

UNIVERSITÉ DE LILLE  
**FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMOEUR**  
Année : 2023-2024

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Etude clinique et moléculaire du syndrome de Townes-Brocks (*SALL1*) : à propos d'une série de 49 patients et revue de la littérature**

Présentée et soutenue publiquement le 11/06/2024 à 18h00  
au Pôle Formation  
par **Fiona LEDUC**

---

**JURY**

**Président :**

**Madame le Professeur Florence PETIT**

**Assesseurs :**

**Madame le Docteur Fabienne ESCANDE**

**Madame le Docteur Philippine TOULEMONDE**

**Directeur de thèse :**

**Madame le Docteur Clémence VANLERBERGHE**

---



## **AVERTISSEMENT**

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.



## TABLE DES MATIERES

TABLE DES ABBREVIATIONS .....	1
RESUME.....	3
INTRODUCTION .....	5
I. Maladies rares .....	5
II. Syndrome de Townes-Brocks .....	6
III. Gène <i>SALL1</i> .....	11
1. Gènes <i>SALL</i> .....	11
2. Facteur de transcription répresseur <i>SALL1</i> .....	12
3. <i>SALL1</i> dans les processus rénaux.....	15
4. <i>SALL1</i> dans le développement cardiaque.....	16
5. <i>SALL1</i> dans le développement cérébral.....	17
6. <i>SALL1</i> dans le développement des membres.....	17
7. Etudes <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> des altérations constitutionnelles de <i>SALL1</i> .....	18
IV. Contexte .....	20
ARTICLE.....	22
Title Page.....	22
Abstract.....	24
Manuscript .....	25
Figures .....	39
Tables .....	41
Supplementary Data .....	45
RESULTATS COMPLEMENTAIRES .....	67
DISCUSSION.....	69
CONCLUSION .....	76
ANNEXES.....	77
Annexe 1. Formulaire clinico-biologique .....	77
Annexe 2. PNDS – Syndrome de Townes-Brocks : Synthèse à destination du médecin traitant (Haute Autorité de Santé) .....	81
REFERENCES .....	85



## TABLE DES ABBREVIATIONS

ADN : Acide DésoxyriboNucléotide

AURAGEN : AUvergne Rhône-Alpes Génomique

CBX4 : chromobox protein homologue 4

CHARGE : Coloboma - Heart defect-choanal Atresia - Retarded growth and development -  
Genital hypoplasia - Ear anomalies

DI : Déficience Intellectuelle

FGF10 : Fibroblast Growth Factor 10

HDAC : Histone Desacetylase

IR : Insuffisance Rénale

MAR : Malformation AnoRectale

NurD : complexe désacétylase de remodelage des nucléosomes

PNDS : Protocole National de Diagnostic et de Soins

PNMR : Plans Nationaux Maladies Rares

RPM : Retard psychomoteur

SALL1 : SAL-Like 1 / espèce humaine

Sall1 : Sal-like 1 / espèces vertébrées hors espèce humaine

SHH : Sonic HedgeHog

SeqOIA : Sequencing Omics, Information Analysis

TBS : Syndrome de Townes-Brocks

TBX5 : T-box factor 5

VACTERL : Vertebral defect - Anal atresia - Cardiac and vascular malformation -

Tracheoesophageal fistula / oEsophageal atresia - Renal dysplasia - Limb malformation



## RESUME

### Etude clinique et moléculaire du syndrome de Townes-Brocks (*SALL1*) : à propos d'une série de 49 patients et revue de la littérature

**Contexte.** Le syndrome de Townes-Brocks (TBS) est une pathologie autosomique dominante liée aux altérations du gène *SALL1*, caractérisée par une triade clinique (malformations anorectales, des pouces et des oreilles externes) associée à d'autres signes variables. L'insuffisance rénale et la surdité peuvent survenir à tout âge rendant le suivi de ces patients indispensable. Des corrélations génotype-phénotype ont été proposées mais les données sont limitées. L'objectif était la description clinique et biologique d'une nouvelle série de patients et la recherche de corrélations génotype-phénotype.

**Méthode.** Nous avons inclus 49 nouveaux patients et 207 patients issus de la littérature. Les analyses statistiques comparatives ont été réalisées selon la position du variant identifié, notamment par rapport au site riche en glutamine correspondant au site de dimérisation des protéines Sal.

**Résultats.** La triade clinique était retrouvée chez 25% des individus de notre série vs 49,7 % pour ceux issus de la littérature. Une insuffisance rénale était observée chez 39,6 % des patients de notre série vs 29,3 % dans la littérature. La fréquence de la surdité était similaire (65 %). Un trouble du développement intellectuel était rapporté chez 9 % des patients, mais certaines données étaient incomplètes (sévérité, évolution, etc). Sur le plan moléculaire, 35 % des variants de notre série étaient localisés avant le site riche en glutamine vs 6,5 % dans la littérature. Les analyses de corrélation génotype-phénotype ont été réalisées à partir des données de notre série et de la littérature : respectivement 26 et 200 individus étaient porteurs d'un variant avant et après le site riche en glutamine. Une augmentation significative des taux de surdités ( $p=0,037$ ), de malformations des oreilles externes ( $p=0,003$ ) et des pouces ( $p=0,009$ ) et une diminution

significative de l'insuffisance rénale ( $p=0,04$ ) étaient observées chez les patients porteurs d'un variant situé après le site riche en glutamine, chez des individus cependant significativement plus jeunes ( $p=0,033$ ).

**Conclusion.** Ce travail, comprenant la description de la plus grande série de patients porteurs d'un TBS, a permis d'identifier des corrélations génotypes-phénotypes. Bien qu'ils ne puissent pas être utilisés pour le suivi individuel des patients, ces résultats pourraient orienter de futures études fondamentales pour une meilleure compréhension du rôle de *SALL1* et de son mode d'action.

# **INTRODUCTION**

## **I. Maladies rares**

Les maladies rares sont définies par une prévalence en population générale inférieure à 1/2000. Elles touchent environ 3 millions de français et représentent donc un enjeu de Santé Publique. La prise en charge des maladies rares fait l'objet d'une organisation nationale spécifique mise en place par 3 Plans Nationaux Maladies Rares (PNMR) successifs (1).

Le PNMR1 (2005-2008) s'est articulé autour de 10 axes avec comme objectifs une meilleure connaissance de l'épidémiologie et des caractéristiques des maladies rares par la population générale et les professionnels de santé, la mise en place des tests diagnostiques, l'amélioration de l'accès aux soins, l'aide à la recherche et le déploiement de partenariats nationaux et européens. Ceci s'est concrétisé notamment par la mise en place des Centres de Référence et de Compétences Maladies Rares et du maillage territorial permettant une prise en charge d'expertise personnalisée au plus proche du domicile du patient. Ces Centres ont aussi une mission de formation et de recherche (2).

Par la suite, le PNMR2 (2011-2016) a proposé 3 grands axes : améliorer la qualité de la prise en charge du patient, développer la recherche et amplifier les coopérations européennes et internationales. Ce plan a, entre autres, permis la mise en place des Filières de Soins Maladies Rares afin d'améliorer la coopération nationale. Par ailleurs, il a contribué au développement des analyses génétiques et de la Banque de Données Nationale Maladies Rares (3).

Ultérieurement, le PNMR3 (2018-2022) a développé 11 axes dont l'amélioration du diagnostic et du parcours de soin, le partage des données, l'accès aux traitements, le développement de la recherche et la formation des professionnels de santé. Il promeut la rédaction et la mise à jour de Protocoles Nationaux de Diagnostic et de Soins (PNDS) pour les maladies rares dans un but d'harmonisation de la prise en charge des patients sur le territoire national. Ce 3<sup>e</sup> plan vient

compléter le Plan France Médecine Génomique 2025 mettant en place deux plateformes nationales dédiées au séquençage à haut débit de génomes (SeqOIA et AURAGEN) destinées à réduire l’impasse et l’errance diagnostique des patients de manière équitable sur le territoire (4).

Le PNMR4 n'est pas encore publié. Plusieurs objectifs ont été avancés par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche : amélioration du rendement diagnostique par des liens accrus entre le soin et la recherche, amélioration de l'accès au traitement et de la collecte des données (5).

Il existe de nombreuses maladies rares dont les phénotypes sont très variables et peuvent concerner un ou plusieurs organes. Elles peuvent être d'origine environnementale ou plurifactorielle, mais elles sont le plus souvent d'origine génétique (1).

## **II. Syndrome de Townes-Brocks**

Le syndrome de Townes-Brocks (TBS) (OMIM #107480) est une affection rare d'origine génétique de transmission autosomique dominante caractérisée par une pénétrance complète et une expressivité très variable. La prévalence a été estimée à 0,42 nouveau-nés atteints pour 100 000 naissances entre 1976 et 1997 en Espagne, en l'absence de confirmation diagnostique sur le plan moléculaire (6). Au 01/11/2023, en France, 159 patients étaient référencés dans la Banque Nationale de Données Maladies Rares comme atteints d'un TBS, sans précision sur leurs phénotypes précis ni sur une éventuelle confirmation sur le plan moléculaire (7).

Le TBS a été décrit initialement dans les années 1970 à partir d'une forme familiale rapportée par P. Townes et E. Brocks. Les apparentés atteints présentaient un tableau polymalformatif similaire de transmission autosomique dominante : malformations anorectales (MAR), pouces triphalangés et bifides, autres malformations des membres, oreilles dysplasiques et surdité (8). Par la suite, la description d'autres patients a permis de dégager une triade clinique

caractéristique composée de : 1) malformations des pouces (triphalangés et/ou bifides majoritairement mais aussi hypoplasiques) ; 2) oreilles externes dysplasiques (malformations de l'hélix souvent replié, microtie, tubercules et fistules) ; 3) MAR, le plus souvent basses (9). Sur le plan génotypique, la pathologie a été associée aux altérations du gène *SAL-like 1* (*SALL1*) situé sur le chromosome 16 en 1998 par J. Kohlhase, à la suite de la découverte d'une translocation réciproque entre les chromosomes 5 et 16 chez des sujets atteints (10).

Ultérieurement, plusieurs séries ont été rapportées permettant de préciser le génotype et le phénotype des patients, en particulier la pénétrance complète et l'expressivité très variable inter- et intra-familiale de la pathologie (11–14). D'autres atteintes ont ainsi été liées de manière formelle au TBS, au premier rang desquels figurent l'atteinte rénale qu'elle soit malformatrice (typiquement hypo/dysplasie rénale) ou fonctionnelle (insuffisance rénale (IR)) (15,16), la surdité et les malformations des pieds (9). De plus, certains patients peuvent présenter des malformations cardiaques plus ou moins sévères, des atteintes endocrinianes à type d'hypothyroïdie ou de retard de croissance (17), des anomalies des nerfs crâniens notamment l'anomalie de Stilling-Duane et une asymétrie faciale (18,19), ainsi que des variations du développement génital en particulier chez les patients de sexe masculin (9) (Tableau 1).

**Tableau 1 : Prévalence des signes cliniques du syndrome de Townes-Brocks, d'après J.**

Kohlhase et al. GeneReviews® 1993 (9).

<b>Atteintes</b>	<b>Fréquence</b>
Malformation des pouces (triade)	89%
Oreilles dysplasiques (triade)	87%
Malformation anorectale (triade)	84%
Surdité	65%
Malformation des pieds	52%
Malformation rénale et/ou insuffisance rénale	42%
Malformation génito-urinaire	36%
Malformation cardiaque congénitale	25%
Déficience intellectuelle	10%
Retard de croissance	6-29%
Anomalie squelettique (vertébrale, costale)	9%
Colobome, anomalie de Stilling-Duane, malformation d'Arnold-Chiari, hypothyroïdie, microsomie hémifaciale, cataracte, microptalmie	Rare

A ce jour, il n'existe pas de traitement curatif : la prise en charge repose donc sur des traitements symptomatiques en fonction des atteintes présentées. Le suivi des patients est essentiel pour dépister le plus précocement possible la surdité et l'insuffisance rénale, pouvant se déclarer à tout âge, afin d'assurer une prise en charge précoce (9).

Il existe de nombreux chevauchements phénotypiques avec d'autres pathologies, d'origine génétique ou non, notamment le syndrome d'Okihiro (20), l'association VACTERL (pour Vertebral defect, Anal atresia-Cardiac and vascular malformation, Tracheoesophageal fistula, oEsophageal atresia, Renal dysplasia, Limb malformation) (21), la maladie ou anémie de Fanconi (22), le syndrome de Goldenhar (ou spectre oculo-auriculo-vertébral) (23), le syndrome Branchio-Oto-Rénal (24) et le syndrome CHARGE (pour Coloboma, Heart defect, choanal Atresia, Retarded growth and development-Genital hypoplasia, Ear anomalies) (25).

Le Tableau 2 reprend le phénotype typique de ces pathologies et les signes cliniques pouvant les distinguer du TBS. Pour les signes cliniques en commun, la différence de prévalence de chaque signe selon la pathologie peut permettre de prioriser un syndrome plutôt qu'un autre.

Par exemple, le colobome est plus classiquement retrouvé dans le syndrome CHARGE (80%) (25) que dans le TBS (quelques patients rapportés) (12–14,26,27). De même, l'orientation vers un syndrome d'Okihiro plutôt que vers un TBS se fait notamment par une prévalence plus importante de l'anomalie de Stilling-Duane (65% *versus* rare) et d'hypoplasie du rayon radial dans le syndrome d'Okihiro (20). Certains diagnostics différentiels n'ont pas déterminisme moléculaire clairement identifié, comme le syndrome de Goldenhar et l'association VACTERL. Ces derniers sont probablement d'origine plurifactorielle, bien que de rares étiologies génétiques aient été rapportées dans la littérature (21,23).

Ces diagnostics différentiels sont les principaux à évoquer en cas d'association malformatrice plus ou moins évocatrice d'un TBS, mais de nombreux autres diagnostics pourraient être listés de par l'expressivité très variable du syndrome, avec parfois une atteinte semblant isolée chez un patient.

Dans ce contexte, le diagnostic moléculaire, par identification d'un variant (probablement) pathogène dans le gène *SALL1*, est un enjeu majeur afin de confirmer le diagnostic de TBS pour adapter le suivi de ces patients en conséquence, préciser le conseil génétique familial et dépister les apparentés potentiellement concernés. Sur le plan moléculaire, le TBS a été associé uniquement aux altérations du gène *SALL1* à ce jour (10).

**Tableau 2 : Diagnostics différentiels du syndrome de Townes-Brocks.**

AD, autosomique dominant. AR, autosomique récessif. CHARGE, Coloboma-Heart defect-choanal Atresia-Retarded growth and development-Genital hypoplasia-Ear anomalies. DI, déficience intellectuelle. IR, insuffisance rénale. N/A, non applicable. TBS, syndrome de Townes-Brocks. VACTERL, Vertebral defect-Anal atresia-Cardiac and vascular malformation-Tracheoesophageal fistula/oEsophageal atresia-Renal dysplasia-Limb malformation. XL, lié à l'X.

Pathologie	Gène	Trans-mission	Phénotype typique	Signes cliniques distinctifs du TBS
TBS	<i>SALL1</i>	AD	Triade (oreilles dysplasiques, malformations des pouces (polydactylie pré-axiale) et anorectales), surdité, atteinte rénale	N/A
Syndrome d'Okihiro	<i>SALL4</i>	AD	Anomalie de Stilling-Duane, hypoplasie du rayon radial, polydactylie pré-axiale, malformations rénales, colobome, malformation cardiaque	Syndrome de Stilling-Duane, hypoplasie du rayon radial
Association VACTERL	Absence de déterminisme moléculaire	N/A	Malformations vertébrales, anorectale, rénale et des membres, atteinte cardiovasculaire, fistule trachéo-oesophagienne, atrésie œsophagienne	Fistule trachéo-oesophagienne, atrésie œsophagienne, malformations vertébrales
Syndrome Branchio-Oto-Rénal	<i>EYA1, SIX1, SIX5</i>	AD	Malformations de l'oreille, surdité, signes branchiaux, hypoplasie/aplasie rénale, IR	Signes branchiaux
Syndrome CHARGE	<i>CHD7</i>	AD	Colobome, malformation cardiaque congénitale, atrésie des choanes, retard de croissance, DI, variation du développement génital, malformation des oreilles, surdité	Colobome, atrésie des choanes, DI, hypoplasie des canaux semi-circulaires, anomalies des nerfs crâniens, fente palatine, fistule trachéo-oesophagienne
Maladie de Fanconi	21 gènes identifiés	AR (plus rarement : AD, XL)	Retard de croissance, microcéphalie, anomalie de la pigmentation cutanée, pouces hypoplasiques, anomalies ophtalmologiques et génito-urinaires, insuffisance médullaire progressive	Insuffisance médullaire progressive, cancers, microcéphalie, anomalie de la pigmentation cutanée
Syndrome de Goldenhar	Absence de déterminisme moléculaire	N/A	Asymétrie faciale, microtie, dermoïde épibulbaire, anomalies vertébrales	Asymétrie faciale, dermoïde épibulbaire

### III. Gène SALL1

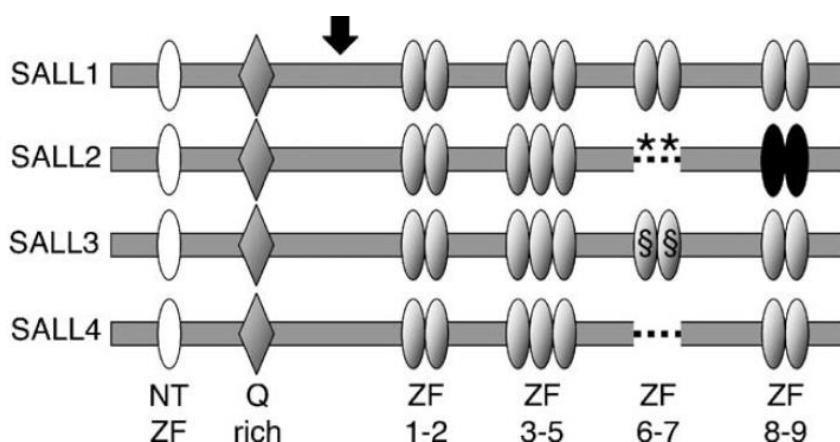
#### 1. Gènes SALL

Les gènes de la famille SALL ont été ainsi nommés du fait de leur homologie avec les deux gènes paralogues *spalt major* et *related* identifiés chez la drosophile. Cette famille de gènes est cependant retrouvée depuis l'espèce *C. Elegans*. Chez les humains, on compte 4 gènes SALL : SALL1 (OMIM #602218), SALL2 (OMIM #602219), SALL3 (OMIM #605079) et SALL4 (OMIM #607343). Ils codent pour des facteurs de transcription impliqués dans la régulation de la transcription de gènes cibles et dans le développement embryonnaire (28).

Les protéines SALL présentent une structure similaire avec plusieurs domaines en doigt de zinc dont certains sont répartis en doublet, et une région riche en acide aminé glutamine impliquée dans la dimérisation et les interactions protéiques (Figure 1) (28,29). Il existe une redondance spatiale et fonctionnelle entre les protéines Sall, par exemple entre Sall1 et Sall3 dans le développement des membres (30), ou entre Sall1 et Sall4 dans le développement cardiaque (31).

**Figure 1 : Structure des protéines Sall (vertébrés), d'après D. Sweetman, A. Münsterberg. Developmental Biology 2006 (32).**

Q riche : site riche en acides aminés glutamine, médiant les interactions Sall. NT ZF : domaine en doigt de zinc N-terminal (type C2HC). ZF : domaine en doigt de zinc (type C2H2). Cercles noirs : ZF non homologue aux autres Sall. Flèche noire : hotspot mutationnel du TBS. \*\*, ZF présent chez *Xenopus* mais absent chez l'humain. §§, ZF absent chez le poulet mais présent chez l'humain.



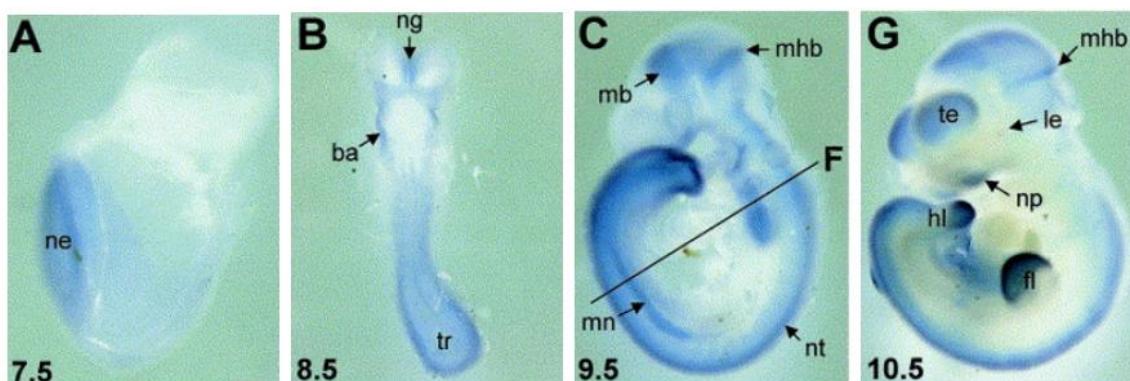
## 2. Facteur de transcription répresseur SALL1

Le gène *SALL1*, localisé sur le chromosome 16 en 16q12 (33), code pour une protéine de 1324 acides aminés, correspondant au facteur de transcription répresseur SALL1 impliqué en particulier dans les processus développementaux (28). Il existe deux principaux transcrits : le transcrit majoritaire NM\_002968 et un transcrit alternatif NM\_001127892 utilisant un premier exon alternatif, peu exprimé (34).

L'ARN murin *Sall1* est exprimé dans de nombreux tissus lors l'embryogenèse, en particulier au niveau cérébral, du bourgeon de membre, du mésonéphros, du métanéphros, du cristallin, des bulbes olfactifs, du cœur et du tubercule génital (Figure 2), reflétant les atteintes décrites dans le TBS précédemment (35,36).

**Figure 2 : Expression embryonnaire de l'ARN murin *Sall1*, d'après Buck et al. *Mechanisms of Development* 2001 (35).**

- A. Embryon à 7,5 jours : ne, ectoderme neural.
- B. Embryon à 8,5 jours : ba, arcs branchiaux ; ng, crête neurale ; tr, région du tronc.
- C. Embryon à 9,5 jours : mb, mésencéphale antérieur ; mhb, limite du mésencéphale ; mn, tronc postérieur et mésonéphros ; nt, tube neural.
- G. Embryon à 10,5 jours : fl, membres antérieurs ; hl, membres postérieurs ; mhb, limite du mésencéphale ; np, processus nasal médian ; le, vésicule du cristallin ; te, télencéphale.



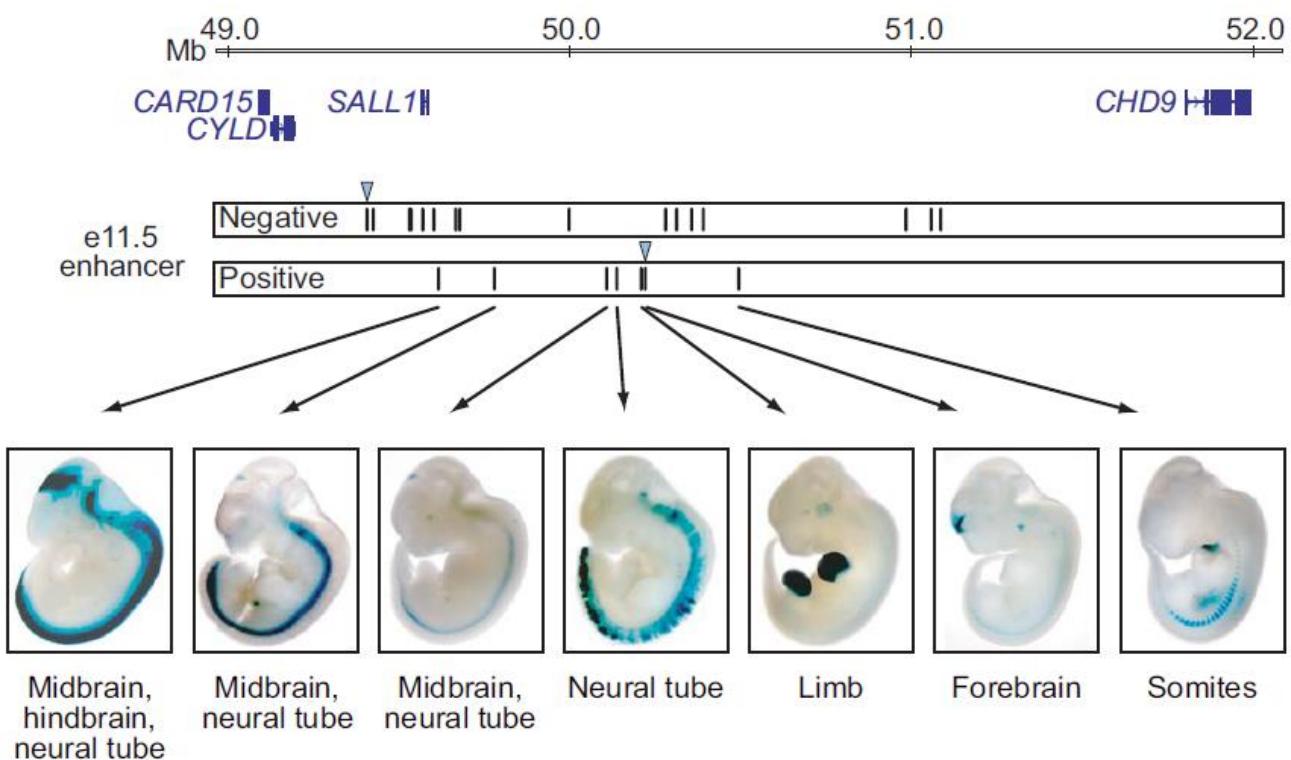
*Sall1* a aussi été mis en évidence dans les tissus murins adultes, en particulier dans le tissu rénal, mais aussi cérébral, hépatique, et cardiaque (36,37). Par ailleurs, *SALL1* est fortement exprimé chez l'humain dans les tissus adultes rénaux, thyroïdiens, hépatiques, cérébraux et dans

les organes génitaux (34).

