene content. These CNVs involving known dosage sensitive genes or genomic regions (as documented in dbVar study nst485) were excluded. Gene arrays and non-protein-coding genes were not included in gene counts. The average, median, and maximum number of genes noted within benign (green) and pathogenic (red) deletions (A) and duplications (B) are depicted.

[Full Figure]

Précautions : Il est important de prendre en compte la nature de l'évènement moléculaire pour évaluer les conséquences fonctionnelles d'un CNV impliquant un gène donné.

- L'haploinsuffisance d'un gène n'implique pas systématiquement le caractère pathogène d'une duplication, triplication ou amplification de ce gène, même si les deux sont fréquemment liés [Collins *et al.* Cell 2022].
- La délétion d'un gène (perte de fonction) peut avoir des conséquences fonctionnelles distinctes de celles générées par une variation pathogène de ce gène (mutation gain-de-fonction)
- Une délétion ou une duplication/amplification partielle d'un gène d'intérêt peut engendrer une altération de la séquence codante ou des séquences non exoniques régulatrices (cf bases de données identifiant des régions régulatrices (Ensembl / GeneHancer) à l'origine de conséquences cliniques parfois difficiles à prédire. Des informations complémentaires sur l'interprétation de petits CNVs intragéniques peuvent être obtenues dans les recommandations professionnelles du Réseau NGS-Diagnostic : <http://ffgh.net/index.php/presentation/les-reseaux-partenaires/reseau-ngs-diagnostic/182-reseaux/ngs/354-recommandations-professionnelles-du-reseau-ngs-diag>
- La délétion d'un gène associé à une maladie récessive peut suggérer la présence d'une mutation sur le second allèle en cas de phénotype évocateur de la maladie.

Rappel : Plusieurs scores permettent d'évaluer la sensibilité d'un gène au dosage génique ou la tolérance d'un gène à une variation perte de fonction :

- **Score pLI** : le score pLI, généré par ExAC, est la probabilité qu'un gène soit intolérant à une variation perte de fonction (LoF), à l'origine d'une diminution ou d'une absence de synthèse de la protéine active d'un point de vue quantitatif ou qualitatif. Les gènes avec des scores pLI élevés ($pLI \geq 0,9$) sont extrêmement intolérants à une perte de fonction contrairement aux gènes avec de faibles pLI ($pLI \leq 0,1$) [Lek *et al.*, 2016]. Le score pLI a également été généré à partir des données de GnomAD et s'interprète de la même façon.
- **Score LOEUF** : GnomAD recommande l'utilisation d'un score de prédiction appelé score LOEUF (loss-of-function observed/expected upper bound fraction) pour remplacer le pLI. Il est important de noter que, contrairement au score pLI, une faible valeur de LOEUF (<0.35) est en faveur d'une forte intolérance du gène à la perte de fonction.

Ex : TBX3 -> pLI = 0.99 et LOEUF = 0.28. Les deux scores sont concordants et en faveur d'une forte intolérance du gène aux variants pertes de fonction
- **Score pHaplo et pTriplo** : de nouveaux scores estimant la probabilité pour un gène d'être intolérant aux variants perte de fonction (pHaplo, pour les délétions) ou au gain de copie(s) (pTriplo, pour les duplications) ont récemment été calculés pour tous les gènes codants autosomiques [Collins *et al.*, Cell 2022]. Les seuils proposés par les auteurs de cette étude sont : un gène est prédit haploinsuffisant quand $pHaplo \geq 0.86$ et prédit triplosensible quand $pTriplo \geq 0.94$

3. **Nombre de copies** :

En règle générale, une variation du nombre de copies < 1 (délétion homozygote) ou > 3 (triplication ou amplification) est un facteur supplémentaire en faveur du caractère pathogène du CNV.

Précautions : certains CNV bénins très fréquents dans la population générale peuvent être identifiés à l'état homozygote. A noter que pour une centaine de gènes, les délétions homozygotes ont été considérées comme sans conséquence phénotypique [Zarrei *et al.* 2015].