Cette expression différentielle spatio-temporelle peut être expliquée en partie par l'action d'éléments régulateurs, situés dans l'ADN non codant à distance des gènes qu'ils régulent. Ces unités permettent de réguler l'activité transcriptionnelle des gènes soit en activant le promoteur (*enhancer*) soit en l'inhibant (*silencer*) modulant ainsi l'expression génique dans un tissu donné à un temps donné. En particulier, quelques *enhancers* de *SALL1* ont pu être caractérisés au niveau cérébral et du bourgeon de membre (Figure 3) (38).

**Figure 3 : Enhancers identifiés dans la région environnante de *SALL1*, d'après L. A. Pennacchio et al. *Nature* 2006 (38).**

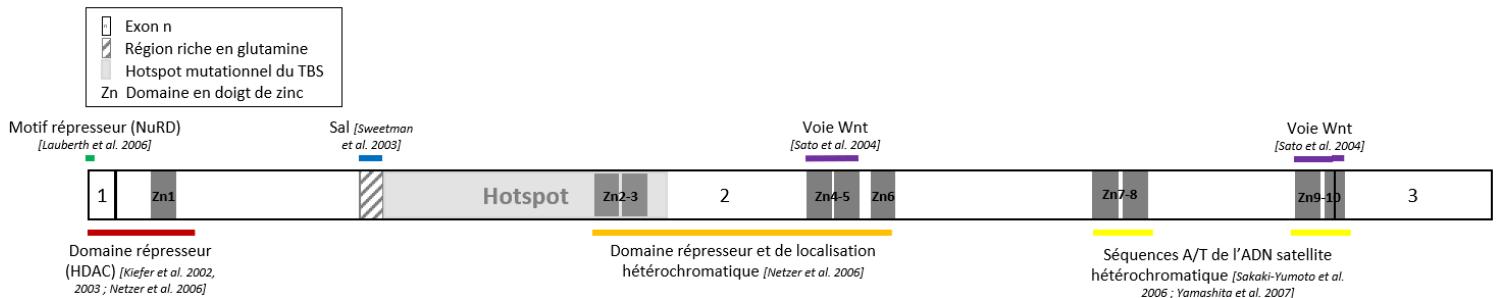
Tests rapporteurs de séquences humaines (hg17) *in vivo* (embryon de souris au 11,5<sup>e</sup> jour).



Sur le plan structurel, *SALL1* comprend plusieurs domaines et régions interagissant avec d'autres éléments, décrits ci-dessous et résumés dans la Figure 4.

#### Figure 4 : Structure et interactions de SALL1.

HDAC, histone désacétylase ; NuRD, complexe désacétylase de remodelage des nucléosomes ; TBS, syndrome de Townes-Brocks ; Zn, domaine en doigt de zinc.



L'activité génique répressive a été associée à deux domaines répresseurs *in vitro* : 1) le premier est localisé à l'extrémité N-terminale, et est actif quel que soit la configuration finale de la protéine ; 2) le deuxième est situé dans la région centrale de la protéine, avec une activité dépendante de la configuration finale de la protéine, ce qui suggère des mécanismes complémentaires nécessaires pouvant correspondre à une localisation cellulaire adéquate de SALL1 ; en effet, différentes constructions de SALL1 suggéraient que cette région comprenait aussi une fonction localisatrice de SALL1 au niveau de l'hétérochromatine péri-centromérique, correspondant à la chromatine inactive transcriptionnellement (39). Par ailleurs, le domaine répresseur N-terminal de Sall1 interagit avec des protéines du complexe histone désacétylase (HDAC), modifiant les marques épigénétiques des histones, pour médier la répression transcriptionnelle de gènes à courte et longue portées (40). Plus particulièrement, le complexe désacétylase de remodelage des nucléosomes (NuRD), jouant un rôle critique dans la régulation génique lors du développement embryonnaire, se lie à un motif de 12 acides aminés à l'extrémité N-terminale de Sall1, cette liaison étant suffisante pour l'activité répressive de Sall1 (41). D'autre part, une interaction SALL1-CBX4 a été mise en évidence dans le nucléoplasme. CBX4 appartient au complexe répressif Polycomb 1, impliqué lui aussi dans la répression génique lors du développement embryonnaire. SALL1 diminue la dégradation de CBX4 via le protéasome par diminution de son ubiquitination, entraînant une modification de l'expression des gènes cibles de CBX4 (42).

De plus, Sall1 interagit avec l'ADN via ses domaines en doigt de zinc C-terminaux afin d'exercer son action répressive sur ses gènes cibles. En particulier, le dernier doublet C-terminal a une forte affinité pour les séquences riches en bases A/T de l'ADN satellite situées au niveau de l'hétérochromatine péri-centromérique, suggérant une liaison directe Sall1-ADN (43). Il pourrait aussi y avoir l'intervention d'autres facteurs, notamment du facteur liant les régions répétées télomériques (PIN2/TRF1) retrouvé aussi au niveau centromérique (44).

Au niveau de la structure quaternaire protéique, Sall1 s'homo-dimérisé ou s'hétéro-dimérisé avec les autres Sall en particulier via le site riche en glutamine (29,45).

Sur le plan moléculaire, Sall1 agit en synergie avec la voie Wnt via la bêta-caténine pour activer la signalisation en aval (46). Par ailleurs, de par son activité génique répressive, SALL1/Sall1 a un rôle dans de nombreux processus développementaux parallèles, qui sont développés ci-dessous.

### **3. SALL1 dans les processus rénaux**

Au début de la 4ème semaine de développement embryonnaire, le néphrotome (mésoblaste intermédiaire) donne les cordons néphrogènes, qui se différencient selon un gradient céphalo-caudal, formant trois paires de reins : les pronéphros, les mésonéphros et les métanéphros. Le pronéphros dégénère au 25<sup>e</sup> jour du développement, le mésonéphros forme une partie des organes génitaux internes masculins, alors que le métanéphros est à l'origine du rein définitif (47).

L'expression de l'ARN murin Sall1 au niveau rénal est permise en partie par le facteur de transcription SIX1 impliqué dans le développement rénal précoce (48). Ainsi, Sall1 est retrouvé précocement dans le mésonéphros au niveau des tubules et du canal collecteur, puis dans le métanéphros autour du bourgeon urétral, et plus tardivement dans les glomérules, le cortex cellulaire adjacent à la capsule, et les tubules (35,36).

Les souris homozygotes pour un allèle *Sall1* nul présentent une croissance incomplète du

bourgeon urétéral, à l'origine du développement du métanéphros, sans atteinte du mésonéphros. Ceci est à l'origine d'une agénésie ou d'une sévère dysgénésie rénale aboutissant à une léthalité précoce, suggérant un rôle important de SALL1 sur l'expression de gènes cibles durant le développement rénal (36). Par ailleurs, l'interaction entre Sall1 et le complexe désacétylase de remodelage des nucléosomes (NuRD) est à l'origine de l'inhibition de la différenciation prématuée des cellules progénitrices des néphrons prévenant l'hypoplasie rénale. Cette interaction permet aussi la différenciation de cellules progénitrices des néphrons vers les cellules de la branche ascendante de l'anse de Henlé, possiblement via la voie Wnt (49).

Sall1 a aussi été identifié dans du tissu rénal adulte, essentiellement au niveau de l'épithélium des tubules (50,51). Après ischémie-reperfusion rénale, la majorité des cellules exprimant Sall1 entrent en division, avec quelques cellules montrant une division asymétrique. Il s'y associe une augmentation précoce et transitoire de l'expression de Sall1, suggérant un rôle dans les cellules souches rénales (51).

#### **4. SALL1 dans le développement cardiaque**

L'ARN murin Sall1 est exprimé précocement et spécifiquement dans les cardiomyocytes des ventricules et dans les cellules progénitrices mésodermiques du second champ cardiaque à l'origine du ventricule droit, des voies d'éjection et de certaines parties des oreillettes (31). Sall1 est aussi retrouvé transitoirement dans le mésoderme pré-cardiaque à l'origine du premier champ cardiaque puis du ventricule gauche, mais pas dans le premier champ cardiaque par la suite. Par ailleurs, des études *in vitro* ont montré qu'un niveau élevé de Sall1 au stade mésodermique améliorait la cardiomyogénèse, mais supprimait la différenciation cardiaque par la suite si l'expression de Sall1 était maintenue, suggérant un rôle de maintien des cellules progénitrices cardiaques au stade dédifférencié (52).

## **5. SALL1 dans le développement cérébral**

L'ARN murin Sall1 est exprimé largement au niveau antérieur de l'ectoderme neural dès le 7,5<sup>e</sup> jour du développement embryonnaire murin. L'expression est maintenue jusqu'au 12,5<sup>e</sup> jour, notamment au niveau de la crête neurale, du tube neural, du mésencéphale, des bulbes olfactifs et du télencéphale (35). Plusieurs *enhancers* cérébraux ont été caractérisés, plus spécifiquement au niveau du mésencéphale, et du cerveau postérieur et antérieur (38).

Sall1 est exprimé dans des cellules progénitrices du système nerveux central murin avec un rôle initial de prolifération cellulaire puis un rôle ultérieur de différenciation neuronale, ces deux processus ayant un impact sur le volume du cortex cérébral (53). Par ailleurs, Sall1 est aussi requis pour la différenciation initiale des cellules gliales, cellules immunitaires du système nerveux central (54).

## **6. SALL1 dans le développement des membres**

Le développement des membres est initié par les gènes HOX puis se poursuit selon 3 axes : 1) la croissance proximo-distale du membre, sous le contrôle des facteurs de croissance fibroblastiques, de la voie des BMP et de la crête ectodermique apicale ; 2) la polarisation dorso-ventrale sous le contrôle de la voie WNT, permettant la différenciation entre la paume et le dos de la main et du pied ; 3) la polarisation antéro-postérieure sous le contrôle de la zone à activité polarisante et de SHH, à l'origine du nombre et de l'identité des doigts (55).

L'ARN murin Sall1 est fortement exprimé dans le bourgeon de membre, surtout au niveau postérieur (vers le 5<sup>e</sup> rayon) initialement, puis dans la plaque de la main, au niveau de la crête ectodermique apicale, des zones interdigitales et, finalement, majoritairement au niveau des régions distales des 5 rayons (35). Un *enhancer*, situé à une distance de 500 kb en amont de SALL1, a été mis en évidence avec une activité retrouvée dans l'entièreté du bourgeon de membre au 11,5<sup>e</sup> jour, suggérant l'existence d'autres éléments régulateurs au vu de l'expression spatiale différente de l'ARN Sall1 (38).

Sur le plan moléculaire, Sall1 est régulé par plusieurs éléments des 3 axes de développement qui interagissent entre eux : en particulier Shh, Bmp2, Fgf4 (facteur de croissance fibroblastique), des acteurs de la voie Wnt (56) et les gènes Hox (30).

Au cours du développement des nageoires pectorales, l'expression de Sall1 est contrôlée par le facteur de transcription Tbx5, qui est un acteur majeur du développement des membres antérieurs, notamment pour son rôle crucial dans l'induction des bourgeons antérieurs. De plus, Sall1 semble contrôler l'expression de Fgf10, ayant une fonction importante pour la croissance des membres (57). Les altérations de *TBX5* et *FGF10* ont été liées respectivement aux syndromes de Holt-Oram et lacrimo-auriculo-dento-digital, tous deux caractérisés par la présence d'anomalies du rayon radial.

Par ailleurs, il a récemment été rapporté que Sall1 agissait en amont d'*Isl1*, correspondant à un élément crucial pour l'induction du bourgeon des membres postérieurs (58).

## **7. Etudes *in vitro* et *in vivo* des altérations constitutionnelles de *SALL1***

Le TBS est causé par des variants tronquants (variants non-sens et variants avec insertion ou délétion entraînant un décalage du cadre de lecture) situés dans l'exon 2 à l'origine d'un codon stop prématûr et de la synthèse d'une protéine *SALL1* tronquée, ou des délétions emportant tout ou une partie de *SALL1* (9).

A noter que *SALL1* a été impliqué en Cancérogenèse, notamment pour son rôle de suppresseur de tumeur (59).

Des études fonctionnelles ont mis en évidence une résistance au *nonsense-mediated mRNA decay*, mécanisme cellulaire éliminant les ARNs contenant un codon stop prématûr, de certains variants pathogènes de *SALL1*, notamment le variant récurrent c.826C>T;p.(Arg276\*) (60,61). La persistance de Sall1 tronquée a aussi été retrouvée dans du tissu murin cardiaque, intestinal, rénal et dans les membres (60). D'autre part, les souris homozygotes pour un allèle *Sall1* nul présentaient une léthalité précoce par atteinte rénale sévère, sans les autres atteintes

retrouvées dans le TBS (36). Ces différentes observations suggèrent une physiopathologie autre que l'haploinsuffisance dans le TBS.

*In vitro*, des études ont mis en évidence une localisation cytoplasmique et nucléaire d'une protéine Sall1 tronquée, plutôt qu'une localisation exclusivement nucléaire dans le cas de la protéine Sall1 sauvage. Cette localisation aberrante venait perturber la position de Sall4 au niveau de l'hétérochromatine, suggérant un effet dominant négatif par dimérisation des protéines Sall1 tronquées avec des protéines Sall4 sauvages. C'est par ce biais que pourraient être expliquées en partie les MAR du TBS. En effet, aucune souris hétérozygote pour un allèle *Sall1* nul n'a montré d'atteinte anorectale. En revanche, les malformations anorectales étaient plus fréquentes chez les souris hétérozygotes pour des allèles nuls à la fois pour *Sall1* et *Sall4* (11/16, 68,8%) que chez les souris hétérozygotes pour un seul allèle nul *Sall4* (4/14, 28,6%) (62). La dimérisation de Sall1 tronquée et sauvage a aussi été démontrée avec les autres Sal sauvages probablement essentiellement via la région riche en acide aminé glutamine. A noter que cette étude évoquait des résultats préliminaires en faveur d'une dimérisation partielle de Sall1 tronquée du site riche en glutamine, sans statuer si ce taux de dimérisation était pertinent sur le plan physiopathologique (45). Par ailleurs, Sall1/SALL1 tronquée a un impact sur la voie Wnt (46), sur des gènes cibles (60), ainsi que sur la voie SHH (CCP110 et CEP97) impliquée dans la ciliogenèse (63), pouvant rendre compte des atteintes retrouvées dans le TBS.

*In vivo*, les souris hétérozygotes *Sall1-ΔZn<sup>2-10</sup>* exprimaient une protéine Sall1 tronquée mimant une mutation identifiée chez un patient atteint d'un TBS (c.1277\_1278delGA). Ces souris présentaient un phénotype compatible avec le TBS : surdité neurosensorielle avec une atteinte des hautes fréquences, hypoplasie rénale et anomalies osseuses du poignet. Par ailleurs, les souris homozygotes *Sall1-ΔZn<sup>2-10</sup>* avait un phénotype plus sévère (agénésie rénale, exencéphalie, MAR, malformation des membres) que les souris homozygotes pour un allèle *Sall1* nul (45).

## IV. Contexte

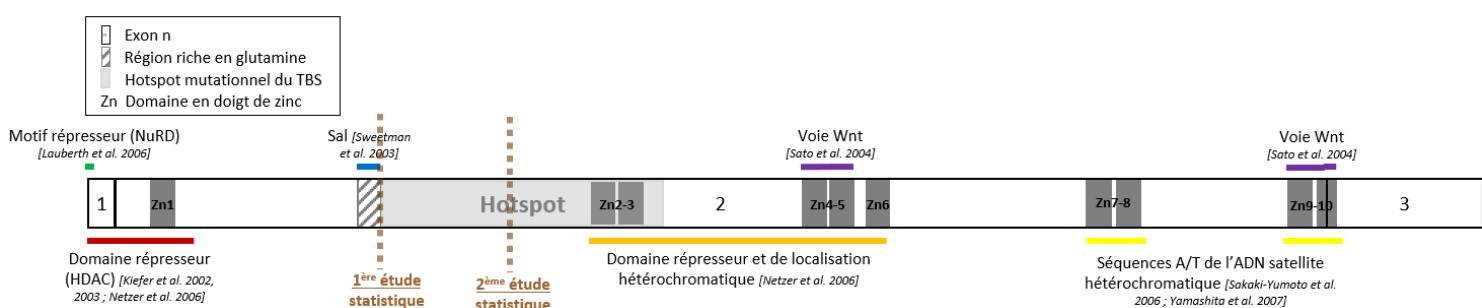
Ce travail porte sur une nouvelle série de 49 patients issus de 22 familles atteints d'un TBS confirmé sur le plan moléculaire (variant probablement pathogène ou pathogène du gène *SALL1*, ou délétion emportant tout ou une partie du gène *SALL1*). La revue de la littérature a permis de colliger les données de 207 patients issus de 130 familles (60 articles), confirmés de la même façon sur le plan moléculaire.

L'objectif principal était la description clinique et biologique de ces 49 patients à partir d'un formulaire détaillé renseigné par les cliniciens (Annexe 1). En effet, le TBS étant rare, la description de nouveaux patients est essentielle pour mieux connaître l'histoire naturelle de la maladie afin d'adapter le suivi, améliorer la prise en charge des patients et préciser le conseil génétique pour la famille. Il n'existe pas de PNDS ou de consensus international sur le diagnostic et la prise en charge de cette pathologie avant l'élaboration de ce projet.

L'objectif secondaire était d'établir d'éventuelles corrélations génotype-phénotype dont certaines ont été évoquées dans la littérature avec des données cependant limitées (cf. introduction de l'article) (9,26,64,65). Deux analyses statistiques comparatives ont été réalisées dans ce travail (Figure 5) :

**Figure 5 : Représentation schématique de la répartition des deux groupes comparatifs pour les deux études statistiques réalisées, par rapport à SALL1.**

Le trait en pointillé représente le seuil délimitant les deux groupes comparatifs pour chaque étude.



1) La 1ère analyse a été réalisée selon la localisation du variant par rapport à la région riche en glutamine permettant l'homo-dimérisation et l'hétéro-dimérisation des protéines Sal (29). L'hypothèse ici était un effet dominant négatif des variants situés après le site de dimérisation permettant potentiellement à la protéine SALL1 tronquée d'interagir avec les protéines SALL sauvages. Ceci pourrait donner lieu à des signes cliniques plus fréquents chez ses patients par rapport aux variants situés avant le site de dimérisation aboutissant possiblement à une perte de fonction de la protéine tout comme les délétions de *SALL1*.

2) La 2ème analyse a été réalisée selon la localisation du variant par rapport au milieu du hotspot mutationnel décrit dans la littérature (14). En effet, J. Kohlhase a évoqué un phénotype plus sévère pour les variants situés en 5' par rapport aux variants situés en 3' de ce hotspot, sans hypothèse physiopathologique évidente sous-jacente (9).

Ce travail va être soumis dans la revue *European Journal of Human Genetics* (66). L'article présenté ci-dessous est en cours de relecture par les co-auteurs.

## ARTICLE

### Title Page

**Title of the paper:** Townes-Brocks syndrome: genotype-phenotype correlations in a new series of 49 patients and the literature review

**Authors:** Fiona LEDUC<sup>1</sup>, Perrine BRUNELLE<sup>2</sup>, Fabienne ESCANDE<sup>3</sup>, Nassima RAMDANE<sup>4</sup>, Laurence BELLENGIER<sup>1</sup>, Léa GIACOMELLO<sup>5</sup>, Christine LEFEVRE<sup>6</sup>, Aurélie MEZEL<sup>7</sup>, Charlotte SAMAILLE<sup>8</sup>, Rony SFEIR<sup>9</sup>, Philippine TOULEMONDE<sup>10</sup>, Rare Disease networks, Sylvie MANOUVRIER-HANU<sup>1</sup>, Catherine VINCENT-DELORME<sup>1</sup>, Florence PETIT<sup>1</sup>, Clémence VANLERBERGHE<sup>1</sup>

### Affiliations:

1, CHU Lille, Univ. Lille, Clinique de génétique « Guy Fontaine », ULR7364 RADEME, F-59000 Lille, France

2, CHU Lille, Univ. Lille, Institut de Génétique médicale, ULR7364 RADEME, F-59000 Lille, France

3, CHU Lille, Univ. Lille, Biochimie et Biologie moléculaire, ULR7364 RADEME, F-59000 Lille, France

4, CHU Lille, Department of Biostatistics, F-59000 Lille, France

5, Centre de rééducation pédiatrique Marc Sautelet, AFM, F-59650, Villeneuve d'Ascq, France

6, CHU Lille, Endocrinopédiatrie, F-59000 Lille, France

7, CHU Lille, Chirurgie orthopédique pédiatrique, F-59000 Lille, France

8, CHU Lille, Néphropédiatrie, F-59000 Lille, France

9, CHU Lille, Chirurgie viscérale pédiatrique, F-59000 Lille, France

10, CHU Lille, ORL pédiatrique, F-59000 Lille, France

**Collaborators:**

Rare Disease networks: Khaoula ZAAFRANE, Lucile RIERA-NAVARRO, Fanny MORICE-PICARD, Klaus DIETERICH, Alicia COUDERT, Mathilde NIZON, Sophie BLESSON, Anne-Marie GUERROT, Sacha WEBER, Kara RANGUIN, Sabine SIGAUDY, Olga GLAZUNOVA, Bertrand ISIDOR, Solène CONRAD, Elise SCHAEFER, Olivia BOYER, Radka STOEVA, Alissandre LECORDIER, Geneviève BAUJAT, Laëtitia LAMBERT, Mélanie BERARD-CLOTEAU, Sarah GROTTO, Sébastien MOUTTON, Audrey PUTOUX, Hélène VALLIN, Sahar MANSOUR, Mohamed WAFIK, Shereen TADROS, Maria HAANPÄÄ, Catherine VILAIN, Sebastian NEUENS.

**Corresponding author:** [fiona.leduc@chu-lille.fr](mailto:fiona.leduc@chu-lille.fr)

## **Abstract**

Townes-Brocks syndrome (TBS, MIM#107480) is an autosomal dominant disorder linked to *SALL1* alterations and characterized by a clinical triad (anorectal, thumb, and external-ear malformations), along with variable features. Renal failure and deafness can occur at any age, making follow-up essential. Some genotype-phenotype correlations have been proposed but data are limited.

We collected clinical and molecular data from 49 patients with a *SALL1* (probably) pathogenic variant identified in our laboratory or through collaborations, and reviewed the 207 previously reported TBS patients in the literature. We performed statistical analysis to study genotype-phenotype correlations based notably on the variant position in relation to the glutamine-rich region.

In our series, 25% of individuals presented with the clinical triad compared to 49.7% in the literature. The deafness frequency was similar (65%). Renal failure was diagnosed in 39.6% of our patients compared to 29.3% in the literature. Developmental delay or intellectual disability affected 9% of patients. Of the 22 *SALL1* variants in our series, 35% were located upstream the glutamine-rich region, compared to 6.5% in the literature. Statistical analysis was performed on all patients, of which 26 and 200 carried a variant upstream and downstream the glutamine-rich region, respectively. A significant increase in deafness, dysplastic ear, and thumb malformations and a significant decrease in renal failure were observed in the individuals carrying a variant located downstream the region, but the median age was significantly younger.

Future studies should aim to elucidate the complex pathophysiological mechanisms and prognosis of TBS, functionally and prospectively.

**Key words.** Townes-Brocks syndrome, *SALL1*, genotype-phenotype correlation, follow-up, glutamine-rich region.

# Manuscript

## Introduction

Townes-Brocks syndrome (TBS, MIM#107480) is an autosomal dominant disorder historically characterised by the triad of thumb, external ear and anorectal malformations (1). Other features have subsequently been described, including deafness, feet malformations, kidney malformations and/or renal failure, congenital heart defects and male disorders of sex development (2–6). Penetrance is reported to be complete but expressivity, including severity, is highly variable even within the same family (7,8). In particular, renal failure and deafness can occur at any age, making the follow-up of TBS patients essential (9,10).

TBS is due to heterozygous variants of the *SALL1* (*Sal-like 1*) gene (11). The *SALL1* protein belongs to the Sal C2H2-type zinc finger protein family, characterised by zinc finger domains along the protein and a glutamine-rich region implicated in self-dimerization and heterodimerization with other Sall proteins (12–14). *SALL1* acts as a repressive transcription factor in developmental processes such as kidney, brain and limb development (13,15). It contains a repressor domain located at the extreme N-terminus domain, which binds to the nucleosome remodelling and deacetylase corepressor complex (16,17), and the heterochromatin localisation and repressor domain (18). Heterozygous *Sall1* knock-out mice have no phenotype, whereas  $\Delta Zn2-10$  *Sall1* mice, which produce a *SALL1* truncated protein, show some TBS features such as kidney malformations and hearing loss, suggesting a gain-of-function or dominant-negative effects of *SALL1* variants involved in TBS (19–21).

In human disease, most of the *SALL1* pathogenic variants involved in TBS are private and truncating (2,3). Some of them escape the nonsense-mediated mRNA decay and may also cause a gain-of-function or a dominant-negative effects (19,22). However, few TBS patients carry a partial or complete deletion of *SALL1* with or without deletion of contiguous genes, likely resulting in haploinsufficiency. Genotype-phenotype correlations have been proposed but data are limited (2,3,23). Among all the variants, a recurrent one, c.826C>T p.(Arg276\*), seems to be associated

with a more severe phenotype with a higher prevalence of congenital heart defects (2,24). Furthermore, some authors support the association of haploinsufficiency, since some patients carry a *SALL1* deletion, with a milder phenotype (23).

Here, we describe a new series of 49 patients from 22 families carrying a probably pathogenic or pathogenic variant or a deletion of *SALL1* gene in order to better characterise TBS. We also review patients carrying a *SALL1* variant from the literature, to perform statistical analyses and establish possible genotype-phenotype correlations according to the position of the truncating variants.

## **Subjects and Methods**

### Patients

Patients were recruited from the medical files of the laboratory at University Hospital of Lille (France) since 2006, and through calls for collaboration (AnDDI-Rares French network, ERN ITHACA and CRANIO European networks). Data were collected from a detailed form sent to the investigators and from the laboratory files when the analysis was performed locally. The inclusion criterion was the presence of a *SALL1* truncating variant classified as probably pathogenic or pathogenic according to the ACMG classification (25), or a *SALL1* deletion. Techniques for the genetic analyses were variable according to their evolution over the years and local diagnostic standards: Sanger sequencing, next generation sequencing, MLPA, chromosomal micro-array, whole exome sequencing (Table S1; precisions available on request). The variants in families 3, 4, 7, 9 and 17 have already been reported in a previous work from our team, but without detailed clinical description (24).

### Literature review

The literature review was performed using the HGMD Pro and Pubmed databases (until the date of 17/10/23) with the following terms: "Townes Brocks"; "*SALL1*". As above, the inclusion criterion

was the presence of a *SALL1* truncating variant or deletion, classified as probably pathogenic or pathogenic. The exclusion criterion was the absence of a phenotype description.

#### Statistical analysis

Categorical variables are expressed as numbers (percentage). Continuous variables are expressed as means (standard deviation, SD) in the case of normal distribution or medians [interquartile range] otherwise. Normality of distribution was assessed using histograms and the Shapiro-Wilk test.

Comparative statistical analysis was performed on the data from this study and the literature. Patients were divided into two groups according to the position of the truncating variant (start of the change in the case of a frameshift variant) in two ways: 1) upstream or within (from c.1 to c.750) and downstream (from c.751 to c.3975) the glutamine-rich region (located between c.687 and c.750) (4,12); 2) upstream and downstream the middle of the mutational hotspot (c.1164) (2,25). Patients carrying a *SALL1* deletion were excluded from this comparative analysis. Comparisons between two variant location groups were performed by using Chi-square tests (or Fisher's exact tests when expected cell frequency was <5) for categorical variables and Mann-Whitney U test for continuous variables. Variables compared were: sex, age, deafness, dysplastic ear, thumb malformation, malformation of lower limb, anorectal malformation, renal malformation, chronic renal failure, disorders of sex development, congenital cardiac malformation and endocrinial feature.

Statistical testing was done at the two-tailed  $\alpha$  level of 0.05. Data was analysed using SAS software package, release 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

## Results

### Present series

We recruited 49 TBS patients from 22 families, with a mean age of  $23.6 \pm 21.8$  years old (Table 1, Table S1). The clinical triad (dysplastic ear, anorectal and thumb malformations) was observed in 25% of patients. The most common feature was dysplastic ear (69.4%), often a helix malformation (Figure 1); thumb malformations were present in 53.1% with mostly triphalangeal and/or duplicated thumbs (Figure 1); 62.5% of patients had an anorectal malformation. Lower limb malformations were mainly clinodactyly and overlapping toe (Figure 1). Kidney structural malformations and chronic renal failure affected 53.8% and 39.6% of patients, respectively. Chronic renal failure occurred at any age, mostly in young adults but also in neonates (2 patients) and was often associated with hypo-dysplastic kidneys. Notably, 3 patients had chronic renal failure without abnormalities on kidney ultrasound. End-stage renal failure occurred in 6 patients, mostly adults. Deafness was diagnosed in 65.3% of patients. In most cases, deafness was postlingual, sensorineural, bilateral, mild to moderate. The course was sometimes progressive (4 patients). High frequencies were often affected, but audiograms results are heterogeneous. Six ear imaging were available: often normal, but incus and external auditory canal anomalies were seen in one patient each. Disorders of sex development were observed only in males (6/25, 24%). Of note, 4 patients had hypothyroidism which was sometimes subclinical, and 5 had growth retardation. Regarding ophthalmologic features (16/44, 36.4%), 2/44 individuals had Stilling-Duane anomaly, 3/44 individuals acquired cataract, 8/44 individuals had refractive disorders; no coloboma or epibulbar dermoid were observed. Two patients from the same family (family 18) had tetralogy of Fallot, one of whom died at 3 months. Developmental delay (DD) and/or intellectual disability (ID) affected 6/40 (15%), often mild to moderate. Unfortunately, the intellectual quotient was rarely available (Table S2). The patient F20P43 did not exhibit phenotypic characteristics. However, the initial assessment was incomplete, as it did not include a kidney and cardiac ultrasound.

Among the molecular data (Figure 2), one family of 9 members carried a large 16q12.1 deletion (1.2 Mb) encompassing *SALL1* and *HNRPNA1L3* (absent from the OMIM database) protein-coding genes. Forty patients from 21 families carried frameshift or nonsense variants of which 18 had not been previously reported in the literature. Of note, one family (family 18) carried the recurrent variant c.826C>T,p.(Arg276\*)(24). The variants c.709C>T,p.(Gln237\*) (family 12) and c.824T>G;p.(Leu275\*) (family 17) were reported once each (25,26). Among all, 14/40 (35%) patients carried a variant located upstream or within the glutamine-rich region, and 29/40 (72.5%) upstream the middle of the mutational hotspot.

### Literature review

A total of 207 patients from 130 families (60 reports) were included in the literature review (Table S3). The mean age was  $15.6 \pm 17.3$  years old (missing data for 114 individuals). The clinical triad affected 95/191 (49.7%) of patients with dysplastic ears being the most common sign (83.5%), followed by thumb malformations (74.2%) and anorectal malformation (66.7%). Lower limb malformations were variable and affected 93/195 (47.7%) of patients. Kidney structural malformations and chronic renal failure affected 81/191 (42.4%) and 56/191 (29.3%) of patients (9.5% of which progressed to end-stage renal failure), respectively. Additionally, 128/197 (65.0%) of patients were diagnosed with deafness, which was often sensorineural and mild to moderate. Disorder of sex development was observed in 24/96 (25%) of males and in only 3/93 (3.23%) of females. Endocrinological features were present in 28/196 (14.3%) of patients with 5.6% having hypothyroidism and 4% having growth retardation. Various ocular anomalies were observed: notably, 5 individuals had Stilling-Duane anomaly, 5 coloboma, 3 acquired or congenital cataract, and 3 epibulbar dermoid. Nearly 19% (37/196) of individuals had congenital heart defect. We undertook a review of patients with DD and/or ID and found a proportion of 8% (14/175) having DD/ID (Table S2).

Molecular data analysis revealed a deletion encompassing *SALL1* in 19/205 (9.3%), a truncating *SALL1* variant located upstream or within the glutamine-rich region in 12/186 (6.5%), a variant upstream the middle of the mutational hotspot in 80/186 (43.0%) of patients.

#### Genotype-phenotype correlations

Statistical analysis was performed on data from the present study (Table S1) and the literature (Table S3), comparing the clinical features of two groups defined by the localisation of the truncating variant in relation to the glutamine-rich region: before and within (n=26) or after (n=200) the region (Table 2). The prevalence of deafness ( $p=0.037$ ), dysplastic ear ( $p=0.003$ ) and thumb malformations ( $p=0.003$ ) was significantly higher when the variant was located downstream the glutamine-rich region, whereas the prevalence of renal failure ( $p=0.04$ ) was significantly lower. Importantly, the patients were significantly younger in the group “downstream the glutamine-rich region”.

Additionally, we conducted a statistical analysis based on the mutational hotspot, comparing variants located upstream (n=109) and downstream (n=117) the middle of the mutational hotspot (Table 2). We found a significant increase in deafness ( $p=0.003$ ), lower limb malformations ( $p=0.009$ ) and genital sex disorder ( $p=0.007$ ) (sex ratio with  $p=0.056$ ) in individuals carrying a variant located upstream c.1164.

Death occurred at 3 months in a patient (F18P35) with a severe phenotype associating complex congenital heart defect (pulmonary atresia, ventricular septal defect, major aortopulmonary collateral arteries, tetralogy of Fallot), unilateral kidney agenesis and multiple cystic changes in both anterior horns of the lateral ventricles with mild ventriculomegaly. She carried the recurrent variant c.826C>T,p.(Arg276\*) inherited from her mother. The phenotype associated with this variant is known to be more severe due to an increased frequency of congenital heart defects (23), estimated here at 46.2% (12/26), whereas it concerned 15.6% (28/180) of individuals carrying other genotype (excluding *SALL1* deletions). Notably, this is the only variant associated with tetralogy of Fallot in 3 patients reported in the literature, one of whom also died (23,27) .

A total of 22 individuals were found to carry a *SALL1* deletion without any other OMIM-morbid gene(s) involved (including 9 patients from 1 family in our series), while 6 individuals carried a larger deletion. When the deletion only involved *SALL1* as OMIM-morbid gene, the proportions of all variables appeared to be decreased compared to individuals who carried a *SALL1* variant (excluding the recurrent variant c.826C>T,p.(Arg276\*)), except for DD>ID which affected 6/20 (30%) patients.

## Discussion

We present a novel series of TBS involving 49 patients from 22 families. To our knowledge, this is the largest series published in the literature to date. Notably, the phenotype of our series appears to be less typical than that of patients reported the literature, since the clinical triad was found in only 25% of this series compared with 49.7% of patients from the literature (Table 1). Similarly to the literature, the present series showed complete penetrance but highly variable expressivity (2,4–6,8,11): for example, the patient F20P42 in our series had an anorectal malformation and non-specific moderate speech delay and strabismus, making the clinical diagnosis of TBS sometimes challenging. Notably, the patient F20P43 did not exhibit phenotypic characteristics but the initial assessment was incomplete. Importantly, renal failure was more common in our series, perhaps due to an older age compared to the literature data (Table 1) and/or a better follow-up due to a better knowledge of the TBS course.

Considering cognitive impairment, we found that 20/215 (9%) of documented TBS patients had DD and/or ID, after excluding patients with a double genetic diagnosis, prematurity, neonatal resuscitation or only mild DD. For DD, when data was available, the severity is often mild; some patients have had good outcomes, particularly in the case of speech delay associated with deafness. Unfortunately, the outcomes for most patients affected by DD and the intellectual quotient were rarely available. As *Sall1* has been implicated in neurogenesis (29), this modest increase in DD>ID risk suggests that other factors are involved in the cognitive phenotype of TBS

patients. In addition, 12/21 (57%) of patients in our series have prenatal ultrasounds findings, with intrauterine growth retardation, renal, limb and cardiac malformations. With the improvement of ultrasound scans and the increased use of prenatal genetic analyses (27), family counselling in relation to the prognosis becomes central. In this respect, it is essential to precise the outcome of TBS patients, which is still poorly known. Further prospective studies are therefore needed, in particular to clarify the neurodevelopmental trajectory, such as large-scale genetic analysis (exome or genome sequencing), since a significant proportion of patients have a double diagnosis (28,29).

Regarding genotype-phenotype correlations, we found a significantly higher prevalence of deafness, dysplastic ear and thumb malformations when the variant is located downstream the glutamine-rich region (Table 2). Since the glutamine-rich region seems to play a role in the dimerization of Sal proteins, the above features could be partly due to a dominant negative effect, as suggested by other authors (12,20). On the contrary, the prevalence of renal failure is surprisingly significantly lower when the variant is located downstream the glutamine-rich region, whereas kidney malformations seem to be more frequent but without reaching statistical significance. *Sall1* is required for the development (15,30), and is also reactivated after kidney injury (31). Interestingly, a mouse model expressing a truncating mutant of *Sall1* is less susceptible to acute kidney injury than wild-type and knock-out *Sall1* mice (32). This phenomenon could explain the better renal function in TBS patients with a stable truncated *Sall1* protein, which is able to dimerize and may have a partial function later in life. Importantly, patients were significantly younger and there were more missing data on age in this group, which could lead to a confounding bias. According to the hypothesis that the variants located in the mutational hotspot towards the 5'-end are associated with a more severe phenotype than the variants located towards the 3'-end, we also performed a statistical analysis between two groups based on the mutational hotspot (upstream or downstream the middle of the mutational hotspot). Of note, this hypothesis is based on clinical observations but lacks functional evidence (2). Similarly to the previous statistical analysis, we found a significant increase in the frequency of deafness in

individuals carrying a variant located upstream c.1164, suggesting that the pathophysiology of deafness may be related to nucleotide positions from c.751 to c.1164. Lower limb malformations and genital sex disorders were more common in the first group, which included more male patients (58.1% versus 45.1%, p=0.056). We also confirmed that the recurrent variant c.826C>T,p.(Arg276\*) is associated with a more frequent congenital heart defect, including tetralogy of Fallot. This cardiac phenotype had only been observed with this recurrent variant (family 18 from our series, (24,33)). Besides, Innoceta *et al.* mention a correlation between haploinsufficiency (i.e. intragenic deletion or large deletion involving only the SALL1 gene, n=10) and a milder phenotype, except for DD>ID. They compared patients carrying deletion to GeneReviews data (2), and patients carrying a c.826C>T variant (n=20), a condition associated with a presumably severe phenotype. In this previous paper, a significant difference was seen only for dysplastic ears and congenital heart defects when compared to patients carrying the c.826C>T variant, possibly due to lack of statistical power (23). Furthermore, Wang *et al.* analysed genotype-renal phenotype correlation according to zinc finger domains (n=81) and concluded that variants affecting the SALL1 gene positions from c.1500 to c.3468 are less likely to cause kidney phenotypes, although there is intrafamilial variability; however, no statistical analyses were performed (34). Thus, these previous and current genotype-phenotype correlations do not appear to be robust enough to be used in patient follow-up, but remain interesting for the study of TBS pathophysiology. Taken together these data can suggest that TBS expressivity may be influenced by the ability of SALL1 to interact with SALL proteins and DNA with dominant negative effect, associated to a dosage effect (haploinsufficiency or loss-of-function variants). Indeed, it has been demonstrated that some SALL1 truncated variants were resistant to nonsense-mediated decay in TBS-patient fibroblasts and EBV-transformed B-cells, including the recurrent variant c.826C>T (19,22). Furthermore, Kiefer *et al.* showed that the truncating SALL1 protein is sufficient to cause preaxial polydactyly and triphalangeal thumb in transgenic mice (truncating SALL1 under the control of a limb-specific promoter), with this phenotype being more likely to manifest when a wild-type SALL1 is present (19).

To date, there is no international consensus on the management of TBS. With regard to the data collected in the literature review, our French multidisciplinary working group proposes an initial evaluation and follow-up of TBS patients regardless of the *SALL1* variant identified (35) (Table 3). Of note, in addition to the annual audiological and renal function monitoring previously recommended by J. Kohlhase (2), we advise regular monitoring of thyroid function, the usefulness of which will need to be reassessed.

The proportion of patients with typical TBS but no molecular diagnosis has not been studied here as there are no consensus criteria in the literature for assessing clinical diagnosis. The literature reports a proportion of 75% of molecular diagnoses in typical TBS patients (classic triad) (2). This gap may be explained by differential diagnoses such as Duane-radial ray syndrome (MIM#607323), branchio-oto-renal syndrome (MIM#113650) or VACTERL association (MIM#192350). In addition, alteration of *SALL1* regulatory elements may be involved in molecular negative cases. In support of this hypothesis, C.A. Stevens *et al.* (36) found a deletion upstream of *SALL1* in a propositus with anorectal malformation, congenital anomalies of the kidney and urinary tract, broad thumbs and hearing loss compatible with TBS. Genome sequencing and functional studies should allow to elucidate non-coding molecular alterations and increase the diagnostic yield in TBS.

In conclusion, we found a genotype-phenotype correlation according to the variant location relative to the glutamine-rich region, involved in the dimerization of Sal proteins, for features that may appear at any age, such as deafness and renal failure. In the future, functional and prospective studies are needed to elucidate the pathophysiological mechanisms and the outcomes of TBS in order to better monitor patients and treat them as early as possible to improve prognosis.

## References

1. Townes PL, Brocks ER. Hereditary syndrome of imperforate anus with hand, foot, and ear anomalies. *J Pediatr.* 1972 Aug;81(2):321–6.
2. Kohlhase J. Townes-Brocks Syndrome. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2023 Jan 14]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1445/>
3. Miller EM, Hopkin R, Bao L, Ware SM. Implications for genotype-phenotype predictions in Townes-Brocks syndrome: case report of a novel SALL1 deletion and review of the literature. *Am J Med Genet A.* 2012 Mar;158A(3):533–40.
4. Botzenhart EM, Bartalini G, Blair E, Brady AF, Elmslie F, Chong KL, et al. Townes-Brocks syndrome: twenty novel SALL1 mutations in sporadic and familial cases and refinement of the SALL1 hot spot region. *Hum Mutat.* 2007 Feb;28(2):204–5.
5. Botzenhart EM, Green A, Ilyina H, König R, Lowry RB, Lo IFM, et al. SALL1 mutation analysis in Townes-Brocks syndrome: twelve novel mutations and expansion of the phenotype. *Hum Mutat.* 2005 Sep;26(3):282.
6. Marlin S, Blanchard S, Slim R, Lacombe D, Denoyelle F, Alessandri JL, et al. Townes-Brocks syndrome: detection of a SALL1 mutation hot spot and evidence for a position effect in one patient. *Hum Mutat.* 1999;14(5):377–86.
7. Kosaki R, Fujimaru R, Samejima H, Yamada H, Izumi K, Iijima K, et al. Wide phenotypic variations within a family with SALL1 mutations: Isolated external ear abnormalities to Goldenhar syndrome. *Am J Med Genet A.* 2007 May 15;143A(10):1087–90.
8. Sudo Y, Numakura C, Abe A, Aiba S, Matsunaga A, Hayasaka K. Phenotypic variability in a family with Townes-Brocks syndrome. *J Hum Genet.* 2010 Aug;55(8):550–1.
9. Beaudoux O, Lebre AS, Doco Fenzy M, Spodenkiewicz M, Canivet E, Colosio C, et al. Adult diagnosis of Townes-Brocks syndrome with renal failure: Two related cases and review of literature. *Am J Med Genet A.* 2021 Mar;185(3):937–44.
10. Faguer S, Pillet A, Chassaing N, Merhenberger M, Bernadet-Monrozies P, Guitard J, et al. Nephropathy in Townes-Brocks syndrome (SALL1 mutation): imaging and pathological findings in adulthood. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2009 Apr;24(4):1341–5.
11. Kohlhase J, Wischermann A, Reichenbach H, Froster U, Engel W. Mutations in the SALL1 putative transcription factor gene cause Townes-Brocks syndrome. *Nat Genet.* 1998 Jan;18(1):81–3.
12. Sweetman D, Smith T, Farrell ER, Chantry A, Munsterberg A. The conserved glutamine-rich region of chick csal1 and csal3 mediates protein interactions with other spalt family members. Implications for Townes-Brocks syndrome. *J Biol Chem.* 2003 Feb 21;278(8):6560–6.
13. de Celis JF, Barrio R. Regulation and function of Spalt proteins during animal development. *Int J Dev Biol.* 2009 Nov 1;53(8-9–10):1385–98.
14. Kohlhase J, Schuh R, Dowe G, Kühnlein RP, Jäckle H, Schroeder B, et al. Isolation, Characterization, and Organ-Specific Expression of Two Novel Human Zinc Finger Genes Related to the Drosophila Genespalt. *Genomics.* 1996 Dec 15;38(3):291–8.
15. Sweetman D, Münsterberg A. The vertebrate spalt genes in development and disease. *Dev Biol.* 2006 May 15;293(2):285–93.

16. Lauberth SM, Rauchman M. A Conserved 12-Amino Acid Motif in Sall1 Recruits the Nucleosome Remodeling and Deacetylase Corepressor Complex \*. *J Biol Chem.* 2006 Aug 18;281(33):23922–31.
17. Kiefer SM, McDill BW, Yang J, Rauchman M. Murine Sall1 Represses Transcription by Recruiting a Histone Deacetylase Complex \*. *J Biol Chem.* 2002 Apr 26;277(17):14869–76.
18. Netzer C, Bohlander SK, Hinzke M, Chen Y, Kohlhase J. Defining the heterochromatin localization and repression domains of SALL1. *Biochim Biophys Acta.* 2006 Mar;1762(3):386–91.
19. Kiefer SM, Robbins L, Barina A, Zhang Z, Rauchman M. SALL1 truncated protein expression in Townes-Brocks syndrome leads to ectopic expression of downstream genes. *Hum Mutat.* 2008;29(9):1133–40.
20. Kiefer SM, Ohlemiller KK, Yang J, McDill BW, Kohlhase J, Rauchman M. Expression of a truncated Sall1 transcriptional repressor is responsible for Townes-Brocks syndrome birth defects. *Hum Mol Genet.* 2003 Sep 1;12(17):2221–7.
21. Nishinakamura R, Matsumoto Y, Nakao K, Nakamura K, Sato A, Copeland NG, et al. Murine homolog of SALL1 is essential for ureteric bud invasion in kidney development. *Dev Camb Engl.* 2001 Aug;128(16):3105–15.
22. Furniss D, Critchley P, Giele H, Wilkie AOM. Nonsense-mediated decay and the molecular pathogenesis of mutations in SALL1 and GLI3. *Am J Med Genet A.* 2007 Dec 15;143A(24):3150–60.
23. Innoceta AM, Olivucci G, Parmeggiani G, Scarano E, Pragliola A, Graziano C. Chromosomal Microarray Analysis Identifies a Novel SALL1 Deletion, Supporting the Association of Haploinsufficiency with a Mild Phenotype of Townes–Brocks Syndrome. *Genes.* 2023 Feb;14(2):258.
24. Kohlhase J, Liebers M, Backe J, Baumann-Müller A, Bembea M, Destrée A, et al. High incidence of the R276X SALL1 mutation in sporadic but not familial Townes-Brocks syndrome and report of the first familial case. *J Med Genet.* 2003 Nov;40(11):e127.
25. Lugli L, Rossi C, Ceccarelli PL, Calabrese O, Bedetti L, Miselli F, et al. Townes-Brocks syndrome with craniosynostosis in two siblings. *Eur J Med Genet.* 2022 Dec;65(12):104642.
26. Liberalesso PBN, Cordeiro ML, Karuta SCV, Koladicz KRJ, Nitsche A, Zeigelboim BS, et al. Phenotypic and genotypic aspects of Townes-Brock syndrome: case report of patient in southern Brazil with a new SALL1 hotspot region nonsense mutation. *BMC Med Genet.* 2017 Nov 6;18(1):125.
27. Tran Mau-Them F, Delanne J, Denommé-Pichon AS, Safraou H, Bruel AL, Vitobello A, et al. Prenatal diagnosis by trio exome sequencing in fetuses with ultrasound anomalies: A powerful diagnostic tool. *Front Genet.* 2023;14:1099995.
28. Monies D, Abouelhoda M, AlSayed M, Alhassnan Z, Alotaibi M, Kayyali H, et al. The landscape of genetic diseases in Saudi Arabia based on the first 1000 diagnostic panels and exomes. *Hum Genet.* 2017 Aug;136(8):921–39.
29. Meng L, Pammi M, Saronwala A, Magoulas P, Ghazi AR, Vetrini F, et al. Use of Exome Sequencing for Infants in Intensive Care Units: Ascertainment of Severe Single-Gene Disorders and Effect on Medical Management. *JAMA Pediatr.* 2017 Dec 4;171(12):e173438.
30. Basta JM, Robbins L, Denner DR, Kolar GR, Rauchman M. A Sall1-NuRD interaction regulates multipotent nephron progenitors and is required for loop of Henle formation. *Development.* 2017 Sep 1;144(17):3080–94.
31. Hosoe-Nagai Y, Hidaka T, Sonoda A, Sasaki Y, Yamamoto-Nonaka K, Seki T, et al. Re-expression of Sall1 in podocytes protects against adriamycin-induced nephrosis. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* 2017 Nov;97(11):1306–20.

32. Hirsch S, El-Achkar T, Robbins L, Basta J, Heitmeier M, Nishinakamura R, et al. A mouse model of Townes-Brocks syndrome expressing a truncated mutant Sall1 protein is protected from acute kidney injury. *Am J Physiol-Ren Physiol*. 2015 Nov 15;309(10):F852–63.
33. İlhan O, Gümüş E, Hakan N, İstar H, Harmandar B, Olgun H, et al. A Genotyped Case of Townes–Brocks Syndrome with Absent Pulmonary Valve Syndrome from Turkey. *J Pediatr Genet* [Internet]. 2021 Dec 10 [cited 2023 Jan 27]; Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0041-1740371>
34. Wang Z, Sun Z, Diao Y, Wang Z, Yang X, Jiang B, et al. Identification of two novel SALL1 mutations in Chinese families with townes-brocks syndrome and literature review. *Orphanet J Rare Dis*. 2023 Aug 29;18:250.
35. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cited 2024 Mar 30]. Syndrome de Townes – Brocks. Available from: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3493442/fr/syndrome-de-townes-brocks](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3493442/fr/syndrome-de-townes-brocks)
36. Stevens CA, May KM. Deletion upstream of SALL1 producing Townes-Brocks syndrome. *Am J Med Genet A*. 2016 Sep;170(9):2476–8.