Références : [Annexe 1](#)

Liens vers les principales bases de données d'aide à l'interprétation : [Annexe 2](#)

(à noter qu'une mise à jour régulière des bases de données est également disponible sur le site du réseau AChroPuce :

<http://acpa-achropuce.com/veille-technologique/>)

II / Classification

La combinaison de l'ensemble des arguments rappelés dans le chapitre précédent permet ainsi de classer le CNV identifié selon 6 catégories.

◆ **Classe « PIEV » : CNV de susceptibilité aux troubles neuro-développementaux (TND), à Pénétrance Incomplète et/ou Expressivité Variable (PIEV)**

Ces CNVs constituent des facteurs de risque génétique aux troubles neurodéveloppementaux, souvent hérités, qui peuvent être associés à des phénotypes variables et souvent peu spécifiques [Coe et al, 2012], ce qui rend la prédiction du phénotype, et donc le conseil génétique, très difficiles.

Ces CNVs peuvent contribuer au phénotype du patient, mais leur pathogénicité pourrait être influencée par un deuxième événement (double-« hit ») génétique, épigénétique, environnemental ... La plupart du temps, ce second « hit » n'est pas identifié et quand bien même, les modalités d'interaction entre les deux événements et leurs conséquences phénotypiques sont difficiles à évaluer.

Une liste des CNVs identifiés de façon récurrente dans un contexte de troubles neurodéveloppementaux (TND) a été établie. Une revue de la littérature est proposée en annexe pour chacun de ces CNVs et une réévaluation de la classification de ces variations connues a été proposée selon cette revue bibliographique (Annexe 3) -> dernière révision septembre 2022

Au moment de la mise à jour de ce guide (septembre 2022), les CNVs suivants ont été considérés comme des PIEVs par le Groupe de Travail :

- Délétions et duplications 1q21.1 distales (*GJA5, GJA8*)
- Délétions 2p16.3 (*NRXN1*)
- Délétions 2q13 (*BUB1*)
- Délétions 3q29 (*DLG1, BDH1*)
- Délétions 10q11.21q11.2 (*CHAT, SLC18A3*)
- Délétions 15q11.2 BP1-BP2 (*NIPA1, NIPA2*)
- Délétions 15q13.3 BP4-BP5 (*CHRNA7, OTUD7A*)
- Délétions 15q13.3 CHRNA7-LCR-BP5 (*CHRNA7*)
- Délétions 16p13.11 (*NDE1, MYH11*)
- Délétions 16p12.2 (*EEF2K, POLR3E*)
- Délétions et duplications 16p11.2 distales (*SH2B1*)
- Délétions et duplications 16p11.2 proximales (*TBX6, KCTD13*)
- Délétions 17q12 (*HNF1B*)
- Duplications 17q12 (*HNF1B*)
- Délétions 22q11.21 centrales (*SCARF2, SNAP29*)
- Délétions 22q11.21 distales de type I ou de type III (*BCR, TOP3B, MAPK1*)
- Délétions Xp22.3 (*STS, VCX3*) chez les individus de sexe masculin

Pour plus de détails sur l'interprétation de ces CNVs, se référer à l' [Annexe 3](#).

◆ Classe 5 : CNV pathogène

Critère nécessaire et suffisant : Il existe des arguments bibliographiques forts en faveur du caractère pathogène (littérature et/ou les bases de données de patients).

En pratique :

- Syndrome microdélétionnel/microduplicationnel référencé dans OMIM ou ClinGen Curated Pathogenic à l'exclusion de ceux référencés en PIEV.
- CNV non référencé dans OMIM ou ClinGen Curated Pathogenic mais :
 - rapporté dans la littérature chez au moins 3 patients non apparentés et présentant un phénotype spécifique concordant
 - CNV rare ou non décrit mais chevauchant complètement un CNV référencé dans OMIM ou ClinGen Curated Pathogenic, à l'exclusion de ceux référencés en PIEV.
 - CNV multigénique contenant au moins 1 gène haploinsuffisant identifié comme gène majeur dans un syndrome microdélétionnel/microduplicationnel référencé dans OMIM ou ClinGen Curated Pathogenic à l'exclusion de ceux référencés en PIEV.

◆ Classe 4 : CNV probablement pathogène
--

Faisceau d'arguments : **au moins 2 critères majeurs OU 1 critère majeur et 2 critères mineurs**

Critères majeurs :

- Littérature :
 - En cas de phénotype non spécifique (ex : DI, TSA) : le CNV est décrit dans la littérature chez au moins 1 patient présentant un phénotype comparable à celui du cas index
 - En cas de spécificités phénotypiques : le CNV est décrit dans la littérature chez au moins 1 patient présentant seulement quelques critères phénotypiques communs avec le cas index
- Transmission :
 - Le CNV est survenu *de novo*
 - Le CNV est hérité d'un parent atteint
 - Le CNV est hérité d'un parent porteur du CNV en mosaïque
- Contenu génique :
 - Le(s) gène(s) contenu(s) dans le CNV a (ont) été associé(s) au même phénotype dans la littérature ou il existe des arguments forts en faveur du rôle d'un ou de plusieurs gènes inclus dans le CNV dans la pathologie (modèle animal, profil d'expression...)
 - Le CNV correspond à une région proche d'un gène connu pour être impliqué dans la pathologie caractérisée par des signes cliniques spécifiques
 - Le CNV est une délétion qui emporte la région 5' et plusieurs séquences codantes d'un gène haploinsuffisant
- Nature :
 - Délétion homozygote
 - Amplification (> 3 copies)

Critères mineurs :

- Epidémiologie :
 - En cas de DI : le CNV est identifié plus fréquemment chez les patients atteints de DI que chez les témoins dans l'étude de Coe *et al.* (Nat Genet 2014)
 - Le CNV est absent des bases de données contrôles
- Contenu génique :
 - Le CNV chevauche partiellement des CNV identifiés comme pathogènes dans OMIM ou ClinGen Curated Pathogenic sans gène candidat clairement identifié
- Taille :
 - > 1Mb

◆ Classe 3 : VOUS

Critère nécessaire et suffisant : le CNV ne remplit pas les critères pour appartenir à une des autres classes.

Le statut d'un CNV initialement classé en VOUS peut être réévalué selon l'évolution des données cliniques et scientifiques [Westerfield *et al.*, 2014]

Exemple :

- Le CNV est décrit dans la population générale, mais avec une fréquence insuffisante pour être considéré comme un polymorphisme (1%)
- Le CNV contient un petit nombre de gènes, dont l'haploinsuffisance ou la triplosensibilité ne sont pas clairement établies
- Le CNV est décrit dans des publications et/ou bases de données avec des conclusions contradictoires sur son caractère délétère
- Le CNV correspond à une variation intragénique dont l'effet sur la transcription n'est pas établi

A noter que l'ACMG a développé un outil de scoring pour assister les biologistes dans leur travail de classification et d'interprétation des CNV [Riggs et al, ACMG Technical Standards, Genetics in Medicine, 2020]. Cet outil peut s'avérer utile pour affiner l'interprétation d'un CNV ne répondant pas aux critères d'appartenance aux classes 1,2,4 et 5 (VOUS). Il existe également des outils de scoring automatisés. Les liens vers ces outils sont accessibles sur le site du réseau AChroPuce.

◆ Classe 2 : probablement bénin

Faisceau d'arguments : **au moins 2 critères majeurs OU 1 critère majeur et 2 critères mineurs**

Critère majeur :

- Epidémiologie :
 - Le CNV est rapporté assez régulièrement dans la population générale mais de façon insuffisante pour être considéré comme un polymorphisme (<1%)
 - Le CNV est rapporté au moins 1 fois dans les bases de données de variants polymorphiques GnomAD et/ou DGV-gold avec un seuil de recouvrement entre 50 et 80%
- Transmission :
 - Le CNV est hérité d'un parent sain ou ne ségrège pas avec le phénotype au sein d'une famille

- Contenu génique :
 - Le CNV ne contient aucun gène ou contient uniquement des séquences répétées/pseudogènes/duplications segmentaires
 - Le CNV contient seulement des gènes sans argument en faveur d'un rôle en pathologie humaine (fonction non connue, profil d'expression, pLI bas et LOEUF élevé...)