## Figures

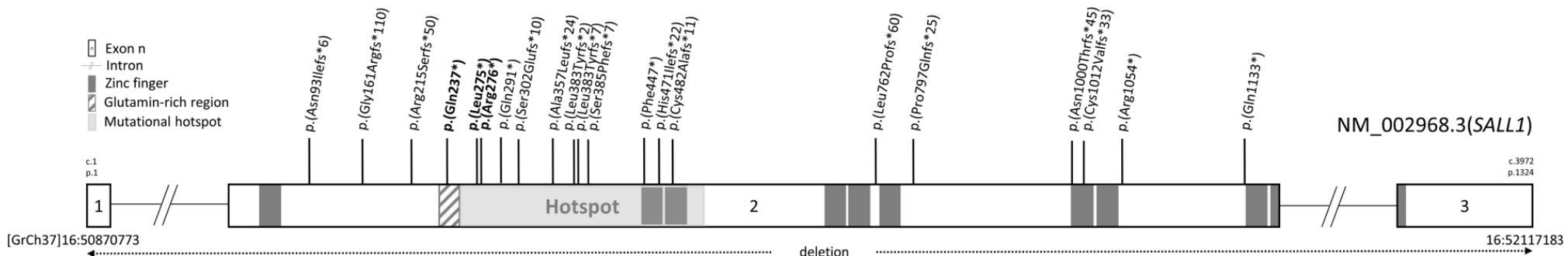
**Figure 1: Ear dysplasia and limb malformations in 18 patients from 12 families in the present series.**

Ear dysplasia consisted mainly of abnormally folded helix and auricular tag or pit (arrow) (patient F20P40 was considered unaffected for ear dysplasia). Upper limb malformations mainly included triphalangeal thumb (patients F1P1, F5P9, F6P10, F6P13, F13P26, F18P32, F18P34, F19P36), duplicated thumb (patients F4P7, F5P9, F6P13, F9P16, F18P32, F18P34, F20P47), broad thumb (patients F4P8 and F20P47) (patients F6P12 and F8P15 were considered unaffected for upper limb malformations).



**Figure 2: Schematic representation of the truncating variants and deletion of *SALL1* gene from the present series.**

All variants were located in exon 2. Fifty-two percent (11/21) of variants were located in the mutation hot-spot defined by Botzenhart and *al.* in 2007 (4). Nineteen percent (4/21) of variants were located upstream or within the glutamine-rich region (4,12), and 72.5% (29/40) of variant were located upstream the middle of the mutation hotspot (4). Three variants (bold) have been reported in other families in the literature. The deletion involved *SALL1* and *HNRPNA1L3* genes.



## Tables

**Table 1: Review of clinical and molecular data from the present series and the literature.**

1, Triad of thumb, external ear and ano-rectal malformations. 2, excluding Stilling-Duane anomaly. F, female; M, male; m, mean; SD, standard deviation.

	Present study	Literature	TOTAL
Clinical data			
Sex ratio (F:M [missing data])	0.88 [0]	0.96 [9]	<b>0.95 [9]</b>
Age (m ± SD [missing data])	23.6 ± 21.8 [2]	15.6 ± 17.3 [114]	<b>18.3 ± 19.2 [116]</b>
Triad <sup>1</sup> (%)	12/48 (25.0)	95/191 (49.7)	<b>107/239 (44.8)</b>
Dysplastic ear (%)	34/49 (69.4)	162/194 (83.5)	<b>196/243 (80.7)</b>
Thumb malformation (%)	26/49 (53.1)	150/202 (74.2)	<b>176/251 (70.1)</b>
Other malformation of upper limb (%)	8/49 (16.3)	22/201 (10.9)	<b>30/250 (12.0)</b>
Malformation of lower limb (%)	21/48 (43.8)	93/195 (47.7)	<b>114/243 (46.9)</b>
Ano-rectal malformation (%)	30/48 (62.5)	130/195 (66.7)	<b>160/243 (65.8)</b>
Deafness (%)	32/49 (65.3)	128/197 (65.0)	<b>160/246 (65.0)</b>
Kidney malformation (%)	21/39 (53.8)	81/191 (42.4)	<b>102/230 (44.3)</b>
Renal failure (%)	19/48 (39.6)	56/191 (29.3)	<b>75/239 (31.4)</b>
Disorders of sex development (%)	7/48 (14.6)	27/198 (13.6)	<b>34/246 (13.8)</b>
Congenital heart defect (%)	8/35 (22.9)	37/196 (18.9)	<b>45/231 (19.5)</b>
Endocrine feature (%)	11/43 (25.6)	28/196 (14.3)	<b>39/239 (16.3)</b>
Ophthalmologic features (%)	16/44 (36.4)	29/194 (14.9)	<b>45/238 (18.9)</b>
Abnormal cranial nerve <sup>2</sup> (%)	1/45 (2.2)	9/185 (4.9)	<b>10/230 (4.3)</b>
Facial asymmetry (%)	2/45 (4.4)	7/185 (3.8)	<b>9/230 (3.9)</b>
Molecular data			
<i>SALL1</i> variant located upstream or into the glutamine-rich region (%)	14/40 (35.0)	12/186 (6.5)	<b>26/226 (11.5)</b>
<i>SALL1</i> variant located upstream the middle of the mutation hotspot	29/40 (72.5)	80/186 (43.0)	<b>109/226 (48.2)</b>
<i>SALL1</i> deletion (%)	9/49 (18.4)	19/205 (9.3)	<b>28/254 (11.0)</b>

**Table 2:** Clinical comparisons of TBS patients carrying variants located upstream (n =26) or downstream (n=200) the glutamine-rich region, and carrying variants located upstream (n =109) or downstream (n=117) the middle of the mutational hotspot, from the present series and the literature.

\*, p < 0.05. Q1;Q3, first and third interquartile. TBS, Townes-Brocks syndrome.

Variable		Variant location					
		Upstream or into the glutamin-rich domain region	Downstream the glutamin-rich domain region	p value	Upstream the middle of the mutational hotspot	Downstream the middle of the mutational hotspot	p value
<b>Sex</b>	Male (%)	13/25 (52.0)	99/193 (51.3)	0.95	61/105 (58.1)	51/113 (45.1)	0.056
	Female (%)	12/25 (48.0)	94/193 (48.7)		44/105 (41.9)	62/113 (54.9)	
<b>Age</b>	Frequency	20/26	99/200	0.033*	70/109	49/117	0.36
	Median [Q1,Q3]	30.50 [4.000;44.00]	8.000 [2.670;28.00]		6.900 [2.250;35.00]	13.00 [5.000;31.00]	
<b>Clinical features (%)</b>	Deafness	11/24 (45.8)	130/193 (67.4)	0.037*	80/107 (74.8)	61/110 (55.5)	0.003*
	Dysplastic ear	14/24 (58.3)	162/190 (85.3)	0.003*	88/105 (83.8)	88/109 (80.7)	0.56
	Thumb malformation	13/26 (50.0)	146/196 (74.5)	0.009*	81/109 (74.3)	78/113 (69.0)	0.38
	Malformation of lower limb	11/25 (44.0)	94/189 (49.7)	0.59	62/107 (57.9)	43/107 (40.2)	0.009*
	Ano-rectal malformation	15/24 (62.5)	127/191 (66.5)	0.70	71/106 (67.0)	71/109 (65.1)	0.78
	Kidney malformation	6/17 (35.3)	88/188 (46.8)	0.36	48/99 (48.5)	46/106 (43.4)	0.46
	Chronic renal failure	12/24 (50.0)	55/188 (29.3)	0.040*	39/105 (37.1)	28/107 (26.2)	0.086
	Disorders of sex development	2/26 (7.7)	30/191 (15.7)	0.38	23/108 (21.3)	9/109 (8.3)	0.007*
	Congenital heart defect	1/18 (5.6)	39/188 (20.7)	0.21	24/99 (24.2)	16/107 (15.0)	0.092
	Endocrine feature	7/23 (30.4)	29/190 (15.3)	0.079	18/106 (17.0)	18/107 (16.8)	0.975

**Table 3 : Proposal for initial assessment and follow-up in patients with TBS (1/2).**

From Protocole National de Diagnostic et de Soins-Syndrome de Townes-Brocks, Haute Autorité de Santé (38)

CT-scan, Computed Tomography; MRI, Magnetic Resonance Imaging; TBS, Townes-Brocks syndrome.

Concern	Initial assessment	Follow-up
Constitutional	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Psychomotor development, measurement of growth parameters</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Classical follow-up: psychomotor development, measurement of growth parameters, etc</li> </ul>
Genetics	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Personal and familial past medical history</li> <li>· Clinical examination: features suggestive of TBS and differential diagnoses</li> <li>· Genetic analysis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Genetic counselling according to patient and physician expectations</li> <li>· No systematic follow-up</li> </ul>
Orthopaedic	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Clinical examination: thumb malformation and clubfeet, mobility and joint stability</li> <li>· Hand X-rays</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· According to initial assessment</li> <li>· No systematic follow-up</li> </ul>
Hearing	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Audiological evaluation</li> <li>· +/- Ear CT-scan and/or MRI if deafness</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· According to initial assessment</li> <li>· <b>Systematic:</b> annual audiological evaluation</li> </ul>
Gastro-intestinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Clinical examination: anorectal malformation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· According to initial assessment</li> <li>· No systematic follow-up</li> </ul>
Renal	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Clinical examination: urinary functional signs, measurement of growth parameters and blood pressure</li> <li>· Blood tests: creatininemia, estimation of glomerular filtration rate +/- complementary cystanine C</li> <li>· Urine tests: proteinuria, creatinuria</li> <li>· Renal ultrasound</li> <li>· +/- Cystography if suspected uropathy</li> <li>· +/- Scintigraphy or uro-MRI</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· According to initial assessment</li> <li>· <b>Systematic:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Annual: measurement of growth parameters and blood pressure, blood tests (creatininemia, estimation of glomerular filtration rate), urine tests (proteinuria, microalbuminuria, creatinuria)</li> <li>- Every two years: renal ultrasound</li> </ul> </li> </ul>

**Table 3 (suite 2/2)**

Concern	Initial assessment	Follow-up
Cardiac	<ul style="list-style-type: none"><li>· Clinical examination: signs of cardiac insufficiency, heart auscultation</li><li>· Heart ultrasound</li><li>· +/- ECG, pulmonary X-rays</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>· According to initial assessment</li><li>· No systematic follow-up</li></ul>
Endocrine	<ul style="list-style-type: none"><li>· Clinical examination: measurement of growth parameters, external genitalia</li><li>· Blood tests: TSH</li><li>· +/- <i>Neonatal and kinetics during mini-puberty hormonal assessments, SRY, karyotype if bilateral cryptorchidism or posterior hypospadias</i></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>· According to initial assessment</li><li>· <b>Systematic:</b><ul style="list-style-type: none"><li>- Clinical examination: measurement of growth parameters, hypothyroidism symptoms</li><li>- Blood tests: TSH every six months from 2 to 18 yo, annually for adults</li></ul></li></ul>
Eyes	<ul style="list-style-type: none"><li>· Ophthalmologic assessment: visual behavior/acute, refraction examination under cycloplegia, slit lamp and fundus examination, study of oculomotor skills</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>· According to initial assessment</li><li>· No systematic follow-up</li></ul>

## Supplementary Data

### **Supplementary Table S1: Clinical and molecular characteristics of 49 patients from the present series (1/11).**

1, if bilateral asymmetric: ear most severely affected

ADHD, attention deficit hyperactivity disorder; AMD, Age-Related Macular Degeneration; ASD, atrial septal defect; CMA, chromosomal micro-array; GER, gastroesophageal reflux; HBP, high blood pressure; NA, not applicable; NK, not known; p, percentile.

**Table S1 (suite 2/11)**

Family Patient	1 1	2 2	2 3	2 4	2 5	3 6	4 7	4 8	5 9	6 10
<b>Molecular data (SALL1, NM_002968.3)</b>										
Technique for SALL1 analysis	Sanger sequencing	Genes panel (PCR multiplex Amplicon)	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing	54 genes panel (Sureselect)	64 genes panel (Sureselect)	Sanger sequencing	19 genes panel (PCR multiplex Amplicon)	18 genes panel (PCR multiplex Amplicon)
c.	c.871C>T	c.477_480dup	c.477_480dup	c.477_480dup	c.477_480dup	c.1148del	c.3034del	c.1340_1341delinsAA	c.278del	
p. Exon	p.(Gln291*) 2	p.(Gly161Argfs*110) 2	p.(Gly161Argfs*110) 2	p.(Gly161Argfs*110) 2	p.(Gly161Argfs*110) 2	p.(Leu383Tyrfs*2) 2	p.(Cys1012Valfs*33) 2	p.(Cys1012Valfs*33) 2	p.(Phe447*) 2	p.(Asn83Ilefs*6) 2
Type	Nonsense	Frameshift	Frameshift	Frameshift	Frameshift	Frameshift	Frameshift	Frameshift	Delins	Frameshift
Inheritance	De novo	Inherited	Inherited	Inherited	Inherited	Inherited	Inherited	Inherited	De novo	Inherited
Molecular diagnostic age (yo)	9	4.75	3.6	2.25	2.25	3.4	1	3.7	2.9	0.75
Other genetic investigations	-	-	-	-	-	MLPA including SALL1	MLPA including SALL1	-	MLPA including SALL1	MLPA including SALL1; CMA
<b>Clinical data</b>										
Age at last examination (yo)	10	12	37	2.25	2.25	35	2	38	32	7
Sex	F	M	M	F	F	F	F	F	F	F
Prenatal abnormalities	IUGR	-	NK	- (twin)	IUGR (twin)	NK	-	NK	NK	-
Gestation (weeks)	39	39	NK	26	26	NK	38	NK	36	36
Birth height (cm) (percentile)	46 (0,75e p)	NK	NK	NK	NK	NK	48 (16e p)	NK	NK	47 (24e p)
Birth weight (g) (percentile)	3570 (63e p)	3815 (70e p)	NK	1100 (88e p)	NK	NK	3380 (53e p)	NK	3320 (76e p)	2800 (29e p)
Birth OFC (cm) (percentile)	33 (10e p)	NK	NK	NK	NK	NK	34 (37e p)	NK	NK	34 (58e p)
Limb malformations	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Preaxial polydactyly	-	-	-	-	-	-	Bilateral	-	Bilateral	-
- Triphalangeal thumb	Bilateral	-	-	-	-	-	-	-	Bilateral	+
- Other thumb malformations	Bilateral low-set thumb	Bilateral low-set thumb	Bilateral low-set thumb	-	-	-	-	Bilateral broad thumb with median pulpal depression	-	-
- Other upper limb malformations	Carpal malformation	Fetal pads, accessory-epiphysis-II metacarpal	-	-	-	Small thenar eminence, flat hands	-	-	-	-
- Lower limb malformations	Unilateral III-IV syndactyly, unilateral II overlapping toe, bilateral hallux valgus	Overlapping toe	-	-	Pes planus	Overlapping toe, bilateral V clinodactyly	-	-	Bilateral V clinodactyly	-
Gastro-intestinal abnormalities	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
- Ano-rectal malformations	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
- Other	Mesenteric malrotation	-	-	Feeding difficulties	Constipation, feeding difficulties	-	-	-	-	Constipation
External ear abnormalities	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- Helix malformation	-	-	-	-	Unilateral	+	+	+	+	+
- Microtia	-	-	-	-	Unilateral	-	Unilateral	Unilateral	Unilateral	+
- Preauricular tag	Bilateral	-	-	-	Bilateral	-	-	-	-	-
- Other	Tragus missing	-	-	-	Unilateral low-set retroverted	Bilateral narrow external auditory canal	-	-	-	-
Hearing loss	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
- Diagnostic (yo or period)	6	4	NK	-	-	NK	-	-	NK	-
- Type	Sensorineural, symmetric bilateral	Sensorineural, symmetric bilateral	Sensorineural, unilateral	-	-	Mixed, symmetric bilateral	-	-	Sensorineural	-
- Severity <sup>1</sup>	Moderate	Mild	Mild	-	-	Moderate	-	-	NK	-
- Course	NK	NK	NK	-	-	Stable	-	-	NK	-
- Audiogram profile	U-curve shape	High frequencies affected	High frequencies affected	-	-	High frequencies affected	-	-	NK	-
- Hearing aids (age in yo or period)	+ (NK)	-	NK	-	-	+ (6)	-	-	+ (childhood)	-
- Ear MRI or CT-scan	NK	Normal CT-scan	NK	-	-	NK	-	-	NK	-

**Table S1 (suite 3/11)**

Family Patient	1 1	2 2	2 3	2 4	2 5	3 6	4 7	4 8	5 9	6 10
Kidney and urinary tract abnormalities	+		+	NK	NK	+		NK	+	
- Chronic renal failure, severity, starting age	-		Mild, 33 yo	-	-	Mild	-		End stage	
- Renal hypoplasia	Bilateral		Bilateral			Bilateral			Bilateral	
- Other kidney malformation	-		Multicystic kidney	NK	NK	-		NK	-	
- Other	-		Urinary infections			-			-	
DD / ID (Type of schooling)	- (regular)	Mild speech delay (regular)	- (NK)	Moderate speech delay (NA)	Moderate psychomotor delay (NA)	- (NK)	- (regular)	- (NK)	- (regular)	- (regular)
Disorders of sex development	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cardiac abnormalities	-	-	-	NK	NK	-	Mild ASD	-	-	-
Eyes abnormalities	Drusen, scotoma, papilledema (12 yo)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Endocrine abnormalities	-	Congenital hypothyroidism, growth delay	-	-	Growth stagnation	-	-	-	-	-
Neurological abnormalities	- (Suspicion of IV-nerve- post-traumatic alteration)	Hyperthermic convulsion (3 yo)	Motor tics	Left myotatic reflexes, right calf muscle hypertonia	-	-	-	-	-	-
Other features	Internal hernia, dysmorphic features (synophrys, thin upper lip, flat philtrum)	Recurrent bronchilitis, dysmorphic features (ogival palate)	-	Dysmorphic features (epicanthus, broad forehead)	Dysmorphic features (epicanthus, broad forehead), failure to thrive	Scoliosis, hip dysplasia	-	-	-	-

**Table S1 (suite 4/11)**

Family Patient	6 11	6 12	6 13	7 14	8 15	9 16	10 17	11 18	11 19	11 20
<b>Molecular data (SALL1, NM_002968.3)</b>										
Technique for SALL1 analysis	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing	54 genes panel (Sureselect)	Sanger sequencing	54 genes panel (Sureselect)	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing
c.	c.278del	c.278del	c.278del	c.299del	c.228del	c.902dup	c.1444del	c.1146_1152dup	c.1146_1152dup	c.1146_1152dup
p.	p.(Asn93Ilefs*6) Exon 2	p.(Asn93Ilefs*6) Exon 2	p.(Asn93Ilefs*6) Exon 2	p.(Asn1000Thrfs*45) Frameshift	p.(Leu762Profs*60) Frameshift	p.(Ser302Glufs*10) Frameshift	p.(Cys482Alafs*11) Frameshift	p.(Ser385Phefs*7) Frameshift	p.(Ser385Phefs*7) Frameshift	p.(Ser385Phefs*7) Frameshift
Type Inheritance	Frameshift Inherited	Frameshift Inherited	Frameshift Inherited	NK	NK	De novo	NK	Inherited	Inherited	Inherited
Molecular diagnostic age (yo)	28	69	0.25	36	5	1	1.5	0	2	36
Other genetic investigations	-	-	-	-	-	MLPA including SALL1; CMA	Karyotype	-	-	-
<b>Clinical data</b>										
Age at last examination (yo)	31	75	2	34	5.75	4.25	8	NK	14	47
Sex	F	M	M	F	M	M	M	M	M	M
Prenatal abnormalities	-	-	-	NK	Right pyelectasis	Renal hypotrophy	NK	Renal hypotrophy, low-set ears, overlapping toes	-	NK
Gestation (weeks)	38	38	32	NK	38	39	NK	36	NK	NK
Birth height (cm) (percentile)	NK	NK	NK	NK	52 (70e p)	48 (4e p)	46 (-3SD)	48.5 (37e p)	NK	NK
Birth weight (g) (percentile)	NK	NK	2445 (73e p)	NK	3350 (38e p)	3500 (50e p)	2690 (-1.8SD)	3310 (64e p)	NK	NK
Birth OFC (cm) (percentile)	NK	NK	NK	NK	34 (22e p)	33 (4e p)	32 (NK)	34 (4e p)	NK	NK
Limb malformations	+ - Prexial polydactyly - Triphalangeal thumb	Unilateral Bilateral			+ - Unilateral - Bilateral	+ - Unilateral	+ - Unilateral	+ - Unilateral	+ - Unilateral	+ - Unilateral
- Other thumb malformations	-			Bilateral broad and deviated thumb		Unilateral broad thumb	Unilateral deviated thumb	-	-	-
- Other upper limb malformations	-						Radius malformation	-	-	-
- Lower limb malformations		Mild overlapping toe		-		Pes planus, long toes	NK	Overlapping toe, bilateral-short-III toe and V clinodactyly	Bilateral overlapping II-III toe	Overlapping IV-V toe and V clinodactyly
Gastro-intestinal abnormalities	+ - Ano-rectal malformations	+ +		NK	+ +	+ +	+ +	+ Feeding difficulties needing gastrostomy; nonspecific chronic gastrointestinal inflammation (digestive endoscopy)	-	+
- Other	-	NK		NK		GER, constipation, feeding tube				Duodenal atresia
External ear abnormalities	+ - Helix malformation - Microtia - Preauricular tag	Unilateral	Unilateral	Bilateral	Bilateral	Bilateral	Bilateral	Bilateral	Bilateral	Bilateral
- Other		Bilateral pits	-	-	Bilateral retroverted	Bilateral low-set	Bilateral macrotia	Bilateral low-set	Bilateral low-set	Bilateral low-set
Hearing loss	+ - Diagnostic (yo or period)	+ 5	50		+	+		+ NK	+ NK	+ 10
- Type	Sensorineural, unilateral	Mixed, asymmetric bilateral		Mixed	Asymmetric bilateral		Sensorineural, asymmetric bilateral	Sensorineural, unilateral	Sensorineural, asymmetric bilateral	
- Severity <sup>1</sup>	Mild	Profund		Mild	Moderate		Mild	Mild	Mild	
- Course	Progressive	NK		NK	Progressive		NK	NK	NK	Progressive
- Audiogram profile	High frequencies affected	U-curve shape		NK	All frequencies affected, complex		NK	NK	NK	High frequencies affected
- Hearing aids (age in yo or period)	-	+ (NK)		+ (5.5)	+ (NK)	-	-	-	+ (14)	-
- Ear MRI or CT-scan	NK	NK		Normal CT-scan	NK		NK	Normal	Probably incus malformation	

**Table S1 (suite 5/11)**

Family Patient	6 11	6 12	6 13	7 14	8 15	9 16	10 17	11 18	11 19	11 20
Kidney and urinary tract abnormalities										
- Chronic renal failure, severity, starting age					+	Moderate, neonatal	End stage, neonatal	-	Moderate	-
- Renal hypoplasia					-	Bilateral	Unilateral	Bilateral	Bilateral	-
- Other kidney malformation					Pyelectasis (regression at 3 yo)	Multicystic unilateral kidney, dysplastic bilateral kidney	Dysplastic and multicystic bilateral kidney, unilateral pyelectasis	-	-	Unilateral renal dysplasia
- Other								Transient neonatal renal failure	Unilateral vesicoureteral reflux, urinary infection (15 days)	-
DD / ID (Type of schooling)	- (regular)	- (regular)	- (NA)	NK (NK)	- (NK)	Speech delay (regular)	NK (specialised school)	- (specialised school)	- (school support)	- (NK)
Disorders of sex development	-	Hypospadias	-		Incomplete foreskin	-	Hydrocele testis	-	-	-
Cardiac abnormalities	-	-	-	NK	-	Patent foramen ovale	ASD	-	-	-
Eyes abnormalities	-	Acquired cataract, glaucoma, AMD	-	-	-	Myopia, astigmatism	NK	-	-	-
Endocrine abnormalities	-	+	-	NK	-	-	Growth decelerate (8 yo)	-	-	-
Neurological abnormalities	-	-	-	NK	-	-	NK	-	-	-
Other features	Media otitis in childhood, tympanic membrane retraction	Prostatic cancer (67 yo)	-	NK	Agitation, hyperactivity	Dysmorphic feature (micrognathia), vocal cord dyskinesia	Sociability difficulties, adenoidectomy, ear ventilation tubes	-	-	-

**Table S1 (suite 6/11)**

Family Patient	11 21	12 22	12 23	12 24	12 25	13 26	14 27	15 28	16 29	16 30
<b>Molecular data (SALL1, NM_002968.3)</b>										
Technique for SALL1 analysis	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Genes panel (PCR multiplex Ampliseq)	Gene panel (PCR multiplex Ampliseq)	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing
c.	c.1148_1152dup	c.709C>T	c.709C>T	c.709C>T	c.709C>T	c.3397C>T	c.1069del	c.3160C>T	c.645_658del	c.645_658del
p. Exon	p.(Ser385Phefs*7) 2	p.(Gln237*) 2	p.(Gln237*) 2	p.(Gln237*) 2	p.(Gln237*) 2	p.(Ala357Leufs*24) 2	p.(Arg1054*) 2	p.(Arg215Serfs*50) 2	p.(Arg215Serfs*50) 2	
Type Inheritance	Frameshift NK	Nonsense Inherited	Nonsense Inherited	Nonsense Inherited	Nonsense Inherited	Frameshift De novo	Nonsense NK	Nonsense Not maternal	Frameshift Inherited	Frameshift Inherited
Molecular diagnostic age (yo)	67	66	72.5	45	30	3	0.25	1.25	23	39
Other genetic investigations	-	-	-	-	-	Karyotype (prenatal)	Karyotype	-	-	-
<b>Clinical data</b>										
Age at last examination (yo)	70	70	78	49	30	9	NK	7	23	39
Sex	F	M	F	M	M	M	F	F	M	F
Prenatal abnormalities	NK	NK	NK	NK	NK	-	Unilateral ventricular dilatation of brain	NK	NK	NK
Gestation (weeks)	NK	NK	NK	NK	NK	38	37	38	NK	NK
Birth height (cm) (percentile)	NK	NK	NK	NK	NK	50 (38e p)	50 (38e p)	47 (6e p)	NK	NK
Birth weight (g) (percentile)	NK	NK	NK	NK	NK	3100 (16e p)	3080 (38e p)	2860 (10e p)	NK	NK
Birth OFC (cm) (percentile)	NK	NK	NK	NK	NK	33 (6e p)	33 (20e p)	33 (13e p)	NK	NK
Limb malformations	+ - Preaxial polydactyly - Triphalangeal thumb	+ Unilateral - Unilateral	+ - -	+ - -	+ - -	+ -	+ -	+ -	-	-
- Other thumb malformations	-	-	-	-	Broad thumb	-	-	-	-	-
- Other upper limb malformations	-	-	-	-	-	Mild camptodactyly	-	-	-	-
- Lower limb malformations	Overlapping I-II toe	Bilateral camptodactyly, V clinodactyly and short III-IV metatarsal	Unilateral syndactyly III-IV toe, bilateral V clinodactyly	-	-	-	-	Overlapping II-III toes		
Gastro-intestinal abnormalities	+ - Ano-rectal malformations	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
- Other	GER	-	-	GER, hiatus hernia	Constipation	Diarrhea during 2 years	-	-	-	-
External ear abnormalities	+ - Helix malformation - Microtia - Preauricular tag - Other	+ Bilateral - - - -	+ NK - - -	+ NK - - -	+ - - - -	+ - - - -	+ Bilateral - Bilateral - Unilateral	+ - - - -	+ - - - Unilateral	+ - - - -
Hearing loss	+ - Diagnostic (yo or period)	+ 40	+ Adolescence	+ 76	+ Probably congenital	+ 20	+ 5	+ 3		
- Type	Sensorineural, symmetric bilateral	Mixed, symmetric bilateral	NK	Unilateral	Bilateral	Mixed, asymmetric bilateral	Mixed, asymmetric bilateral			
- Severity <sup>1</sup>	Severe	NK	NK	NK	NK	Moderate	Moderate			
- Course	NK	NK	NK	NK	NK	Stable	Stable			
- Audiogram profile	High frequencies more affected	NK	NK	NK	NK	All frequencies affected	High frequencies affected			
- Hearing aids (age in yo or period)	+ (70)	+ (70)	-	NK	+ (NK)	+ (6)	+ (3,5)			
- Ear MRI or CT-scan	NK	NK	NK	NK	Normal	NK	NK			

**Table S1 (suite 7/11)**

Family Patient	11 21	12 22	12 23	12 24	12 25	13 26	14 27	15 28	16 29	16 30
Kidney and urinary tract abnormalities	+	+	+	+	+				+	
- Chronic renal failure, severity, starting age	Moderate, 67 yo	Moderate, 35 yo	Moderate	Moderate	Moderate, 25 yo				End stage (fast evolution), 23 yo Bilateral	
- Renal hypoplasia	-	NK	-	-	-					
- Other kidney malformation	-	NK	Renal dysplasia	-	-	-	-	-	Renal dysplasia	NK
- Other	Nephroangiosclerosis	NK	-	-	-	-	-	-	-	
DD / ID (Type of schooling)	- (NK)	- (NK)	- (NK)	NK (NK)	Learning disability (specialised school)	Speech delay (regular)	Speech delay (NK)	-	NK	NK
Disorders of sex development	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cardiac abnormalities	-	-	-	-	NK	-	-	-	NK	NK
Eyes abnormalities	Acquired cataract	-	Acquired cataract	-	Unilateral Stilling-Duane abnormality, myopia	Hyperopia, strabismus	-	-	NK	NK
Endocrine abnormalities	-	Multinodular goiter (thyroidectomy)	-	Hypothyroidism	Thyroid goiter	-	-	-	NK	NK
Neurological abnormalities	-	-	-	-	Facial asymmetry, migraine	-	-	-	NK	NK
Other features	HBP, obesity	HBP	HBP	Sleep apnea, hiatus hernia, obesity	Autism, dyspraxia, ADHD	Neonatal nuchal chord, otitis media, sacral dimple, bifid uvula, microcephaly (-2,5 SD)	-	-	NK	NK

**Table S1 (suite 8/11)**

Family	17	18	18	18	18	19	19	20	20	20
Patient	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
<b>Molecular data (SALL1, NM_002968.3)</b>										
Technique for SALL1 analysis	55 genes panel (Sureselect)	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing	Sanger sequencing	19 gene panel (PCR multiplex Ampliseq)	Sanger sequencing	CMA, FISH	FISH	FISH
c.	c.824T>G	c.828C>T	c.826C>T	c.826C>T	c.826C>T	c.1147_1148insA	c.1147_1148insA	18q12.1 deletion: ar[GrCh37]18q12.1(508707_73_52117183)x1	18q12.1 deletion	18q12.1 deletion
p.	p.(Leu275*) 2	p.(Arg276*) 2	p.(Arg276*) 2	p.(Arg276*) 2	p.(Arg276*) 2	p.(Leu383Tyrfs*7) 2	p.(Leu383Tyrfs*7) 2	All	All	All
Exon								Deletion	Deletion	Deletion
Type	Nonsense	Nonsense	Nonsense	Nonsense	Nonsense	Frameshift	Frameshift	Inherited	Inherited	Inherited
Inheritance	De novo	Inherited	Inherited	Inherited	Inherited	Inherited	Inherited	4.25	4.25	1.5
Molecular diagnostic age (yo)	0.75	28	1.5	0	0.25	NK 41	NK 41	31		
Other genetic investigations	Karyotype (prenatal); CMA (prenatal)	Sanger sequencing of SALL4; MLPA including SALL1 and SALL4	-	-	-	Mitochondrial DNA; COL4A1, COL4A2, HSP47 gene analysis	Karyotype: 46,XY,inv(9)(q21.2q34.2)	-	-	-
<b>Clinical data</b>										
Age at last examination (yo)	0.75	38	7	0.75	0.25 (deceased)	23	47	32	4.25	3
Sex	M	F	M	M	F	M	F	M	F	F
Prenatal abnormalities	Multicystic pelvic unilateral kidney, hypospadias	NK	Tetralogy of Fallot, unilateral preaxial polydactyly, bilateral dysplastic ears, asymmetrical IUGR	Small for gestational age, unilateral preaxial polydactyly	Pulmonary atresia, VSD, major aortopulmonary collateral arteries	NK	NK	NK	NK	NK
Gestation (weeks)	37	NK	33.5	39	NK	35	NK	NK	NK	39
Birth height (cm) (percentile)	50 (52e p)	NK	NK	NK	NK	47 (27e p)	NK	NK	NK	NK
Birth weight (g) (percentile)	3480 (62e p)	NK	NK	2280 (3e p)	2390	2700 (27e p)	NK	NK	NK	NK
Birth OFC (cm) (percentile)	35 (58e p)	NK	NK	NK	35.5	33 (29e p)	NK	NK	NK	NK
Limb malformations	+ - Preaxial polydactyly - Triphalangeal thumb	+ Bilateral	+ Unilateral	+ Unilateral	+ Unilateral	+ Unilateral	+ Unilateral	+ Unilateral	+ Unilateral	+ Unilateral
- Other thumb malformations	-	-	Unilateral hypoplastic thumb, bilateral deviated thumbs	-	-	-	-	-	-	-
- Other upper limb malformations	-	-	Curved fingers	-	-	-	-	-	-	-
- Lower limb malformations	Overlapping and broad toes, V clinodactyly	-	-	-	-	Pes planus	Prominent lateral malleolus	-	-	-
Gastro-intestinal abnormalities	+ - Ano-rectal malformations	+ +	+ -	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
- Other	-	Constipation	Feeding difficulties, constipation	GER, feeding difficulties, Failure to thrive (-2,3 SD)	-	-	-	-	-	-
External ear abnormalities	+ - Helix malformation - Microtia - Preauricular tag - Other	+ Bilateral	+ - Bilateral	+ Bilateral	+ - Bilateral	+ Bilateral	+ Bilateral	+ Bilateral	+ Bilateral	+ Bilateral
- Bilateral low-set, unilateral retroverted	-	Bilateral low-set	Narrow ear canal	-	-	-	-	-	-	Unilateral preauricular pit
Hearing loss	+ - Diagnostic (yo or period)	+ Congenital	+ 16	+ Congenital	+ 1	+ 23	+ Childhood	+ 10	+ Congenital	+ NK
- Type	Symmetric bilateral	Sensorineural, symmetric bilateral	Mixed, asymmetric bilateral	Mixed, asymmetric bilateral		Bilateral symmetric	Sensorineural, bilateral	NK	Sensorineural, bilateral asymmetric	Conductive, bilateral symmetric
- Severity <sup>1</sup>	Moderate	Moderate	Severe	Severe		Mild	Mild	NK	Mild	Mild
- Course	NK	Stable	Stable	Stable		NK	Stable	NK	NK	NK
- Audiogram profile	High frequencies affected	NK	NK	All frequencies affected	-	High frequencies affected	NK	NK	All frequencies affected	High frequencies affected
- Hearing aids (age in yo or period)	-	+ (NK)	+ (NK)	+ (NK)	CT-scan: bilateral microtia with probable external auditory canal atresia, stenosis of the cartilaginous portion of the external auditory canal; normal MRI	NK	NK	-	-	-
- Ear MRI or CT-scan	NK	NK	NK	NK		NK	NK	NK	NK	NK

**Table S1 (suite 9/11)**

Family Patient	17 31	18 32	18 33	18 34	18 35	19 36	19 37	20 38	20 39	20 40
Kidney and urinary tract abnormalities	+	+	+		+	+	+	+	+	
- Chronic renal failure, severity, starting age	-	Mild, adult	Moderate		-	End stage, pediatric	End stage, adult	End stage, 23 yo		
- Renal hypoplasia	-	Bilateral	Bilateral		Unilateral	Bilateral	Bilateral	-		
- Other kidney malformation	Unilateral dysplasia, multicystic and pelvic	-	Bilateral dysplasia and multicystic	-	Unilateral agenesis, unilateral multicystic	-	-	Dysplasia	-	NK
- Other	-	-	-		-	-	-	-		
DD / ID (Type of schooling)	- (NA)	Mild intellectual disability (regular)	Mild (school support)	-	NK	NK (regular)	NK (regular)	- (NK)	Language delay/no ID (NK)	- (NA)
Disorders of sex development	Hypospadias, bifid scrotum	-	Hypospadias	-				Cryptorchidism	-	-
Cardiac abnormalities	Internal carotid hypoplasia	-	Tetralogy of Fallot	-	Pulmonary atresia, VSD, major aortopulmonary collateral arteries, tetralogy of Fallot, suspicion of stenosis of the pulmonary veins on both right and left	-	-	Biicuspid aortic valve	-	-
Eyes abnormalities	-	Unilateral Stilling-Duane anomaly	-	-	-	Mild myopia +/- mild tortuosity of the retinal arteries	Mild tortuosity of the retinal arteries	Strabismus, refractive disorder	Myopia	-
Endocrine abnormalities	Subclinical hypothyroidism	-	-	Growth delay (-2.8 SD)	-	-	-	Parathyroid adenoma with hyperparathyroidism, thyroid goiter (thyroidectomy)	NK	NK
Neurological abnormalities	-	-	CT: bilateral periventricular white matter loss on scan suggestive of perinatal hypoxia; facial asymmetry	CT: bilateral subependymal cysts	CT: multiple cystic changes within both anterior horns of the lateral ventricles with mild ventriculomegaly	-	-	CT post-traumatic alteration: bilateral frontal atrophy with ventricular dilatation	-	-
Other features	-	One miscarriage	Microcephaly (-3,5 SD), poor attention/concentration and distractibility, poor sense of danger, sleep difficulties, adenoid hypertrophy, recurrent ear wax	Wax	Small left lung with consolidation, severe complex airway narrowing	Mild night cramps	Mild night cramps, perforated eardrum, poriasis	Gout	-	Meningitis (enterovirus, 3 weeks), otitis, wax

**Table S1 (suite 10/11)**

Family Patient	20 41	20 42	20 43	20 44	20 45	20 46	21 47	22 48	22 49
<b>Molecular data (SALL1, NM_002968.3)</b>									
Technique for SALL1 analysis	FISH	FISH	FISH	FISH	FISH	FISH	WES	Mendeliome	Sanger sequencing
c.	18q12.1 deletion	18q12.1 deletion	18q12.1 deletion	18q12.1 deletion	18q12.1 deletion	18q12.1 deletion	c.1411del	c.2390del	c.2390del
p.	All Deletion	All Deletion	All Deletion	All Deletion	All Deletion	All Deletion	p.(His471Ilefs*22) 2	p.(Pro797Glnfs*25) 2	p.(Pro797Glnfs*25) 2
Exon Type	Deletion	Inherited	Inherited	Inherited	Inherited	Inherited	Frameshift NK	Frameshift Not maternal	Frameshift Not maternal
Inheritance	NK	9.5	13	29	9	2.75	29	13	13
Molecular diagnostic age (yo)	NK	9.5	13	29	9	2.75	NK	Not maternal	Not maternal
Other genetic investigations	-	-	-	-	Karyotype: 46,XY,inv(9)(q21.2q34.2)	-	-	-	-
<b>Clinical data</b>									
Age at last examination (yo)	55 F	10 M	13 M	30 M	10 F	2.75 F	31 M	13 M	13 M
Prenatal abnormalities	NK	NK	NK	NK	NK	NK	NK	IUGR (twin)	IUGR (twin)
Gestation (weeks)	NK	38	NK	NK	38	38	39	32,5 NK	32,5 NK
Birth height (cm) (percentile)	NK	50,5 (48e p)	49,5	NK	52 (90e p)	47 (6e )	51 (48e p)	1460 (1e p)	1270 (<1e p)
Birth weight (g) (percentile)	NK	3350 (36e p)	4000	NK	3810 (86e p)	3120 (28e p)	3790 (67e p)	NK	NK
Birth OFC (cm) (percentile)	NK	35 (48e p)	37	NK	NK	33 (13e p)	33,5 (9e p)	NK	NK
Limb malformations	+			+	+	+	+		+
- Preaxial polydactyly	+			-	-	-	Unilateral		Unilateral
- Triphalangeal thumb	-			-	-	-			
- Other thumb malformations	-			-	Bilateral hypoplastic thumbs	Bilateral broad thumbs	Bilateral broad, deviated and low-set thumbs		Unilateral low-set thumb
- Other upper limb malformations	-			-	-	-	Short fingers II-V, broad hand		
- Lower limb malformations	-			Overlapping toe during childhood	-	Bilateral overlapping II-III toes	Unilateral II-III syndactyly, short toes, broad feet, clubfeet, pes planus		Deviated II toe with overgrowth
Gastro-intestinal abnormalities	+				+	+	+	+	+
- Ano-rectal malformations	+				-	+	+	-	-
- Other		Constipation			Celiac disease	Constipation	Severe constipation	Constipation	Constipation
External ear abnormalities					+	+	+		
- Helix malformation					Unilateral	Unilateral	Bilateral		
- Microtia					-	-	-		
- Preauricular tag					-	-	Bilateral retroverted, unilateral helix pit		
- Other					-	-			
Hearing loss				+			+	+	+
- Diagnostic (yo or period)				NK			7	6	13
- Type					Bilateral symmetric		Sensorineural, bilateral asymmetric	Sensorineural, unilateral	Unilateral
- Severity <sup>1</sup>					Mild		Moderate	Moderate	Mild
- Course					NK		Stable	Progressive	NK
- Audiogram profile					U-shaped curve	NK			
- Hearing aids (age in yo or period)					-	-	High frequencies affected	High frequencies affected	U-shaped curve
- Ear MRI or CT-scan					NK		NK	NK	NK

**Table S1 (suite 11/11)**

Family Patient	20 41	20 42	20 43	20 44	20 45	20 46	21 47	22 48	22 49
Kidney and urinary tract abnormalities	NK			+		+	+		
- Chronic renal failure, severity, starting age	-			-		Mild	Moderate, childhood		
- Renal hypoplasia				Unilateral		-	Bilateral		
- Other kidney malformation	-		NK	-	-	-	-	-	-
- Other	NK			-		-	-		
DD / ID (Type of schooling)	no ID (NK)	Mild language delay/no ID (regular)	- (regular)	- (NK)	+/no ID (regular)	- (NA)	Global DD/no ID (regular with learning difficulties)	Language delay/borderline IQ (deafness-specialized school)	Global DD/IQ heterogenous (deafness-specialized school)
Disorders of sex development	-	-	-	-	-	-	-	-	Unilateral hydrocele testis
Cardiac abnormalities	NK	NK	NK	-	-	-	Muscular VSD	NK	NK
Eyes abnormalities	NK	Strabismus	-	Myopia	Refractive disorder	-	Unilateral slight oedema papilla	-	-
Endocrine abnormalities	-	-	-	-	NK	-	Fluctuant high TSH	-	-
Neurological abnormalities	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Other features	-	-	-	Fibromyalgia	-	-	Dysmorphic features (high forehead, thin upperlip)	Dysmorphic features (mild epicanthus)	Low frustration tolerance, anxiety

**Supplementary Table S2: Review of TBS patients with DD and/or ID from our series and the literature (1/3).**

<sup>\*</sup>, excluding double genetic diagnosis, prematurity, neonatal reanimation and mild DD. ADHD, attention deficit hyperactivity disorder; ASD, atrial septal defect; CMA, chromosomal microarray; DD, developmental delay; ID, intellectual disability; IQ, intellectual quotient; IUGR, intrauterine growth restriction; NK, not known; PDA, patent ductus arteriosus; TBS, Townes-Brocks syndrome; VSD, ventricular septal defect; WES, whole exome sequencing; wg, weeks of gestation.

**Table S2 (suite 2/3)**

Reference	Patient	Age	SALL1 variant	Other genetic analysis	Relevant clinical phenotype	Neurodevelopmental phenotype	DD/ID*
Botzenhart et al. 2007	2	2.5	c.814C>T	Karyotype	Deafness, transient renal failure	Mild motor delay	No
Botzenhart et al. 2007	5	4	c.1045dup	No	No	Language delay	Yes
Botzenhart et al. 2007	8	2.75	c.1084_1085del	No	No	Mild DD at 1 yo; walking at 15 months, normal psychomotor development at 2.75 yo	No
Botzenhart et al. 2007	9	NK	Intragenic deletion (c.1119_1197del)	No	Deafness, end-stage renal failure, pseudotumor cerebri with cerebral oedema, feeding difficulties (G-tube)	Motor delay	No
Botzenhart et al. 2007	10	1.75	c.1134del	No	Deafness, ASD	Mild language delay	No
Botzenhart et al. 2007	12	NK	c.1228G>T		Renal failure	Mild ID	Yes
Botzenhart et al. 2007	14	5	c.1415_1425del	No	Deafness	Mild ID	Yes
Botzenhart et al. 2007	15	3	c.1503_1504del	No	No	Mild DD	No
Botzenhart et al. 2007	19.1	NK	c.3249_3255del	No	Prematurity, cerebral hemorrhage	Severe DD	No
Miller et al. 2011	Patient 1-proband	12	149 kb-deletion (SALL1 gene)	Karyotype, CMA	Hypotonia, IUGR	Mild DD, learning difficulties	No
Liberalesto et al. 2017	Proband	2	c.824T>G	Karyotype, CHD7	Deafness, ASD	DD, ADHD, aggressive behavior	Yes
Botzenhart et al. 2005	Family D.1	NK	c.1028_1029del	No	Deafness, epilepsy	Mild ID, ADHD	Yes
Kohlhase et al. 1999	3.1	NK	c.826C>T	No	Deafness	Mild ID	Yes
Morisada et al. 2014	Case 1	15	5.3Mb-deletion (50 genes including 9 OMIM-morbid genes)	EYA1, SIX1, SALL1 and SIX5, CMA	Deafness, mild chronic renal feature	Mild DD	No
Morisada et al. 2014	Case 2	13	6.3Mb-deletion (84 genes including 15 OMIM-morbid genes)	Karyotype, CMA	Severe birth asphyxia, deafness, end-stage renal features, ASD	Severe DD	No
Walter et al. 2006	Index patient + 2 affected brothers	NK	c.2779C>T	Karyotype: trisomy 8 (mosaic)	No	Learning difficulties	No
Bardakjian et al. 2009	Index patient	13	5.6 Mb-deletion (70 genes including 11 OMIM-morbid genes)	Karyotype, BCOR and SOX2	Respiratory distress at birth, failure to thrive, small VSD and PDA, clinical anophthalmia+microphthalmia+absent optic nerves, mild prominence of the left lateral ventricle, small cavum of the septum pellucidum, focal area of parenchymal lucency in the left parietal parenchyma	DD, specialized school	No
Van Bever et al. 2009	Index patient	2	c.826C>T	Karyotype, MLPA of telomere	Deafness, severe dysphagia with oxygen desaturation, mild chronic renal failure, slightly underdeveloped pons	DD	No
Van den Akker et al. 2009	Index patient	3	c.1112C>G mosaicism	Karyotype (mitomycin C), SALL4	Deafness, chronic renal failure, microcephaly	DD of 1 year, poor contact	Yes
Borozdin et al. 2006	Family 2	18	1.9 to 2.6 Mb-deletion (25 genes including 2 OMIM-morbid genes)	Karyotype, SALL1	Deafness	Mild language delay, ID	Yes
Engels et al. 2000	Daughter 1	19	c.1819del	Karyotype	Deafness, chronic renal failure	Mild DD, IQ 71	No
Engels et al. 2000	Daughter 2	13	c.1819del	Karyotype	Deafness, chronic renal failure	Mild DD, IQ 71	No
Xiang et al. 2020	HL18	6	c.943C>T	WES	Deafness	Mild DD	No
Kaiser-Rogers et al. 2000	Patient 1	0.25	Complex structural variation involving SALL1 deletion	Karyotype: complex structural variation	Deafness, hypotonia, growth delay	Severe DD	No
Devriendt et al. 2002	Son	1	c.1255del	No	Deafness, VSD	Mild DD at 1 year	No

**Table S2 (suite 3/3)**

Reference	Patient	Age	SALL1 variant	Other genetic analysis	Relevant clinical phenotype	Neurodevelopmental phenotype	DD/ID*
Kohlhase et al. 2003	182/1	6	c.826T>C	No CMA, GJB2, GJB6, mitochondrial ADN, deafness- gene panel, karyotype	No	Severe ID	Yes
Innoceta et al. 2023		7	356 to 405kb-deletion (SALL1 gene)	mitochondrial ADN, deafness- gene panel, karyotype	Deafness	Language delay	Yes
Monies et al. 2017	16N-0231	4	c.463_477dup	WES	Hypotonia	DD	Yes
Seltzsam et al. 2022	B2583	NK	c.1508dup	WES	VSD	DD	Yes
Liu et al. 2022	436	7	c.1520del	WES	Mild chronic renal failure	ID	Yes
Liu et al. 2022	539	0.5	c.1273C>T	WES	VSD, ASD	ID	Yes
Our series	2-2	12	c.477_480dup	No	Deafness	Mild language delay	No
Our series	2-4	2.25	c.477_480dup	No	Twin pregnancy, prematurity (28 wg), feeding difficulties	Moderate language delay	No
Our series	2-5	2.25	c.477_480dup	No	Twin pregnancy, prematurity (28 wg), IUGR, feeding difficulties	Moderate language delay	No
Our series	9-16	4.25	c.902dup	CMA	Deafness, oxygen in neonatal period (rapid correction), naso-gastric tube, chronic renal failure, growth failure	Solved language delay	No
Our series	10-17	8	c.1444del	Karyotype	Neonatal renal failure progressing to terminal end-stage, ASD, gastrostomy, numerous hospitalisations	Heterogenous DD, specialized school	Yes
Our series	11-18	NK	c.1146_1152dup	No	Deafness, transient renal failure	Specialized school for deafness	No
Our series	11-19	14	c.1146_1152dup	No	Deafness, moderate chronic renal failure	School support for deafness	No
Our series	12-25	30	c.709C>T	No	Deafness, moderate chronic renal failure	Learning difficulties, autism, dyspraxia, ADHD	No
Our series	13-26	9	c.3397C>T	No	Deafness	Solved language delay	No
Our series	14-27	NK	c.1069del	No	Deafness, unilateral ventricular dilatation	Language delay	Yes
Our series	18-32	38	c.826C>T	No	Deafness, mild chronic renal failure	Mild ID	Yes
Our series	18-33	7	c.826C>T	SALL4	Premature (33.5 wg), perinatal hypoxia, tetralogy of Fallot, deafness, failure to thrive with feeding difficulties, growth delay, chronic renal failure	Mild DD, poor attention/concentration and distractibility	No
Our series	20-39	4.25	2,1Mb-deletion (SALL1+HNRNPA1L3 )	No	Deafness	Language delay	Yes
Our series	20-42	10	2,1Mb-deletion (SALL1+HNRNPA1L3 )	No	No	Mild language delay	No
Our series	20-45	10	2,1Mb-deletion (SALL1+HNRNPA1L3 )	No	No	DD	Yes
Our series	21-47	31	c.1411del	Clinical exome	Deafness, chronic renal failure, congenital heart defect	DD	Yes
Our series	22-48	13	c.2390del	Mendeliome	Twin pregnancy, premature (32.5 wg), deafness	Moderate language delay	No
Our series	22-49	13	c.2390del	No	Twin pregnancy, premature (32.5 wg), deafness	DD, low frustration tolerance, anxiety	No

DD/ID\* among all TBS patients with available global detailed phenotype 20/215 (9%)

**Supplementary Table S3: Clinical and molecular characteristics of 207 TBS patients from the literature (1/7).**

Column “Sex”: 0, male; 1, female; empty box: not available. Column “age”: empty box: not available. Next columns: absence; 1, presence; empty box: not available. DD, developmental delay; ID, intellectual disability; TBS, Townes-Brocks syndrome.