Critères mineurs :

- Epidémiologie :
 - En cas de DI : le CNV est identifié avec la même fréquence ou plus rarement chez les patients atteints de DI par rapport aux témoins dans l'étude de Coe *et al.* (Nat Genet 2014)
 - Le CNV est rapporté au moins 1 fois dans les bases de données de variants polymorphiques ExAC/DGV-gold mais avec un seuil de recouvrement compris entre 50 et 80%
- Contenu génique :
 - Aucun gène contenu dans le CNV n'a été associé au même phénotype dans la littérature ou il n'existe pas d'argument en faveur du rôle d'un ou de plusieurs gènes inclus dans le CNV dans la pathologie présentée par le patient
- Taille :
 - Inférieure au seuil de détection du laboratoire

◆ **Classe 1** : CNV bénin

Critère nécessaire et suffisant : Il existe des arguments bibliographiques forts en faveur du caractère bénin (littérature et/ou les bases de données contrôles).

Exemple :

- Le caractère bénin est rapporté dans plusieurs publications et il est identifié régulièrement dans la population générale (i-e au moins 3 individus sains issus de plusieurs sources ou > 1% de la population générale)
- Le CNV est référencé dans les Bases de données comme polymorphisme (ClinGen Curated Benign et/ou Zarrei *et al.*, 2015=**DGV**-stringent)

Annexe 1 : Références bibliographiques

- Barber JC. Directly transmitted unbalanced chromosome abnormalities and euchromatic variants. *J Med Genet.* 2005;42(8):609–629.
- Bateman MS, Mehta SG, Willatt L, Selkirk E, Bedwell C, Zwolinski S, Sparnon L, Simonic I, Abbott K, Barber JC. A de novo 4q34 interstitial deletion of at least 9.3 Mb with no discernible phenotypic effect. *Am J Med Genet A.* 2010;152A(7):1764–1769
- Buysse K, Delle Chiaie B, Van Coster R, Loeys B, De Paepe A, Mortier G, Speleman F, Menten B. Challenges for CNV interpretation in clinical molecular karyotyping: lessons learned from a 1001 sample experience. *Eur J Med Genet.* 2009;52(6):398–403
- Coe BP, Girirajan S, Eichler EE. The genetic variability and commonality of neurodevelopmental disease. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2012;160C(2):118–129
- Collins RL, Glessner JT, Porcu E, Lepamets M, Brandon R, Lauricella C, Han L, Morley T, Niestroj LM, Ulirsch J, Everett S, Howrigan DP, Boone PM, Fu J, Karczewski KJ, Kellaris G, Lowther C, Lucente D, Mohajeri K, Nöukas M, Nuttle X, Samocha KE, Trinh M, Ullah F, Võsa U; Epi25 Consortium; Estonian Biobank Research Team, Hurles ME, Aradhya S, Davis EE, Finucane H, Gusella JF, Janze A, Katsanis N, Matyakhina L, Neale BM, Sanders D, Warren S, Hodge JC, Lal D, Ruderfer DM, Meck J, Mägi R, Esko T, Reymond A, Kutalik Z, Hakonarson H, Sunyaev S, Brand H, Talkowski ME. A cross-disorder dosage sensitivity map of the human genome. *Cell.* 2022 Aug 4;185(16):3041-3055.e25. doi: 10.1016/j.cell.2022.06.036. Epub 2022 Aug 1. PMID: 35917817.
- Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu TH, Baker C, Williams C, Stalker H, Hamid R, Hannig V, Abdel-Hamid H, Bader P, McCracken E, Niyazov D, Leppig K, Thiese H, Hummel M, Alexander N, Gorski J, Kussmann J, Shashi V, Johnson K, Rehder C, Ballif BC, Shaffer LG, Eichler EE. A copy number variation morbidity map of developmental delay. *Nat Genet.* 2011;43(9):838–846
- Filges I, Röthlisberger B, Noppen C, Boesch N, Wenzel F, Necker J, Binkert F, Huber AR, Heinimann K, Miny P. Familial 14.5 Mb interstitial deletion 13q21.1–13q21.33: clinical and array-CGH study of a benign phenotype in a three-generation family. *Am J Med Genet A.* 2009;149A(2):237–241.
- Gijsbers AC1, Schoumans J, Ruivenkamp CA Interpretation of array comparative genome hybridization data: a major challenge *Cytogenet Genome Res.* 2011;135(3-4):222-7. doi: 10.1159/000334066. Epub 2011 Nov 12.
- Hanemaaijer NM1, Sikkema-Raddatz B, van der Vries G, Dijkhuizen T, Hordijk R, van Essen AJ, Veenstra-Knol HE, Kerstjens-Frederikse WS, Herkert JC, Gerkes EH, Leegte LK, Kok K, Sinke RJ, van Ravenswaaij-Arts CM. Practical guidelines for interpreting copy number gains detected by high-resolution array in routine diagnostics. *Eur J Hum Genet.* 2012 Feb;20(2):161-5. doi: 10.1038/ejhg.2011.174. Epub 2011 Sep 21.
- Huang N, Lee I, Marcotte EM, Hurles ME. Characterising and predicting haploinsufficiency in the human genome. *PLoS Genet.* 2010;6(10):e1001154
- Huguet G, Schramm C, Douard E, Jiang L, Labbe A, Tihy F, Mathonnet G, Nizard S, Lemyre E, Mathieu A, Poline JB, Loth E, Toro R, Schumann G, Conrod P, Pausova Z, Greenwood C, Paus T, Bourgeron T, Jacquemont S; IMAGEN Consortium. Measuring and Estimating the Effect Sizes of Copy Number