**Table S3 (suite 2/7)**

Reference	Patient	Sex	Age	Triad	Prenatal features	DD / ID	Hearing loss	Dysplastic ear	Limb malformations	Thumb malformations	Other upper limb malformations	Lower limb malformations	Gastro-intestinal abnormalities	Anorectal malformations	Other gastro-intestinal abnormalities
Albrecht et al. 2003	Father	0	0				1	1	1	0	0	1	0	0	0
Albrecht et al. 2003	II-1	0	0.5	0	0		0	1	1	0	0	1	0	0	0
Albrecht et al. 2003	II-2	0	2.5	0			0	1	1	0	0	1	0	0	0
Bardakjian et al. 2009		0	13	1		1	0	1	1	1	0	1	1	1	0
Barry et al. 2009		0	0.50	1	0		1	1	1	1	1	1	1	1	0
Beaudoux et al. 2020	Patient 1 mother	1	59	0			1	1	1	1	0	1	0	0	0
Beaudoux et al. 2020	Patient 2 daughter	1	35	0			1	1	1	1	0	1	0	0	0
Blanck et al. 2000	1	0	44	1			1	1	1	1	0	1	1	1	0
Blanck et al. 2000	2	1	1	1			1	1	1	1	0	1	1	1	0
Blanck et al. 2000	3	0	6	0		0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
Blanck et al. 2000	4 or grandmother of patient 3	1	70	0			1	1	1	1	0	0	0	0	0
Blanck et al. 2000	5 or daughter of patient 3	1	37	0			1	1	0	0	0	0	0	0	0
Blanck et al. 2000	Brother of patient 2	0	0				1	1	1	0	0	0	1	0	1
Borozidin et al. 2006	Family 1 - father	0					1								
Borozidin et al. 2006	Family 1 brother	0	1				0	1	1	1	0	0	1	1	0
Borozidin et al. 2006	Family 1 proband	1	10	1		0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Borozidin et al. 2006	Family 2	1	18	1		1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Borozidin et al. 2006	Family 3	1	20	1		0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family A.1 proband	0	0				0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family A.2 father	0	0				0	1	1	1	0	0	0	0	0
Botzenhart et al. 2005	Family B.1 proband	0	1		1		1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family B.2 mother	1	0				1	0	1	1	0	0	0	0	0
Botzenhart et al. 2005	Family C.1	1	1				0	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family D.1	0	1		1		1	1	1	1	0	0	1	1	1
Botzenhart et al. 2005	Family E.1	0	1				1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family F.1	0	9	0		0	1	0	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family G.1	1	1				0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family H.1	1	1				0	1	1	1	0	0	0	1	1
Botzenhart et al. 2005	Family I.1 proband	0	0				1	1	1	1	0	0	0	0	0
Botzenhart et al. 2005	Family I.2 father	0	1				1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family J.1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family K.1 proband	1	15	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family K.2 brother	0	17	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family K.3 mother	1	0				0	1	1	1	0	0	0	0	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.1 father	0	0				1	0	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.10 grandson 2 of daughter	0	1				1	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.2 daughter 1	1	0				1	1	0	0	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.3 daughter 2	1	1				1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.4 daughter 3	1	0				0	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.5 son 1 of daughter 1	0	0				1	1	1	1	0	0	0	0	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.6 son 2 of daughter 1	0	0				0	0	1	0	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.7 daughter of daughter 3	1	1				1	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.8 son of daughter 3	0	1				1	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family L.9 grandson 1 of daughter 3	0	1				1	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family M.1	0	1			0	1	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family M.2 mother	1	0				0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2005	Family M.3 maternal grandfather	1	1				0	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2007	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1
Botzenhart et al. 2007	2	1	2.5	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	3	1	0.67	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	4	0	1	1		0	0	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2007	5	0	4	1		1	0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	8	0	2.67	1		1	0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	9	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1
Botzenhart et al. 2007	10	1	1.75	1		1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
Botzenhart et al. 2007	11	0	0.33	1			0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	12	1	1			1	0	1	1	1	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2007	14	1	5	1		1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	15	1	3	1		1	0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	17	1	0				0	1	0	0	0	0	0	1	0
Botzenhart et al. 2007	13.1 proband	0	2.5	1		0	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	13.2 mother	1	0				1	1	1	1	0	0	0	0	0
Botzenhart et al. 2007	16.1 first daughter	1	1				0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	16.2 young sister	1	1				0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	18.1 proband	0	5.5	1	0		1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	18.2 father	0	0				1	0	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	19.1 proband	0	0			1	0	1	1	0	0	0	1	1	0

**Table S3 (suite 3/7)**

Reference	Patient	Kidney and urinary tract abnormalities	Kidney malformations	Chronic renal failure	Other kidney and urinary tract abnormalities	Genital abnormalities	Cardiac abnormalities	Eyes	Abnormality of refraction	Endocrine abnormalities	Hypothyroidism	Growth delay	Neurological abnormalities	Facial asymmetry	Abnormality of cranial nerve (except Duane)	Upstream (1)/Downstream (2) glutamine-rich region/Gross deletion (3)	1st part 5' (1)/2nd part 3' (2) of hotspot
Albrecht et al. 2003	Father	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Albrecht et al. 2003	II-1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Albrecht et al. 2003	II-2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Bardakjian et al. 2009		1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	3	
Barry et al. 2009		1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	2	1
Beaudoux et al. 2020	Patient 1 mother	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1
Beaudoux et al. 2020	Patient 2 daughter	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Blanck et al. 2000	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	2	1
Blanck et al. 2000	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	2
Blanck et al. 2000	3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2	2
Blanck et al. 2000	4 or grandmother of patient 3															2	2
Blanck et al. 2000	5 or daughter of patient 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Blanck et al. 2000	Brother of patient 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	2
Bozozdin et al. 2006	Family 1-father															3	
Bozozdin et al. 2006	Family 1 brother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Bozozdin et al. 2006	Family 1 proband	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Bozozdin et al. 2006	Family 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Bozozdin et al. 2006	Family 3	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	
Botzenhart et al. 2005	Family A.1 proband	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
Botzenhart et al. 2005	Family A.2 father	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2005	Family B.1 proband	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
Botzenhart et al. 2005	Family B.2 mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2005	Family C.1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2	1
Botzenhart et al. 2005	Family D.1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2	1
Botzenhart et al. 2005	Family E.1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2005	Family F.1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2005	Family G.1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2005	Family H.1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family I.1 proband	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.2 father	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family J.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family K.1 proband	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family K.2 brother	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family K.3 mother	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.1 father	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.0 grandson 2 of daughter	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.2 daughter 1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.3 daughter 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.4 daughter 3	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.5 son 1 of daughter 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.6 son 2 of daughter 1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.7 daughter of daughter 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.8 son of daughter 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family L.9 grandson 1 of daughter 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family M.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family M.2 mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2005	Family M.3 maternal grandfather	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Botzenhart et al. 2007	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	4	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	9	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	3	
Botzenhart et al. 2007	10	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	11	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	12	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	13.1 proband	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	13.2 mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	16.1 first daughter	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	16.2 young sister	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	18.1 proband	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	18.2 father	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	19.1 proband	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	2	2

**Table S3 (suite 4/7)**

Reference	Patient	Sex	Age	Triad	Prenatal features	DD / ID	Hearing loss	Dysplastic ear	Limb malformations	Thumb malformations	Other upper limb malformations	Lower limb malformations	Gastro-intestinal abnormalities	Anorectal malformations	Other gastro-intestinal abnormalities
Botzenhart et al. 2007	19.2 young brother	0	0			0	1	1	0	0	1	1	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	19.3 mother	1	0			0	0	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	20.1 proband	0	1			0	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	20.2 brother	0	1			0	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	20.3 mother	1	0			1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Botzenhart et al. 2007	6.1 proband	0	0			1	1	1	1	0	0	1	0	0	0
Botzenhart et al. 2007	6.2 mother	1	0			1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Botzenhart et al. 2007	7.1 proband	0	4	1		1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	7.2 elder sister	1	0			1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
Botzenhart et al. 2007	7.3 sister (identical twin 7.4)	1	1			1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	7.4 sister (identical twin 7.3)	1	1			1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Botzenhart et al. 2007	7.5 father	0	60	0		1	0	1	1	0	0	1	0	0	0
Choi et al. 2010	Mother's patient	1	0			1	1	0	0	0	0	0	1	1	0
Choi et al. 2010	Proband	0	0.33	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
Devriendt et al. 2002	Father	0	0			0	0	1	0	1	1	1	0	0	0
Devriendt et al. 2002	Proband	0	1	1		1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
Engels et al. 2000	Daughter 1	1	19	0		1	1	1	1	0	0	1	1	0	1
Engels et al. 2000	Daughter 2	1	13	0		1	1	1	0	0	0	0	1	0	1
Engels et al. 2000	Father	0	0	0		0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Faguer et al. 2009	1	0	35	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Faguer et al. 2009	2	0	28	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0
Fang et al. 2022	Daughter	1	10	0		1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Fang et al. 2022	Father	1	53	0		1	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Fang et al. 2022	Paternal aunt	0	53	0		1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
Fang et al. 2022	Proband	0	32	0		1	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Fu-Jun Lin et al. 2016															
Fumis et al. 2007, 2009	OX2948	1	0			0	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Guala et al. 2023							0	0	1	1	0	0	0	0	0
							0	1	1	1	0	1	0	0	0
Innoceta et al. 2023	A3687-12	1	0			0									
Hwang et al. 2014															
Hwang et al. 2014	A3687-21 (same family as above)	0	0			0									
Hwang et al. 2014	F1434-21	0	0			0									
Ihan et al. 2021															
Innoceta et al. 2023	Maternal uncle	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
Innoceta et al. 2023	mother	1	0			1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Innoceta et al. 2023	proband	1	7	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0
Johansson et al. 2023	53	1	0			1	0	1	1	0	0	0	1	1	0
Kaiser-Rogers et al. 2000	1	1	0.25	1		1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
Keegan et al. 2001	2	0	0			0	1	1	1	1	0	1	1	0	1
Kohlhase et al. 1998	Family 1 II 2 mother	1	1			1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Kohlhase et al. 1998	Family 1 III 2	0	1			1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Kohlhase et al. 1998	Family 1 III 3	1	1			1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Kohlhase et al. 1998	Family 2 II 1	0	1			0	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Kohlhase et al. 1999	10 1	1	0			0	1	0	1	1	0	1	0	0	0
Kohlhase et al. 1999	10 2	1	0			0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
Kohlhase et al. 1999	10 3	0	0			0	1	1	1	0	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 1999	11 1	1	0			0	1	1	1	0	0	1	1	1	1
Kohlhase et al. 1999	3 1	0	1			1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 1999	4 1	0	1			0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 1999	5 1	0	1			0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 1999	6 1	1	1			0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 1999	7 2	1	0			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kohlhase et al. 1999	9 1	0	0			0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Kohlhase et al. 1999, Newman et al. 1997	7 1	0	23	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 1999, Vries-van der Weerd et al. 1 father							0	1	0	1	1	0	0	0	0
Kohlhase et al. 1999, Vries-van der Weerd et al. 2 proband							0	1	1	1	0	1	1	1	1
Kohlhase et al. 2003	103/1	0	5	0		0	1	1	1	1	0	1	1	0	1
Kohlhase et al. 2003	119/1	1	3	1		0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 2003	149/1	0	3	1		0	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Kohlhase et al. 2003	182/1	0	6	1		0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 2003	186/1	0	34	1		0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 2003	188/1	0	2	0		0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
Kohlhase et al. 2003	205/1	1	19	0		0	1	1	1	1	0	1	1	0	1
Kohlhase et al. 2003	224/1	1	20	1		0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kohlhase et al. 2003	224/2	1	4	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0
Kosaki et al. 2007	1	1	5	1		1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Kosaki et al. 2007	2 sister of patient 1)	1	3	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0
Kosaki et al. 2007	Mother	1	0			0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Lawrence et al. 2013	Patient 1	0	3	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1
Lawrence et al. 2013	Patient 1 IV 1	1	1			0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
Lawrence et al. 2013	Patient 2	1	3	0		1	0	1	1	1	0	1	0	1	1
Lawrence et al. 2013	Patient 2 II 2	1	0			0	1	1	1	0	0	1	0	1	0
Lawrence et al. 2013	Patient 2 II 3	1	0			0	1	1	1	0	0	1	0	1	1

**Table S3 (suite 5/7)**

Reference	Patient	Kidney and urinary tract abnormalities	Kidney malformations	Chronic renal failure	Other kidney and urinary tract abnormalities	Genital abnormalities	Cardiac abnormalities	Eyes	Abnormality of refraction	Endocrine abnormalities	Hypothyroidism	Growth delay	Neurological abnormalities	Facial asymmetry	Abnormality of cranial nerve (except Duane)	Upstream (1)/Downstream (2) glutamine-rich region/Gross deletion [3]	1st part 5' (1)/2nd part 3' (2) of hotspot
Botzenhart et al. 2007	19.2 young brother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	19.3 mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	20.1 proband	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	20.2 brother	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	20.3 mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Botzenhart et al. 2007	6.1 proband	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	6.2 mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	7.1 proband	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	7.2 elder sister	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	7.3 sister (identical twin 7.4)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	7.4 sister (identical twin 7.3)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Botzenhart et al. 2007	7.5 father	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Choi et al. 2010	Mother's patient	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2	2
Choi et al. 2010	Proband	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	2	2
Devriendt et al. 2002	Father	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Devriendt et al. 2002	Proband	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Engels et al. 2000	Daughter 1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	2	2
Engels et al. 2000	Daughter 2	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	2
Engels et al. 2000	Father	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Faguer et al. 2009	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Faguer et al. 2009	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Fang et al. 2022	Daughter	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Fang et al. 2022	Father	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Fang et al. 2022	Paternal aunt	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Fang et al. 2022	Proband	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Fu-Jun Lin et al. 2016																1	
Furniss et al. 2007, 2009	OX2948	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Guula et al. 2023		1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Hwang et al. 2014	A3687-12	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Hwang et al. 2014	A3687-21 (same family as above)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Hwang et al. 2014	F1434-21	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Ilhan et al. 2021																1	
Imnooeta et al. 2023	Maternal uncle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Imnooeta et al. 2023	mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Imnooeta et al. 2023	proband	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	3	
Johansson et al. 2023	S3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Kaiser-Rogers et al. 2000	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	3	
Keegan et al. 2001	2	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 1998	Family 1 II 2 mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Kohlhase et al. 1998	Family 1 III 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Kohlhase et al. 1998	Family 1 III 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Kohlhase et al. 1998	Family 2 II 1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 1999	10 1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 1999	10 2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 1999	10 3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 1999	11 1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Kohlhase et al. 1999	3 1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 1999	4 1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2	1
Kohlhase et al. 1999	5 1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 1999	6 1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 1999	7 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Kohlhase et al. 1999	9 1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Kohlhase et al. 1999	Newman et al. 1997 7 1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	2
Kohlhase et al. 1999	Vries-van der Weerd & 8 1 father	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Kohlhase et al. 1999	Vries-van der Weerd & 8 2 proband	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Kohlhase et al. 2003	103/1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 2003	119/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 2003	149/1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 2003	182/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 2003	188/1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 2003	188/1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 2003	205/1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1
Kohlhase et al. 2003	224/1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kohlhase et al. 2003	224/2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Kosaki et al. 2007	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Kosaki et al. 2007	2 sister of patient 1)	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	2	2
Kosaki et al. 2007	Mother	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Lawrence et al. 2013	Patient 1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2	2
Lawrence et al. 2013	Patient 1 IV 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2
Lawrence et al. 2013	Patient 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Lawrence et al. 2013	Patient 2 II 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Lawrence et al. 2013	Patient 2 II 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2

**Table S3 (suite 6/7)**

Reference	Patient	Sex	Age	Triad	Prenatal features	DD / ID	Hearing loss	Dysplastic ear	Limb malformations	Thumb malformations	Other upper limb malformations	Lower limb malformations	Gastro-intestinal abnormalities	Anorectal malformations	Other gastro-intestinal abnormalities
Liberalecco et al. 2017		0	2	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
Liu et al. 2022	436	1	7	1		1	0	1	1	1	0	0	1	1	0
Liu et al. 2022	539	1	0.5	0		1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
Liu et al. 2022	568	1	6.8			1			1	1	0	0	1	1	0
Liu et al. 2022	592	0	13.3			0			0	0	0	0	1	1	0
Lorenzini et al. 2017		1	10	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0
Lugli et al. 2022	1	0	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
Lugli et al. 2022	2 or brother of 1	0	2	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0
Lugli et al. 2022	father	0	35	0			0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mann et al. 2019	B034		0		0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
Marlin et al. 1999	TB1	0	1				1	1	1	1	0	1	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB1 mother	1	0				1	1	1	1	0	1	0	0	0
Marlin et al. 1999	TB2	0	1				1	1	1	1	0	1	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB3	1	1				1	1	1	1	1	1	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB3 mother	1	0				1	1	1	0	0	1	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB4	0	1				1	1	1	1	0	1	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB4 mother	1					1	1	1	1	0	1	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB5	0	1				1	1	1	1	0	1	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB5 father	0	0				1	1	1	1	0	0	0	0	0
Marlin et al. 1999	TB6	1	1				1	1	1	1	0	0	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB7		1				1	1	1	1	0	0	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB8		1				1	1	1	1	0	1	1	1	0
Marlin et al. 1999	TB9	0					0	0	1	1	0	0	1	1	0
Miller et al. 2011	Patient 1 proband	1	12	0		1	0	1	1	0	1	1	1	1	0
Miller et al. 2011	Patient 2 father	0	34	0		0	0	0	1	1	0	0	1	1	0
Monies et al. 2017	16N-0231	0	4			1			1	0	0	1	0	0	0
Morisada et al. 2014	2	0	13	1		1	1	1	1	1	0	0	1	1	0
Morisada et al. 2014, Unzaki et al 2018	1	0	15	0		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Reardon et al. 2007	1	53	0				1	1	1	1	0	0	0	0	0
Reuter et al. 2020	Family 074	0	0			0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Salemo et al. 1998		0	14	1	0		1	1	1	1	0	1	1	1	1
Seltzam et al. 2022	B1770	1	1			0	0	1	1	1	0	0	1	1	0
Seltzam et al. 2022	B2583	0	0			0	1	0	1	1	0	0	1	1	0
Seo et al. 2015	Patient 1 - Proband	0	0.83	1	0		1	1	1	1	0	0	1	1	0
Seo et al. 2015	Patient 2 - Mother	1	31	0		0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
Sudo et al. 2010	Mother of proband	1	0				1	0	1	1	0	0	1	1	0
Sudo et al. 2010	Proband	1	4	1	0		1	1	1	1	0	1	1	1	0
Surka et al. 2001	Aunt III-1	1	0				1	0	1	1	0	0	0	0	0
Surka et al. 2001	Aunt III-3	1	0				1	0	1	1	0	0	0	0	0
Surka et al. 2001	Maternal grandmother II-2	1	0				1	0	1	1	0	0	0	0	0
Surka et al. 2001	Mother	1	1				1	1	1	1	0	0	1	1	0
Surka et al. 2001	Proband	0	1				1	1	1	1	0	0	1	1	0
Tian et al. 2022	VAB2003P0106	1							1	1	0	0	1	1	0
Unzaki et al. 2018	Family 25 SC34	0	16	0		0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Valikodath et al. 2020		0	0.5	1			1	1	1	1	0	0	1	1	0
Van Bever et al. 2009		1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Van de Putte et al. 2020	1						1	1	1	1	0	0	1	1	0
Van de Putte et al. 2020	2						0	0	1	0	1	1	1	1	0
Van de Putte et al. 2020	3						0	0	0	0	0	0	1	1	0
Van de Putte et al. 2020	Mother of patient 2	1	0				0	0	1	0	0	1	0	0	0
Van den Akker et al. 2009		0	3	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
Van den Hondel et al. 2016							1	0	1	1	1	1	1	1	0
Walter et al. 2008	Mother	1	0				0	0	0	0	0	0	0	0	0
Walter et al. 2008	Proband	1	14			1	0	0	1	1	1	1	1	1	0
Wang et al. 2023	Patient 1	0	27	0			1	1	1	0	0	1	0	0	0
Wang et al. 2023	Patient 2	0	14	0			0	1	0	0	0	0	0	0	0
Wang et al. 2023	Patient 2 mother	0						1					0	0	0
Weber et al. 2008	GDA18	1	17	0			0	0	0	0	0	0	0	0	0
Wei et al. 2022 (abstract only)		0	0.125				1		1	1	0	0	1	1	0
Wopperer et al. 2022		0	27	0			0	0	1	1	0	0	1	1	0
Wu et al. 2017	C0004	1	48				0	0	0	0	0	0	0	0	0
Wu et al. 2023	I-2 - mother	1	68	0			0	1	1	0	0	1	0	0	0
Wu et al. 2023	II-2 - proband	0	46	1			0	1	1	1	0	1	1	1	0
Wu et al. 2023	III-3 daughter	1	18	0			0	1	1	1	0	1	0	0	0
Wu et al. 2023	III-4 - son	0	1				0	1	1	1	0	1	1	1	0
Xiang et al. 2020	HL18	0	6	0		1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
Yang et al. 2021	Proband	1	0.17	0			1	0	1	1	0	0	1	1	0
Yang et al. 2021	Proband's father	0	0				1	1	1	0	1	0	0	0	0

**Table S3 (suite 7/7)**

Reference	Patient	Kidney and urinary tract abnormalities	Kidney malformations	Chronic renal failure	Other kidney and urinary tract abnormalities	Genital abnormalities	Cardiac abnormalities	Eyes	Abnormality of refraction	Endocrine abnormalities	Hypothyroidism	Growth delay	Neurological abnormalities	Facial asymmetry	Abnormality of cranial nerve (except Duane)	Upstream (1)/Downstream (2) glutamine-rich region/Gross deletion [3]	1st part 5'(1)/2nd part 3'(2) of hotspot
Liberalesto et al. 2017		0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	2	1
Liu et al. 2022	436	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	2
Liu et al. 2022	539	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Liu et al. 2022	568	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Liu et al. 2022	592	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Lorenzini et al. 2017		1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lugli et al. 2022	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
Lugli et al. 2022	2 or brother of 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
Lugli et al. 2022	father	1		1									0	0	0	1	1
Mann et al. 2019	B934	1		1									0	0	0	2	1
Marlin et al. 1999	TB1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Marlin et al. 1999	TB1 mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	2
Marlin et al. 1999	TB2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Marlin et al. 1999	TB3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Marlin et al. 1999	TB3 mother	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Marlin et al. 1999	TB4															2	2
Marlin et al. 1999	TB4 mother															2	2
Marlin et al. 1999	TB5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	
Marlin et al. 1999	TB5 father	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Marlin et al. 1999	TB6	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Marlin et al. 1999	TB7	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Marlin et al. 1999	TB8	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1
Marlin et al. 1999	TB9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Miller et al. 2011	Patient 1 proband	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3	
Miller et al. 2011	Patient 2 father	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Monies et al. 2017	16N-0231															1	1
Morisada et al. 2014	2	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Morisada et al. 2014, Unzaki et al 2018	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3	
Reardon et al. 2007		1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	2	2
Reuter et al. 2020	Family 074	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	3	
Salemo et al. 1998		1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Seitzsam et al. 2022	B1770	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Seitzsam et al. 2022	B2583	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Seo et al. 2015	Patient 1 - Proband	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	1
Seo et al. 2015	Patient 2 - Mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Sudo et al. 2010	Mother of proband	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Sudo et al. 2010	Proband	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Surka et al. 2001	Aunt III-1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Surka et al. 2001	Aunt III-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Surka et al. 2001	Maternal grandmother II-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Surka et al. 2001	Mother	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	2	1
Surka et al. 2001	Proband	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Tian et al. 2022	VAB2003P0106							1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
Unzaki et al. 2018	Family 26 SC334	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Valkkodath et al. 2020		1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	2	1
Van Bever et al. 2009		1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	2	1
Van de Putte et al. 2020	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Van de Putte et al. 2020	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1
Van de Putte et al. 2020	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Van den Akker et al. 2009	Mother of patient 2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Van den Hondel et al. 2016		1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Walter et al. 2006	Mother	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Walter et al. 2006	Proband	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Wang et al. 2023	Patient 1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Wang et al. 2023	Patient 2	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	2
Wang et al. 2023	Patient 2 mother	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Weber et al. 2006	GDA18	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Wei et al. 2022 (abstract only)		1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	2	1
Wopperer et al. 2022		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
Wu et al. 2017	C0004	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Wu et al. 2023	I-2 - mother	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Wu et al. 2023	II-2 - proband	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2	2
Wu et al. 2023	III-3 daughter	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Wu et al. 2023	III-4 - son	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Xiang et al. 2020	HL18	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Yang et al. 2021	Proband	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	2
Yang et al. 2021	Proband's father	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2



## RESULTATS COMPLEMENTAIRES

De par les contraintes de rédaction, les différentes prévalences des signes cliniques chez des patients porteurs de la variation récurrente c.826C>T;p.(Arg276\*) (n=26 : 1 famille de 4 patients issue de notre série ; (11,12,18,67–73)), d'une délétion du gène *SALL1* (n=28 : 1 famille de 9 patients issue de notre série ; (11,14,26,64,74–79)) ou d'un autre variant de *SALL1* (n=200 : 36 patients de 20 familles issus de notre série ; (10–17,19,27,61,65,65,80–102,102–107)) sont présentées de manière détaillée dans le Tableau 3 ci-dessous. Par ailleurs, 17/26 (65.4%) des patients porteurs du variant récurrent et 6/21 (28.6%) des patients porteurs d'une délétion emportant seulement le gène OMIM morbide (associé à une pathologie dans OMIM) *SALL1* présentaient la triade clinique caractéristique. Il n'a pas été réalisé d'analyse statistique comparative pour ces données.