Variants on General Intelligence in Community-Based Samples. *JAMA Psychiatry*. 2018 May 1;75(5):447-457. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2018.0039.

- Itsara A, Cooper GM, Baker C, Girirajan S, Li J, Absher D, Krauss RM, Myers RM, Ridker PM, Chasman DI, Mefford H, Ying P, Nickerson DA, Eichler EE. Population analysis of large copy number variants and hotspots of human genetic disease. *Am J Hum Genet*. 2009;84(2):148–161
- Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, Quintero-Rivera F, South ST, Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance Committee American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med*. 2011;13(7):680–685
- Koolen DA¹, Sharp AJ, Hurst JA, Firth HV, Knight SJ, Goldenberg A, Saugier-Veber P, Pfundt R, Vissers LE, Destrée A, Grisart B, Rooms L, Van der Aa N, Field M, Hackett A, Bell K, Nowaczyk MJ, Mancini GM, Poddighe PJ, Schwartz CE, Rossi E, De Gregori M, Antonacci-Fulton LL, McLellan MD^{2nd}, Garrett JM, Wiechert MA, Miner TL, Crosby S, Ciccone R, Willatt L, Rauch A, Zenker M, Aradhya S, Manning MA, Strom TM, Wagenstaller J, Krepischi-Santos AC, Vianna-Morgante AM, Rosenberg C, Price SM, Stewart H, Shaw-Smith C, Brunner HG, Wilkie AO, Veltman JA, Zuffardi O, Eichler EE, de Vries BB. Clinical and molecular delineation of the 17q21.31 microdeletion syndrome. *J Med Genet*. 2008 Nov;45(11):710-20. doi: 10.1136/jmg.2008.058701. Epub 2008 Jul 15.
- Lee C, Scherer SW. The clinical context of copy number variation in the human genome. *Expert Rev Mol Med*. 2010;12:e8.
- Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, O'Donnell-Luria AH, Ware JS, Hill AJ, Cummings BB, Tukiainen T, Birnbaum DP, Kosmicki JA, Duncan LE, Estrada K, Zhao F, Zou J, Pierce-Hoffman E, Berghout J, Cooper DN, Deflaux N, DePristo M, Do R, Flannick J, Fromer M, Gauthier L, Goldstein J, Gupta N, Howrigan D, Kiezun A, Kurki MI, Moonshine AL, Natarajan P, Orozco L, Peloso GM, Poplin R, Rivas MA, Ruano-Rubio V, Rose SA, Ruderfer DM, Shakir K, Stenson PD, Stevens C, Thomas BP, Tiao G, Tusie-Luna MT, Weisburd B, Won HH, Yu D, Altshuler DM, Ardissino D, Boehnke M, Danesh J, Donnelly S, Elosua R, Florez JC, Gabriel SB, Getz G, Glatt SJ, Hultman CM, Kathiresan S, Laakso M, McCarroll S, McCarthy MI, McGovern D, McPherson R, Neale BM, Palotie A, Purcell SM, Saleheen D, Scharf JM, Sklar P, Sullivan PF, Tuomilehto J, Tsuang MT, Watkins HC, Wilson JG, Daly MJ, MacArthur DG; Exome Aggregation Consortium. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature*. 2016 Aug 18;536(7616):285-91
- McCarroll SA, Hadnott TN, Perry GH, Sabeti PC, Zody MC, Barrett JC, Dallaire S, Gabriel SB, Lee C, Daly MJ, Altshuler DM, International HapMap Consortium Common deletion polymorphisms in the human genome. *Nat Genet*. 2006;38:86–92. doi: 10.1038/ng1696
- Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 2010 May 14;86(5):749-64. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.04.006
- Nowakowska B Clinical interpretation of copy number variants in the human genome. *J Appl Genet*. 2017 Nov;58(4):449-457. doi: 10.1007/s13353-017-0407-4. Epub 2017 Sep 30.

- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 2006;444(7118):444–454. doi: 10.1038/nature05329
- Riggs ER, Church DM, Hanson K, Horner VL, Kaminsky EB, Kuhn RM, Wain KE, Williams ES, Aradhya S, Kearney HM, Ledbetter DH, South ST, Thorland EC, Martin CL. Towards an evidence-based process for the clinical interpretation of copy number variation. *Clin Genet*. 2012 May;81(5):403-12
- Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, Raca G, Ritter DI, South ST, Thorland EC, Pineda-Alvarez D, Aradhya S, Martin CL. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med*. 2020 Feb;22(2):245-257.
- Vermeesch JR, Brady PD, Sanlaville D, Kok K, Hastings RJ. Genome-wide arrays: quality criteria and platforms to be used in routine diagnostics. *Hum Mutat*. 2012 Jun;33(6):906-15
- Zarrei M1, MacDonald JR1, Merico D1, Scherer SW. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet*. 2015 Mar;16(3):172-83. doi: 10.1038/nrg3871. Epub 2015 Feb 3.

Annexe 2 : Liste des principales bases de données (Ctrl+clic pour suivre le lien)

Base de données	Ressources disponibles pour l'interprétation
<u>UCSC</u>	Genome Browser Gateway
<u>OMIM</u>	catalogue des gènes et phénotypes connus associés
<u>GTex</u>	expression des gènes
<u>DGV</u>	<p>catalogue répertoriant des variants de structure bénins</p> <p>NB : 72 études prises en compte. DGV définit un variant de structure comme une anomalie génomique entre 50 pb et 3 Mb, du fait de la prise en compte de nombreuses études ayant utilisé du NGS. Il est possible de télécharger les données <i>Gold Standard</i> et <i>Nat Rev Gen 2015</i> pour les importer dans Cytogenomics ou UCSC (<i>Custom Tracks</i>)</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Structural Variants</i> : CNVs rapportés au moins une fois – piste de base de DGV, accessible directement sur UCSC – Dernière mise à jour : 2016-05-15 • <i>Supporting Variants</i> : nombre de fois où le CNV a été rapporté (<i>sample level</i>), accessible directement sur UCSC - Dernière mise à jour : 2016-05-15 • <i>Gold Standard Variants</i> : variants « curés » issus d'une sélection d'études (sur les 72 de la base) de grande qualité (notamment très bonne résolution – filtres de qualité stricts). CNVs rapportés dans au moins 2 études et 2 échantillons différents - Dernière mise à jour : 2016-05-15- accessible directement via UCSC • <i>A Copy Number Variation Map of the Human Genome (Nature Reviews Genetics, 2015)</i> : Meta analyse incluant 26 études (sur les 55 de la base DGV en 2015) avec haute résolution (essentiellement NGS et puces avec au moins 1 million de sondes) <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Inclusive</i> : au moins 2 sujets et une étude - Dernière mise à jour : 2015-02-03 ○ <i>Stringent</i> : au moins 2 sujets et 2 études - Dernière mise à jour : 2015-02-03
<u>DECIPHER</u>	base de patients répertoriant les données génotypiques et phénotypiques, précisant le mécanisme de la pathologie lorsqu'il est connu
<u>GnomAD</u>	données d'exome / de génome et prédiction du risque d'haploinsuffisance (pLI)

<u>Outil scoring ACMG</u>	http://cnvcalc.clinicalgenome.org/cnvcalc/
<u>MARRVEL</u>	OMIM + ExAC + GTex sur une page
<u>Varsome</u>	analyse de domaines protéiques et variants nucléotidiques et aide à l'interprétation
<u>Franklin</u>	outil d'aide à l'interprétation des CNVs
<u>Hi-C browser et ClinTAD</u>	analyse des TADs
<u>Cydas</u>	outil permettant de dessiner un caryotype ou des chromosomes dérivés de translocations
<u>SFARI</u>	gènes associés aux TSA
<u>Diseases</u>	répertorie les pathologies associées à un gène ou les gènes associés à une pathologie
<u>GeneImprint</u>	répertorie les gènes soumis à empreinte
<u>VISTA enhancer</u>	permet la recherche de séquences enhancer
<u>ClinGen</u>	évaluation des conséquences cliniques de gènes et variations
<u>GeneReviews</u>	plus de 700 chapitres résumant les caractéristiques cliniques, diagnostic, prise en charge et conseil génétique propres à une pathologie/CNV

A noter qu'une mise à jour régulière des principales bases de données utiles à l'interprétation des CNV est disponible sur le site du Réseau Achropuce -> <https://acpa-achropuce.com/>

Annexe 3 : Revue bibliographique et proposition de classification de CNVs identifiés de façon récurrente dans un contexte de troubles neuro-développementaux (*mise à jour septembre 2022*)

CNVs récurrents :

CNV	Gènes candidats	Nature variation	Classification
1q21.1 distale	<i>GJA5, GJA8</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs
		Dup	PIEV : susceptibilité aux TNDs
1q21.1 proximale	<i>RBM8A</i>	Del	Classe 3 : VOUS
		Dup	Classe 3 : VOUS
2q11.2	<i>ARID5A, KANSL3</i>	Del	Classe 3 : VOUS
		Dup	Classe 3 : VOUS
2q13	<i>BUB1</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs
		Dup	Classe 3 : VOUS
3q29	<i>DLG1, BDH1</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs
		Dup	Classe 3 : VOUS
10q11.21q11.23	<i>CHAT, SLC18A3</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs
		Dup	Classe 3 : VOUS
15q11.2 BP1-BP2	<i>NIPA1, NIPA2</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs
		Dup	Classe 1 : bénin
15q13.3 BP4-BP5	<i>CHRNA7, TRPM1, OTUD7A</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs
		Dup	Classe 3 : VOUS
15q13.3 CHRNA7-LCR-BP5	<i>CHRNA7</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs
		Dup	Classe 1 : bénin
16p13.11	<i>NDE1, MYH11</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs
		Dup	Classe 3 : VOUS

16p12.2	<i>EEF2K,POLR3E</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
		Dup	Classe 3 : VOUS	
16p11.2 distale	<i>SH2B1</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
		Dup	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
16p11.2 proximale	<i>TBX6,KCTD13</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
		Dup	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
17q12	<i>HNF1B</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
			Classe 5 : pathogène si atteinte rénale et pancréatique	
17q12	<i>HNF1B</i>	Dup	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
22q11.21 centrales	<i>SCARF2,SNAP29</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
		Dup	Classe 3 : VOUS	
22q11.21 distales	<i>BCR, TOP3B, MAPK1</i>	Del type I	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
		Del type II	Classe 3 : VOUS	
		Del type III	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
		Dup	Classe 3 : VOUS	
Xp22.3	<i>STS,VCX3</i>	Del	♂ : PIEV	♀ : classe 1 (conductrices)
		Dup	♂ : classe 2	♀ : classe 1

CNVs rares

2p16.3	<i>NRXN1</i>	Del	PIEV : susceptibilité aux TNDs	
2p25.3	<i>MYT1L</i>	Del	Classe 5 : pathogène	
		Dup	PIEV : susceptibilité aux TNDs	