**Tableau 3 : Comparaison des fréquences des signes cliniques entre les patients porteurs du variant récurrent c.826C>T;p.(Arg276\*), d'une délétion emportant SALL1 seul ou associée à la délétion d'autres gènes OMIM morbides, et des autres variants de SALL1.**

\*\*, Délétion d'autre(s) gène(s) répertoriés comme gène OMIM morbide (associés à une pathologie dans OMIM). DS, déviation standard.

Variable		Type de variant			
		c.826C>T; p.(Arg276*) n=26	Délétion SALL1 n=22	Délétion SALL1 + autre(s)** n=6	Autres variants n=200
Signes cliniques (%)	Masculin (%)	14/23 (60.9)	11/22 (50)	4/6 (66.7)	98/195 (50.3)
	Féminin (%)	9/23 (39.1)	11/22 (50)	2/6 (33.3)	97/195 (49.8)
	Disponible	18	15	5	101
	Moyenne ± DS	10.28 ± 13.74	18.00 ± 14.81	11.85 ± 6.80	20.11 ± 20.75
	Surdité	21/26 (80.8)	12/21 (57.1)	5/6 (83.3)	120/191 (62.8)
	Oreille dysplasique	26/26 (100)	13/21 (61.9)	6/6 (100)	150/188 (79.8)
	Malformation des pouces	25/26 (96.2)	11/21 (52.4)	4/6 (66.7)	134/196 (68.4)
	Malformation des membres inférieurs	16/26 (61.5)	6/21 (28.6)	2/6 (33.3)	89/188 (47.3)
	Malformation anorectale	18/26 (69.2)	13/21 (61.9)	4/6 (66.7)	124/189 (65.6)
	Malformation rénale	16/25 (64.0)	5/18 (27.8)	2/5 (40.0)	78/180 (43.3)
	Insuffisance rénale	10/26 (38.5)	5/20 (25.0)	2/5 (40.0)	57/186 (30.6)
	Variation du développement génital	8/26 (30.8)	2/21 (9.5)	0/6 (0.0)	24/191 (12.6)
	Malformation cardiaque congénitale	12/26 (46.2)	1/17 (5.9)	4/6 (66.7)	28/180 (15.6)
	Atteinte endocrinienne	6/26 (23.1)	1/18 (5.6)	2/6 (33.3)	32/187 (17.1)

## DISCUSSION

Sur le plan descriptif, la triade clinique caractéristique (malformations des pouces et anorectale, dysplasie des oreilles) était présente chez seulement 25% des individus de notre série *versus* 49.7% pour ceux de la littérature, le signe le plus fréquent étant la dysplasie des oreilles externes (80.7%). Par ailleurs, au total, 65.0% et 31.4% des patients avaient, respectivement, une surdité et une insuffisance rénale chronique, chez des patients dont la moyenne d'âge était de 18.3 +/- 19.6 ans.

Sur le plan des analyses statistiques comparatives, des corrélations génotypes-phénotypes ont pu être mises en évidence grâce aux données supplémentaires récoltées dans cette étude.

L'association entre la mutation récurrente c.826C>T;p.(Arg276\*) et les malformations cardiaques a été confirmée avec une fréquence de 46.2% *versus* 15.6% pour les patients porteurs d'autres génotypes (excluant les délétions de *SALL1*), avec un phénotype cardiaque pouvant être plus sévère (tétralogie de Fallot) (9,70). De façon globale, une tendance à l'augmentation des fréquences de toutes les atteintes était observée chez les patients porteurs de ce variant récurrent par rapport à ceux porteurs d'autres variants de *SALL1* (Tableau 3). Concernant le neurodéveloppement, 5/24 (20.8%) patients avaient un retard psychomoteur (RPM) et/ou une déficience intellectuelle (DI). Aucune analyse statistique comparative n'a pu être réalisée afin de confirmer si cette tendance était significative ou non afin d'éviter la multiplication des tests. Ces observations pourraient être liées à un gain de fonction particulier de ce variant, plus particulièrement lors du développement cardiaque.

Par ailleurs, 22 patients étaient porteurs d'une délétion emportant *SALL1* sans autre gène OMIM morbide (gène associé à une pathologie dans la base de données OMIM), dont 9 patients de notre série (1 famille). Une tendance à la diminution, plus ou moins importante, pour toutes les atteintes était observée par rapport aux variants de *SALL1* (excluant le variant récurrent

c.826C>T;p.(Arg276\*)). A noter que les fréquences de la surdité et de l'insuffisance rénale étaient similaires. De la même façon que précédemment, il n'a pas été réalisé d'analyses statistiques comparatives pour confirmer ou non une association significative. Parmi les 6 patients porteurs de plus larges délétions impliquant *SALL1* et d'autre(s) gène(s) OMIM morbide(s), 5/6 avaient un RPM et/ou une DI. Deux précédentes études avaient étudié cet aspect : 1) la 1<sup>e</sup> étude ne retrouvait pas de lien probant entre une délétion de toutes tailles de *SALL1* (n=8) et un phénotype particulier de par un possible trop faible nombre de patients rapportés à l'époque de sa publication (26) ; 2) la 2<sup>e</sup> étude, plus récente, concluait à un phénotype malformatif plus léger mais avec un risque augmenté de RPM et/ou DI chez les patients porteurs d'une délétion emportant uniquement *SALL1* (n=10) par comparaison aux patients porteurs de la mutation récurrente c.826C>T;p.(Arg276\*) (n=20) (9,70). Les variables pour lesquelles existait une association significative étaient les oreilles dysplasiques ( $p=0.0230$ ) et les malformations cardiaques congénitales ( $p=0.0095$ ) avec une plus faible proportion chez les patients porteurs d'une délétion de *SALL1* (64).

Sur le plan physiopathologique, la comparaison entre les patients porteurs d'un variant situé avant ou après le site riche en glutamine paraît la plus pertinente et a permis de mettre en évidence des corrélations génotype-phénotype (cf. résultats de l'article ci-dessus). En effet, ce site semble avoir un rôle important dans l'homo-dimérisation et l'hétéro-dimérisation des protéines Sal (29). Ainsi, les variants situés après ce site pourrait être à l'origine d'un effet dominant négatif par dimérisation des protéines *SALL1* mutantes avec des protéines *SALL* sauvages, aboutissant à une altération structurelle et fonctionnelle des protéines *SALL* dimérisée, rendue possible par une résistance au *nonsense mediated mRNA decay* des variants tronquants de *SALL1* (cf. discussion de l'article ci-dessus).

Du fait de la rareté du TBS, cette série de 49 patients constitue la plus conséquente rapportée dans la littérature. En effet, les deux plus grandes séries précédemment publiées concernaient 32 patients en 2005 (13) et 29 patients en 2007 (14). Cette série apporte non

seulement des données supplémentaires concernant le TBS (49 patients de notre série sur un total de 256 patients rapportés) mais concernant aussi des patients plus âgés (23,6 +/- 21,8 ans versus 15,6 +/- 17,3 ans pour les individus issus de la littérature) permettant d'avoir des notions d'évolution, bien que parcellaires.

Par ailleurs, la revue de la littérature réalisée dans le cadre de ce projet a permis de servir de support pour l'élaboration du PNDS du TBS, rédigé en collaboration avec différents spécialistes d'organes et mis en ligne sur le site de la Haute Autorité de Santé en février 2024. La synthèse à destination du médecin traitant est présentée en Annexe 2. Le PNDS complet et l'argumentaire sont accessibles sur le site internet de la Haute Autorité de Santé (108). Conformément aux objectifs des différents PNMR, ce document devrait permettre une meilleure connaissance de ce syndrome et une harmonisation des pratiques de diagnostic, de prise en charge et de suivi des patients atteints d'un TBS (2–4). Les corrélations génotypes-phénotypes évoquées précédemment n'étant pas absolues, le suivi proposé dans le PNDS est identique pour tous les patients, quelle que soit l'altération de *SALL1* identifiée.

Le conseil génétique correspond à l'estimation du risque de maladie génétique chez un individu, la précision des caractéristiques de la pathologie et des possibilités de prévention et/ou traitement de cette dernière. Dans le cadre du TBS, le risque de transmission est clairement établi pour la descendance d'un individu atteint : s'agissant d'une pathologie autosomique dominante, celui-ci est de 50% pour la descendance, quel que soit le sexe. Concernant le risque de récurrence dans une fratrie lorsqu'aucun des parents n'est porteur du variant identifié chez le cas index, celui-ci correspond au risque de mosaïque germinale chez l'un des deux parents, difficile à estimer individuellement et source d'incertitude en conseil génétique. A noter que des cas de mosaïques germinales (81) et somatiques (19,83) de variants de *SALL1* ont été rapportés dans la littérature, ce qui n'était pas le cas dans notre série.

En dehors de la transmission du variant *SALL1* familial, une autre source d'incertitude est le pronostic d'un individu porteur, de par l'expressivité intra- et inter-familiale très variable du TBS.

Bien que des corrélations génotype-phénotype aient pu être évoquées précédemment, elles ne peuvent être utilisés pour le conseil génétique de manière individuelle puisqu'elles ne sont pas toujours vérifiées comme en témoigne la variabilité d'expressivité intra-familiale. Par exemple, certains individus de la famille 2 présentaient des tableaux cliniques différents avec ou sans malformations des pouces, malformation anorectale, dysplasie des oreilles externes et surdité. De plus, la question du neurodéveloppement est essentielle puisque qu'un RPM et/ou une DI sont rapportés chez 9% des individus atteints. La principale limite de ce travail est le recueil rétrospectif et rarement longitudinal des données, ne permettant pas de préciser de manière fiable l'évolution des patients. Les données étaient aussi parfois parcellaires, en particulier en ce qui concerne la trajectoire neurodéveloppementale, qui correspond à un élément crucial de la sévérité de toute pathologie et du conseil génétique. Une étude prospective longitudinale est nécessaire pour caractériser non seulement le neurodéveloppement des patients porteurs d'un TBS, mais aussi le risque et la sévérité de l'IR qui peut se développer même en l'absence d'atteinte structurale initiale et qui aggrave le pronostic des patients. Ceci permettrait de préciser le conseil génétique, notamment dans le cadre du diagnostic prénatal que ce soit dans un contexte de TBS familial ou de TBS sporadique, lié à la présence de signes anténataux (cardiopathie, malformation des membres, retard de croissance intra-utérin, malformation rénale). A noter que des signes anténataux étaient présents chez 57% des individus de notre série (12/21 où des données concernant la grossesse étaient disponibles) versus 6/30 des individus de la littérature (20% où des données concernant la grossesse étaient disponibles). En effet, les indications des analyses génétiques à type d'exome sont de plus en plus larges en prénatal, il est donc probable que des diagnostics de TBS puissent être posés en prénatal à l'avenir, en dehors de tout contexte familial, rendant la question du pronostic centrale pour l'information des couples en période prénatale.

Comparativement aux données de la littérature, le tableau clinique des patients de cette série était moins typique, associé à une répartition des variants de *SALL1* plus fréquemment

localisés avant la région riche en glutamine. Si l'expressivité inter- et intra-familiale variable du TBS était déjà connue (9,89), cette étude appuie d'autant plus l'intérêt d'adresser les patients présentant certains symptômes aux généticiens cliniciens : présence de deux malformations, surdité isolée, malformations des pouces isolées, déficience intellectuelle isolée, cataracte congénitale, malformation rénale bilatérale isolée ou unilatérale/bilatérale syndromique, antécédents familiaux du même spectre clinique, etc. Cette consultation spécialisée doit avoir lieu le plus tôt possible, afin de poser le diagnostic précocement et d'initier la prise en charge et le suivi, en particulier néphrologique et audiologique.

A ce jour, seuls les variants tronquants et délétions des régions codantes de *SALL1* ont été rapportés chez des patients présentant un TBS. Des variants faux-sens, n'engendrant pas de protéine *SALL1* tronquée, ont été mentionnés chez des patients porteur de malformations congénitales rénales et du tractus urinaire isolées (87). Ces variants n'ont pas été étudiés fonctionnellement à notre connaissance, il est donc difficile de déterminer s'ils sont causaux et à l'origine d'un phénotype exclusivement rénal ou s'ils sont non causaux.

Les régions codantes géniques correspondent aux séquences traduites en protéines : les variants localisés dans ces régions sont actuellement les plus « simples » à interpréter, en l'état des connaissances. Il existe une proportion non négligeable de patients présentant un phénotype évocateur de TBS sans déterminisme moléculaire malgré le séquençage et l'analyse du gène *SALL1*, seul gène causal connu du TBS (9). Ces errances diagnostiques peuvent être dues à la présence d'un diagnostic différentiel mais aussi à d'autres mécanismes moléculaires non connus. Le séquençage du génome pourrait permettre d'identifier le déterminisme moléculaire chez ces patients, en décelant par exemple des altérations de séquences (délétion, autres) des *enhancers* de *SALL1* ou une altération de l'architecture chromatinienne (remaniement chromosomique) perturbant les interactions *enhancers-SALL1*, pouvant rendre compte du phénotype, comme cela a été mis en évidence pour d'autres pathologies (109).

Enfin, le mécanisme physiopathologique du TBS reste difficile à établir malgré les corrélations génotypes-phénotypes évoquées dans ce travail et les précédentes études fonctionnelles (36,45,60,61,63).

D'une part, l'existence de patients porteurs d'une délétion de *SALL1* rend l'hypothèse physiopathologique par gain de fonction ou effet dominant négatif unique très peu probable pour ces patients. Une des explications pourrait résider dans le fait qu'une perte de fonction pourrait être suffisante pour développer des signes de TBS, qu'elle soit liée une haploinsuffisance (délétion ; certains variants tronquants situés vers la partie N-terminale de la protéine sujets au *nonsense mediated decay* ?) ou à une perte de fonction de *SALL1* (variants tronquants ?) (64). En effet, les fréquences des signes cliniques observés chez les patients porteurs d'une délétion de *SALL1* sans autre gène OMIM morbides délétés (Tableau 3) et les patients porteurs d'un variant de *SALL1* situés avant la région riche en glutamine sont similaires (article-Table 2). Ainsi, il est possible que le TBS résulte de différents mécanismes pouvant aboutir à un phénotype plus ou moins sévère : 1) une perte de fonction par haploinsuffisance (délétions) ou absence de certains domaines importants pour la fonction protéique de *SALL1* (variants tronquants situés avant la région riche en glutamine) ; 2) un effet dominant négatif par échappement au *nonsense mediated decay* (60,61) rendant possible la dimérisation de *SALL1* mutante avec les *SALL* sauvages altérant leur fonction (variants tronquants situés après le site riche en glutamine impliqué dans la dimérisation) ; 3) un gain de fonction additionnel pour certains variants tronquants, et en particulier le variant récurrent c.826C>T;p.(Arg276\*) pouvant rendre compte de la proportion augmentée de cardiopathies par rapport aux phénotypes associés aux autres variants (9,70). A ce titre, l'étude des transcrits par RNA-seq (séquençage de l'ARN total) ou RT-PCR et séquençage (extraction de l'ARN total puis séquençage de l'ARN *SALL1*) sur des prélèvements urinaires, sanguins ou cutanés de patients porteurs d'un variant tronquant de *SALL1* pourrait permettre d'apporter des pistes dans le mécanisme physiopathologique du TBS. En effet, *SALL1* est fortement exprimé dans le tissu rénal, plus faiblement dans le sang et les

fibroblastes cutanés (110), mais des études de transcrits SALL1 ont déjà pu être réalisées dans des lignées lymphoblastiques et des cultures fibroblastiques (60,61).

D'autre part, la grande variabilité intra-familiale rend compte de l'implication d'autres facteurs influençant la sévérité du phénotype, très probablement de manière multifactorielle avec l'association de facteurs environnementaux et génétiques.

## CONCLUSION

Cette étude a permis la description de 49 patients porteurs d'un TBS non rapportés sur le plan phénotypique antérieurement, permettant d'enrichir les connaissances biologiques et cliniques de ce syndrome. Le recueil rétrospectif des données n'a pas permis d'apporter de réponse univoque quant au pronostic neurodéveloppemental, alors que 9% des patients porteur d'un TBS présentaient un RPM et/ou une DI. Des corrélations génotypes-phénotypes ont pu être établies, en lien avec la présence ou l'absence du site de dimérisation des protéines SALL dans l'hypothèse d'un effet dominant négatif pour les variants tronquants de *SALL1* situés après le site, par opposition à une perte de fonction pour les variants tronquants de *SALL1* situés avant le site.

A l'avenir, une étude clinique prospective et longitudinale des patients porteurs de TBS est nécessaire afin de préciser le conseil génétique et la trajectoire évolutive des patients en particulier leur neurodéveloppement en lien avec les autres atteintes, notamment cardiaques, et le risque et la sévérité d'IR.

Par ailleurs, le(s) mécanisme(s) physiopathologiques(s) du TBS reste(nt) à élucider par la conduite d'études fonctionnelles *in vitro* (RNA-seq) et *in vivo*, en comparant les variants situés avant et après la région riche en glutamine.

## ANNEXES

### Annexe 1. Formulaire clinico-biologique

Equipe de recherche clinico-biologique du CHRU de Lille :  
Anomalies géniques responsables de malformations congénitales des membres

#### Formulaire : Syndrome de Townes-Brocks ; gène SALL1

Nom : \_\_\_\_\_ Prénom : \_\_\_\_\_ Sexe : F/M  
Date de naissance : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_ Ville de naissance (Pays) : \_\_\_\_\_  
Date de la dernière consultation : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

##### Périodes anténatale et néonatale :

Grossesse : spontanée / PMA (Précisez : \_\_\_\_\_)

Pathologie(s) et/ou exposition(s) maternelle(s) :  Précisez : \_\_\_\_\_

Echographies anténatales : Normales / Anormales / Grossesse non suivie

Précisez si anomalies : \_\_\_\_\_

Amniocentèse :  Motif : \_\_\_\_\_ Résultats : \_\_\_\_\_

Accouchement à : SA; Spontané / Provoqué; Voie basse / Césarienne / Forceps; Apgar : \_\_\_\_\_

Biométrie naissance : Poids = \_\_\_\_ (\_\_\_ DS) Taille = \_\_\_\_ (\_\_\_ DS) Périmètre crânien = \_\_\_\_ (\_\_\_ DS)

Manoeuvres de réanimation :  Précisez : \_\_\_\_\_

Particularités de la période néonatale : \_\_\_\_\_

Age au diagnostic : \_\_\_\_\_

Poids = \_\_\_\_ (\_\_\_ DS) Taille = \_\_\_\_ (\_\_\_ DS) Périmètre crânien = \_\_\_\_ (\_\_\_ DS) à : \_\_\_\_ (âge)

Dysmorphie faciale :  Précisez : \_\_\_\_\_

Développement psychomoteur : Age de la marche : \_\_\_\_\_

Type de scolarité : \_\_\_\_\_

Retard :  Type : global / moteur / langage

Age de début : \_\_\_\_\_

Sévérité : \_\_\_\_\_

Troubles du comportement :  Type : \_\_\_\_\_

Surdité :  Age de diagnostic : \_\_\_\_\_

Examen évaluant l'audition :  Type : \_\_\_\_\_ Date : \_\_\_\_\_

Type :

Transmission / perception / mixte

Unilatérale / bilatérale asymétrique / bilatérale symétrique

Sévérité : légère / moyenne / sévère / profonde

Profil évolutif : stable / évolutive / fluctuante

Profil de l'audiogramme : fréquences atteintes : \_\_\_\_\_

Signes ORL associés :  Précisez : \_\_\_\_\_

Appareillage :  Implant cochléaire :  Type : \_\_\_\_\_ Age : \_\_\_\_\_

IRM ou TDM des rochers :  Date : \_\_\_\_\_

Résultats : \_\_\_\_\_

Retard de langage :  Scolarité adaptée à la surdité :

Autre(s) : \_\_\_\_\_

<u>Anomalies des oreilles externes :</u> <input type="checkbox"/>	Droite	Gauche
Microtie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tubercules prétragiens	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fistules prétraggiennes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Implantation basse	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rotation postérieure	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anomalie de l'hélix	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Autre(s) : _____		

<u>Malformations des membres :</u> <input type="checkbox"/>		
<u>Radiographie(s) :</u> <input type="checkbox"/> Date : _____ Résultats : _____		
<u>Membres supérieurs :</u>		
Polydactylie pré-axiale : <input type="checkbox"/>	Droite / Gauche / Bilatérale	
	Pouce droit	Pouce gauche
Triphalangé	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hypoplasique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Large	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Implantation basse	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dévié	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Autre(s) : _____		
Syndactylie : <input type="checkbox"/>	Précisez la(es)quelle(s) : _____	
Autre(s) : _____		
<u>Membres inférieurs :</u>		
Pieds bots : <input type="checkbox"/>	Pieds plats : <input type="checkbox"/>	
Syndactylie : <input type="checkbox"/>	Précisez la(es)quelle(s) : _____	
Orteils chevauchants : <input type="checkbox"/>	Précisez lesquels : _____	
Orteils courts : <input type="checkbox"/>	Précisez le(s)quel(s) : _____	
Autre(s) : _____		

<u>Anomalies gastro-intestinales :</u> <input type="checkbox"/>		
Imperforation anale : <input type="checkbox"/>		
Sténose anale : <input type="checkbox"/>		
Antéposition anale : <input type="checkbox"/>		
Atrésie anale : <input type="checkbox"/>		
Fistule : <input type="checkbox"/> Type : _____		
Reflux gastro-oesophagien : <input type="checkbox"/>		
Constipation : <input type="checkbox"/>		
Difficultés alimentaires : <input type="checkbox"/> Age : ____ à ____ Support nutritionnel : <input type="checkbox"/> Type : _____		
Autre(s) : _____		

Anomalies réno-urinaires :

Echographie rénale :  Date : \_\_\_\_\_

Droit

Gauche

Agénésie rénale :

Hypoplasie rénale :

Dysplasie rénale :

Rein multikystique :

Autre(s) : \_\_\_\_\_

Clairance de la créatinine basse :  Transitoire / Permanente

Insuffisance rénale chronique :  Age au diagnostic : \_\_\_\_\_ Sévérité : \_\_\_\_\_

Etiologie : \_\_\_\_\_ Dialyse :  Transplantation :

Reflux vésico-urétéral :

Autre(s) : \_\_\_\_\_

Anomalies génitales :

Hypospadias :

Cryptorchidie :  Droite / Gauche / Bilatérale

Autre(s) : \_\_\_\_\_

Anomalies cardiaques :

Echographie cardiaque :  Date : \_\_\_\_\_

Résultats : \_\_\_\_\_

Autre(s) : \_\_\_\_\_

Anomalies oculaires :

Consultation ophtalmologique :  Date : \_\_\_\_\_

Troubles de la réfraction  Type : \_\_\_\_\_

Correction optique

Cataracte  Congénitale / Acquise

Colobome  Localisation : \_\_\_\_\_

Anomalie de Duane :  Droite / Gauche / Bilatérale

Autre(s) : \_\_\_\_\_

Anomalies endocriniennes :

Imagerie thyroïdienne :  Type : \_\_\_\_\_ Date : \_\_\_\_\_

Résultats : \_\_\_\_\_

Hypothyroïdie :  Congénitale / Acquise ; Primaire / Secondaire

Goître thyroïdien :  Multinodulaire :

Retard statural :  Age de début : \_\_\_\_\_ Substitution :  Cause : \_\_\_\_\_

Autre(s) : \_\_\_\_\_

Anomalies neurologiques :

Imagerie cérébrale :  Type : \_\_\_\_\_ Date : \_\_\_\_\_ Résultats : \_\_\_\_\_

Asymétrie faciale :

Anomalies des nerfs crâniens :  Précisez : \_\_\_\_\_

Autre(s) : \_\_\_\_\_

Autres atteintes cliniques :

Autre(s) imagerie(s) :  Type(s) : \_\_\_\_\_ Date(s) : \_\_\_\_\_

Résultats : \_\_\_\_\_

Fossette sacrée :

Anomalie costale :  Précisez : \_\_\_\_\_

Hernie(s) :  Type(s) : \_\_\_\_\_

Autre(s) : \_\_\_\_\_

Investigations génétiques réalisées et résultats : \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Apparentés atteints cliniquement :  Précisez : \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Apparentés testés :  Précisez : \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Résultats : \_\_\_\_\_

*Merci de signaler les apparentés atteints sur l'arbre généalogique et de joindre un autre formulaire les concernant s'ils sont porteurs de la mutation familiale et qu'ils ne sont pas opposés à participer à l'étude.*

Merci de remplir ce formulaire, d'y joindre :

1. Arbre généalogique
2. Photographies des oreilles, de la face et des membres
3. Audiogramme(s)
4. TDM et/ou IRM des rochers (avec le CD si possible)
5. Radiographie(s) des mains

Et d'envoyer l'ensemble des documents par voie électronique ou postale (coordonnées en bas de page) selon la réglementation en vigueur.

**Annexe 2. PNDS – Syndrome de Townes-Brocks : Synthèse à destination du médecin traitant (Haute Autorité de Santé)**

PNDS accessible à l'adresse suivante : [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3493442/fr/syndrome-de-townes-brocks\(111\)](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3493442/fr/syndrome-de-townes-brocks(111))

## **Synthèse à destination du médecin traitant**

**Extraite du Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS)**

### **Syndrome de Townes-Brocks**

**Janvier 2024**

**Centre de Référence Maladies Rares « Surdités Génétiques » CHU Lille**

**Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du développement » CHU Lille**

## Synthèse à destination du médecin traitant

Le syndrome de Townes-Brocks est une maladie rare d'origine génétique. A ce jour, environ 200 patients, caractérisés d'un point de vue moléculaire, ont été rapportés dans la littérature. Ce syndrome se caractérise par la présence d'une **triade clinique : malformation ano-rectale, malformation des pouces et dysplasie des oreilles, pouvant être associées à d'autres signes cliniques**, notamment une atteinte rénale, une surdité, des malformations des membres inférieurs ou cardiaques, ou une atteinte génitale chez le garçon. Le diagnostic est évoqué, le plus souvent, en période néonatale ou au cours de l'enfance devant l'association syndromique avec ou sans antécédents familiaux, mais peut aussi être évoqué à l'âge adulte notamment dans le cadre de l'atteinte rénale. Il est rare que le diagnostic puisse être établi en période anténatale en dehors de toute histoire familiale (essentiellement par la mise en évidence de malformations cardiaques ou rénales non spécifiques mais aussi d'un retard de croissance intra-utérin).

La **malformation ano-rectale** est retrouvée chez 69% des patients, majoritairement dans une forme basse. Un avis précoce dans les 48 premières heures de vie auprès d'une équipe experte est indispensable afin de valider une éventuelle indication opératoire. Le suivi, adapté à la sévérité de la malformation, doit être poursuivi jusqu'à l'âge adulte, le retentissement fonctionnel étant variable d'un patient à l'autre, notamment en fonction des malformations associées. Une IRM médullaire peut être réalisée pour évaluer l'existence ou non d'un dysraphisme spinal occulte associé (non classiquement rapporté dans le syndrome de Townes-Brocks).

L'**atteinte des pouces** (76%) consiste principalement en une polydactylie pré-axiale (pouces bifides) (47%) et des pouces triphalangés (29%), plus rarement des pouces hypoplasiques (8%). Sa prise en charge est médico-chirurgicale puisqu'elle pourra justifier d'une chirurgie orthopédique de l'enfant aux alentours d'un an, en fonction des atteintes, et devra être complétée d'une prise en charge rééducative par ergothérapie notamment. Le suivi sera adapté aux malformations et résultats de la chirurgie.

L'**atteinte ORL** comporte des oreilles externes (ou pavillons) dysplasiques (82%) et une surdité (67%), le plus souvent neurosensorielle, congénitale ou d'apparition plus tardive et de sévérité variable, pouvant nécessiter un appareillage. La surdité peut apparaître à différents âges et s'aggraver. Elle justifie d'une surveillance audiométrique régulière pour tous les patients, au minimum tous les 6 mois dans les premières années de vie puis tous les ans. En cas de surdité, une évaluation orthophonique et une rééducation précoce devront être réalisées. La **dysplasie des oreilles externes (ou pavillons)** peut être prise en charge chirurgicalement en fonction des souhaits du patient, classiquement à partir de 8-10 ans.

L'**atteinte des membres inférieurs** concerne 49% des patients et est variable : pieds bots (5%), pieds plats, syndactylie, chevauchement et clinodactylie des orteils. Le diagnostic clinique de pieds bots doit conduire à une consultation rapide auprès d'un chirurgien orthopédiste pédiatrique, la prise en charge débutant précocement après la naissance avec un suivi tout au long de la croissance par la suite. Les autres atteintes ne nécessitent souvent pas de prise en charge chirurgicale.

L'**atteinte rénale** concerne 55% des patients. Elle est secondaire à des anomalies de développement des reins et/ou des voies urinaires conduisant à une hypodysplasie rénale avec ou sans uropathie associée, avec risque d'insuffisance rénale dans l'enfance ou à l'âge adulte. Elle justifie d'une surveillance clinique, biologique et radiologique régulière : dosage de la créatinémie sanguine, recherche d'une microalbuminurie et échographie. L'insuffisance rénale (29%) est de sévérité variable, pouvant évoluer jusqu'à l'insuffisance rénale terminale.

Sa prise en charge ne diffère pas d'une prise en charge classique (néphroprotection, traitement conservateur, dialyse, transplantation).

L'atteinte génitale est retrouvée chez 26% des garçons et consiste principalement en un hypospadias, plus rarement une cryptorchidie, nécessitant un bilan hormonal en période néonatale en fonction de l'atteinte. En cas de cryptorchidie persistante au-delà de 6 mois de vie, le nourrisson sera adressé en chirurgie pédiatrique pour envisager une descente testiculaire chirurgicale vers 12 mois. En cas d'hypospadias postérieur, si la famille est demandeuse d'une prise en charge chirurgicale, la temporalité devra être discutée avec le centre de référence. Un suivi sera à effectuer en période pubertaire pour évaluer le fonctionnement testiculaire en cas de cryptorchidie bilatérale ou d'hypospadias postérieur.

Les malformations cardiaques touchent 18% des patients. Il s'agit le plus souvent de persistance du canal artériel, communication inter-auriculaire ou ventriculaire, voire plus rarement de tétralogie de Fallot, pouvant parfois être dépistées lors des échographies pré-natales. En fonction de l'atteinte, la prise en charge pourra être médicale et/ou chirurgicale.

De même, les atteintes endocriniennes (13%) sont plus rares mais justifient d'un suivi systématique, par dosage des hormones thyroïdiennes et surveillance de la croissance staturo-pondérale. L'hypothyroïdie sera traitée par supplémentation hormonale. La prise en charge du retard de croissance est variable suivant son étiologie.

L'atteinte oculaire, en dehors des anomalies de la réfraction, est retrouvée chez 12% des patients. Il s'agit essentiellement de strabisme de type syndrome de Stilling-Duane et de colobomes. Le dépistage ophtalmologique doit être systématique. Le suivi et le traitement ultérieurs sont fonction des anomalies dépistées lors du premier examen.

Une atteinte cognitive (retard psychomoteur, déficience intellectuelle) a pu être observée chez environ 5% des patients, souvent en présence de comorbidités.

Le diagnostic clinique du syndrome de Townes-Brocks peut être évoqué par le généticien clinicien ou par le spécialiste d'organe dans le cadre d'une association malformatrice ou d'antécédents familiaux évocateurs, ou de façon inattendue lorsque le patient présente une forme d'aspect isolée, avec signes mineurs méconnus. Il peut être confirmé par l'identification d'une variation génomique pathogène (ou probablement pathogène) hétérozygote du gène **SALL1**. L'absence de mise en évidence d'une variation causale dans le gène **SALL1** n'exclut pas nécessairement le diagnostic lorsque le tableau clinique et/ou l'histoire familiale sont très évocateurs.

A ce jour, il n'existe pas de traitement spécifique du syndrome de Townes-Brocks. La prise en charge repose donc sur un traitement symptomatique des atteintes et une surveillance régulière afin de prendre en charge précocement les atteintes éventuelles. La prise en charge pluridisciplinaire dans un Centre de Référence ou de Compétence Maladies Rares (CRMR ou CCMR) est indispensable.

Sur le plan du conseil génétique, il s'agit d'une pathologie de transmission autosomique dominante avec une pénétrance complète mais dont l'expressivité inter- et intra-familiale est très variable. Un patient présentant un syndrome de Townes-Brocks a donc 50% de risque de transmettre la maladie à sa descendance, quelqu'en soit le sexe. Cependant, de par l'expressivité très variable de la maladie, il n'est pas possible de prédire *a priori* la sévérité de la maladie.

Cette grande variabilité d'expression peut également retarder le diagnostic, en particulier devant des formes incomplètes ou du fait d'une méconnaissance de ce syndrome. L'adressage au généticien clinicien et aux centres de référence/compétence maladies rares

est donc primordial pour tout patient présentant une association malformatrice ou des antécédents familiaux malformatifs. L'examen clinique et le bilan malformatif permettront d'orienter les investigations génétiques et, éventuellement, d'évoquer des diagnostics différentiels.

L'annonce diagnostique doit être réalisée par des professionnels spécialisés dans un Centre de Référence ou de Compétence Maladies Rares. Un soutien psychologique doit être proposé au patient et à sa famille. Le médecin traitant peut adresser en consultation de conseil génétique les parents d'un enfant atteint ou l'individu atteint lui-même, en cas de projet parental. Cette consultation permettra d'évaluer le risque de récurrence de la pathologie et d'informer les patients sur les éventuelles possibilités de diagnostic prénatal ou diagnostic préimplantatoire (si diagnostic moléculaire précédemment établi) selon l'avis du Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic PréNatal (CPDPN).

Le rôle du médecin traitant consiste à :

- Adresser à une consultation de génétique clinique tout patient présentant une association malformatrice (au moins 2 atteintes) ou une surdité ou atteinte rénale isolée précoce,
- Participer à la coordination de l'accompagnement multidisciplinaire en lien avec le centre de référence ou de compétence de proximité,
- Assurer le suivi médical, tout au long de la croissance et du développement et, si besoin, adresser le patient vers le centre de référence ou de compétence de proximité,
- Assurer la surveillance des complications de la maladie en lien avec les équipes référentes,
- Adresser à une consultation de conseil génétique le patient, ou tout apparenté symptomatique ou non, ayant un projet de grossesse.

#### Informations complémentaires et contacts utiles

- Orphanet : <http://www.orpha.net>
- GeneReviews (anglais) : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1445/>
- Centres de référence et de compétence (liste en annexe 2)
- Filières de santé maladies rares (liste en annexe 2)
- Associations (liste en annexe 2)

## REFERENCES

1. DGOS. Ministère du travail, de la santé et des solidarités. 2024 [cited 2024 Apr 6]. Les maladies rares. Available from: <https://sante.gouv.fr/soins-et-maladies/prises-en-charge-specialisees/maladies-rares/article/les-maladies-rares>
2. Ministère de la Santé et des Solidarités. Plan National Maladies Rares 2005-2008. 2005.
3. Ministère de l'Economie, des finances et de l'Industrie, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, Ministère de la Santé et de la Cohésion sociale, Ministère du Travail, de l'Emploi et de la Santé. Plan National Maladies Rares 2011-2014. 2011.
4. Ministère des Solidarités et de la Santé, Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation. Plan National Maladies Rares 2018-2022. 2018.
5. enseignementsup-recherche.gouv.fr [Internet]. [cited 2024 Apr 6]. Vers un quatrième plan national maladies rares (PNMR4): pour des synergies accrues entre le soin et la recherche. Available from: <https://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/fr/vers-un-quatrieme-plan-national-maladies-rares-pnmr4-pour-des-synergies-accrues-entre-le-soin-et-la-89732>
6. Martínez-Frías ML, Bermejo Sánchez E, Arroyo Carrera I, Pérez Fernández JL, Pardo Romero M, Burón Martínez E, et al. [The Townes-Brocks syndrome in Spain: the epidemiological aspects in a consecutive series of cases]. An Esp Pediatr. 1999 Jan;50(1):57–60.
7. Nombre de cas par maladie rare dans la BNDMR | Banque Nationale de Données Maladies Rares [Internet]. [cited 2024 Apr 6]. Available from: <https://www.bndmr.fr/publications/nombre-de-cas-par-mr/>
8. Townes PL, Brocks ER. Hereditary syndrome of imperforate anus with hand, foot, and ear anomalies. J Pediatr. 1972 Aug;81(2):321–6.
9. Kohlhase J. Townes-Brocks Syndrome. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2023 Jan 14]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1445/>
10. Kohlhase J, Wischermann A, Reichenbach H, Froster U, Engel W. Mutations in the SALL1 putative transcription factor gene cause Townes-Brocks syndrome. Nat Genet. 1998 Jan;18(1):81–3.
11. Marlin S, Blanchard S, Slim R, Lacombe D, Denoyelle F, Alessandri JL, et al. Townes-Brocks syndrome: detection of a SALL1 mutation hot spot and evidence for a position effect in one patient. Hum Mutat. 1999;14(5):377–86.
12. Kohlhase J, Taschner PE, Burfeind P, Pasche B, Newman B, Blanck C, et al. Molecular analysis of SALL1 mutations in Townes-Brocks syndrome. Am J Hum Genet. 1999 Feb;64(2):435–45.
13. Botzenhart EM, Green A, Ilyina H, König R, Lowry RB, Lo IFM, et al. SALL1 mutation analysis in Townes-Brocks syndrome: twelve novel mutations and expansion of the phenotype. Hum Mutat. 2005 Sep;26(3):282.
14. Botzenhart EM, Bartalini G, Blair E, Brady AF, Elmslie F, Chong KL, et al. Townes-Brocks syndrome: twenty novel SALL1 mutations in sporadic and familial cases and refinement of the SALL1 hot spot region. Hum Mutat. 2007 Feb;28(2):204–5.
15. Beaudoux O, Lebre AS, Doco Fenzy M, Spodenkiewicz M, Canivet E, Colosio C, et al. Adult diagnosis of Townes-Brocks syndrome with renal failure: Two related cases and review of literature. Am J Med Genet A. 2021 Mar;185(3):937–44.
16. Faguer S, Pillet A, Chassaing N, Merhenberger M, Bernadet-Monrozies P, Guitard J, et al. Nephropathy in Townes-Brocks syndrome (SALL1 mutation): imaging and pathological findings in adulthood. Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc. 2009 Apr;24(4):1341–5.
17. Lawrence C, Hong-McAtee I, Hall B, Hartsfield J, Rutherford A, Bonilla T, et al. Endocrine abnormalities in Townes-Brocks syndrome. Am J Med Genet A. 2013 Sep;161A(9):2266–73.
18. Barry JS, Reddy MA. The association of an epibulbar dermoid and Duane syndrome in a patient with a SALL1 mutation (Townes-Brocks Syndrome). Ophthalmic Genet. 2008 Dec;29(4):177–80.

19. van den Akker PC, van de Graaf R, Dooijes D, van Essen AJ. Somatic mosaicism for the SALL1 mutation p.Ser371X in full-blown Townes-Brocks syndrome with Duane anomaly. *Am J Med Genet A*. 2009 Feb 15;149A(4):812–5.
20. Kohlhase J. SALL4-Related Disorders. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews® [Internet]*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2024 Apr 1]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1373/>
21. Solomon BD. The etiology of VACTERL association: Current knowledge and hypotheses. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2018;178(4):440–6.
22. Mehta PA, Ebens C. Fanconi Anemia. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews® [Internet]*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2024 Apr 7]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1401/>
23. Singhal D, Tripathy K. Oculo Auriculo Vertebral Spectrum. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Apr 7]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576398/>
24. Smith RJ. Branchiootorenal Spectrum Disorder. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews® [Internet]*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2024 Apr 7]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1380/>
25. van Ravenswaaij-Arts CM, Hefner M, Blake K, Martin DM. CHD7 Disorder. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, et al., editors. *GeneReviews® [Internet]*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993 [cited 2024 Apr 7]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1117/>
26. Miller EM, Hopkin R, Bao L, Ware SM. Implications for genotype-phenotype predictions in Townes-Brocks syndrome: case report of a novel SALL1 deletion and review of the literature. *Am J Med Genet A*. 2012 Mar;158A(3):533–40.
27. Seo YJ, Lee KE, Ko JM, Kim GH, Yoo HW. Variable expression observed in a Korean family with Townes-Brocks syndrome caused by a *SALL1* mutation. *J Genet Med*. 2015 Jun 30;12(1):44–8.
28. de Celis JF, Barrio R. Regulation and function of Spalt proteins during animal development. *Int J Dev Biol*. 2009 Nov 1;53(8-9-10):1385–98.
29. Sweetman D, Smith T, Farrell ER, Chantry A, Munsterberg A. The conserved glutamine-rich region of chick csal1 and csal3 mediates protein interactions with other spalt family members. Implications for Townes-Brocks syndrome. *J Biol Chem*. 2003 Feb 21;278(8):6560–6.
30. Kawakami Y, Uchiyama Y, Rodriguez Esteban C, Inenaga T, Koyano-Nakagawa N, Kawakami H, et al. Sall genes regulate region-specific morphogenesis in the mouse limb by modulating Hox activities. *Dev Camb Engl*. 2009 Feb;136(4):585–94.
31. Katano W, Mori S, Sasaki S, Tajika Y, Tomita K, Takeuchi JK, et al. Sall1 and Sall4 cooperatively interact with MyoD and SRF to promote cardiomyocyte proliferation by regulating CDK and cyclin genes. *Dev Camb Engl*. 2023 Dec 15;150(24):dev201913.
32. Sweetman D, Münsterberg A. The vertebrate spalt genes in development and disease. *Dev Biol*. 2006 May 15;293(2):285–93.
33. Kohlhase J, Schuh R, Dowe G, Kühnlein RP, Jäckle H, Schroeder B, et al. Isolation, Characterization, and Organ-Specific Expression of Two Novel Human Zinc Finger Genes Related to the *Drosophila* Genes *salt*. *Genomics*. 1996 Dec 15;38(3):291–8.
34. GTEx Portal [Internet]. [cited 2024 Apr 14]. Available from: <https://gtexportal.org/home/gene/SALL1#gene-transcript-browser-block>
35. Buck A, Kispert A, Kohlhase J. Embryonic expression of the murine homologue of *SALL1*, the gene mutated in Townes–Brocks syndrome. *Mech Dev*. 2001 Jun 1;104(1):143–6.
36. Nishinakamura R, Matsumoto Y, Nakao K, Nakamura K, Sato A, Copeland NG, et al. Murine homolog of *SALL1* is essential for ureteric bud invasion in kidney development. *Dev Camb Engl*. 2001 Aug;128(16):3105–15.

37. Buck A, Archangelo L, Dixkens C, Kohlhase J. Molecular cloning, chromosomal localization, and expression of the murine SALL1 ortholog Sall1. *Cytogenet Cell Genet*. 2000;89(3–4):150–3.
38. Pennacchio LA, Ahituv N, Moses AM, Prabhakar S, Nobrega MA, Shoukry M, et al. In vivo enhancer analysis of human conserved non-coding sequences. *Nature*. 2006 Nov 23;444(7118):499–502.
39. Netzer C, Bohlander SK, Hinzke M, Chen Y, Kohlhase J. Defining the heterochromatin localization and repression domains of SALL1. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Mar;1762(3):386–91.
40. Kiefer SM, McDill BW, Yang J, Rauchman M. Murine Sall1 Represses Transcription by Recruiting a Histone Deacetylase Complex \*. *J Biol Chem*. 2002 Apr 26;277(17):14869–76.
41. Lauberth SM, Rauchman M. A Conserved 12-Amino Acid Motif in Sall1 Recruits the Nucleosome Remodeling and Deacetylase Corepressor Complex \*. *J Biol Chem*. 2006 Aug 18;281(33):23922–31.
42. Giordano I, Pirone L, Muratore V, Landaluze E, Pérez C, Lang V, et al. SALL1 Modulates CBX4 Stability, Nuclear Bodies, and Regulation of Target Genes. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:715868.
43. Yamashita K, Sato A, Asashima M, Wang PC, Nishinakamura R. Mouse homolog of SALL1, a causative gene for Townes–Brocks syndrome, binds to A/T-rich sequences in pericentric heterochromatin via its C-terminal zinc finger domains. *Genes Cells*. 2007;12(2):171–82.
44. Netzer C, Rieger L, Brero A, Zhang CD, Hinzke M, Kohlhase J, et al. SALL1, the gene mutated in Townes–Brocks syndrome, encodes a transcriptional repressor which interacts with TRF1/PIN2 and localizes to pericentromeric heterochromatin. *Hum Mol Genet*. 2001 Dec 15;10(26):3017–24.
45. Kiefer S, Ohlemiller K, Yang J, McDill B, Kohlhase J, Rauchman M. Expression of a truncated Sall1 transcriptional repressor is responsible for Townes-Brocks syndrome birth defects. *Hum Mol Genet*. 2003 Oct 1;12:2221–7.
46. Sato A, Kishida S, Tanaka T, Kikuchi A, Kodama T, Asashima M, et al. Sall1, a causative gene for Townes–Brocks syndrome, enhances the canonical Wnt signaling by localizing to heterochromatin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Jun 18;319(1):103–13.
47. Rehman S, Ahmed D. Embryology, Kidney, Bladder, and Urete. 2023 [cited 2024 Apr 29]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547747>
48. Chai L, Yang J, Di C, Cui W, Kawakami K, Lai R, et al. Transcriptional Activation of the SALL1 by the Human SIX1 Homeodomain during Kidney Development \*. *J Biol Chem*. 2006 Jul 14;281(28):18918–26.
49. Basta JM, Robbins L, Denner DR, Kolar GR, Rauchman M. A Sall1-NuRD interaction regulates multipotent nephron progenitors and is required for loop of Henle formation. *Development*. 2017 Sep 1;144(17):3080–94.
50. Hirsch S, El-Achkar T, Robbins L, Basta J, Heitmeier M, Nishinakamura R, et al. A mouse model of Townes–Brocks syndrome expressing a truncated mutant Sall1 protein is protected from acute kidney injury. *Am J Physiol-Ren Physiol*. 2015 Nov 15;309(10):F852–63.
51. Abedin MJ, Imai N, Rosenberg ME, Gupta S. Identification and Characterization of Sall1-Expressing Cells Present in the Adult Mouse Kidney. *Nephron Exp Nephrol*. 2011 Sep 20;119(4):e75–82.
52. Morita Y, Andersen P, Hotta A, Tsukahara Y, Sasagawa N, Hayashida N, et al. Sall1 transiently marks undifferentiated heart precursors and regulates their fate. *J Mol Cell Cardiol*. 2016 Mar 1;92:158–62.
53. Harrison SJ, Nishinakamura R, Jones KR, Monaghan AP. Sall1 regulates cortical neurogenesis and laminar fate specification in mice: implications for neural abnormalities in Townes-Brocks syndrome. *Dis Model Mech*. 2012 May;5(3):351–65.
54. Scott EP, Breyak E, Nishinakamura R, Nakagawa Y. The zinc finger transcription factor Sall1 is required for the early developmental transition of microglia in mouse embryos. *Glia*. 2022 Sep;70(9):1720–33.
55. Petit F, Sears KE, Ahituv N. Limb development: a paradigm of gene regulation. *Nat Rev Genet*. 2017 Apr;18(4):245–58.
56. Farrell ER, Münsterberg AE. csal1 is controlled by a combination of FGF and Wnt signals in developing limb buds. *Dev Biol*. 2000 Sep 15;225(2):447–58.

57. Harvey SA, Logan MPO. *sall4* acts downstream of *tbx5* and is required for pectoral fin outgrowth. *Dev Camb Engl.* 2006 Mar;133(6):1165–73.
58. Chen KQ, Kawakami H, Anderson A, Corcoran D, Soni A, Nishinakamura R, et al. *Sall* genes regulate hindlimb initiation in mouse embryos. *Genetics.* 2024 Feb 22;iyae029.
59. Álvarez C, Quiroz A, Benítez-Riquelme D, Riffo E, Castro AF, Pincheira R. SALL Proteins: Common and Antagonistic Roles in Cancer. *Cancers.* 2021 Dec 15;13(24):6292.
60. Kiefer SM, Robbins L, Barina A, Zhang Z, Rauchman M. *SALL1* truncated protein expression in Townes-Brocks syndrome leads to ectopic expression of downstream genes. *Hum Mutat.* 2008;29(9):1133–40.
61. Furniss D, Critchley P, Giele H, Wilkie AOM. Nonsense-mediated decay and the molecular pathogenesis of mutations in *SALL1* and *GLI3*. *Am J Med Genet A.* 2007 Dec 15;143A(24):3150–60.
62. Sakaki-Yumoto M, Kobayashi C, Sato A, Fujimura S, Matsumoto Y, Takasato M, et al. The murine homolog of *SALL4*, a causative gene in Okihiro syndrome, is essential for embryonic stem cell proliferation, and cooperates with *Sall1* in anorectal, heart, brain and kidney development. *Development.* 2006 Aug 1;133(15):3005–13.
63. Bozal-Basterra L, Martín-Ruiz I, Pirone L, Liang Y, Sigurðsson JO, Gonzalez-Santamarta M, et al. Truncated *SALL1* Impedes Primary Cilia Function in Townes-Brocks Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2018 Feb 1;102(2):249–65.
64. Innoceta AM, Olivucci G, Parmeggiani G, Scarano E, Pragliola A, Graziano C. Chromosomal Microarray Analysis Identifies a Novel *SALL1* Deletion, Supporting the Association of Haploinsufficiency with a Mild Phenotype of Townes–Brocks Syndrome. *Genes.* 2023 Feb;14(2):258.
65. Wang Z, Sun Z, Diao Y, Wang Z, Yang X, Jiang B, et al. Identification of two novel *SALL1* mutations in chinese families with townes-brocks syndrome and literature review. *Orphanet J Rare Dis.* 2023 Aug 29;18:250.
66. Nature [Internet]. 2024 [cited 2024 Mar 15]. European Journal of Human Genetics. Available from: <https://www.nature.com/ejhg/>
67. Guala A, Grosso E, Franceschini P, Danesino C. A previous clinical diagnosis of Ullrich-Feichtiger syndrome is molecularly defined as Townes-Brocks syndrome. *Clin Dysmorphol.* 2023 Oct 1;32(4):189.
68. İlhan O, Gumus E, Hakan N, İstar H, Harmandar B, Olgun H, et al. A Genotyped Case of Townes–Brocks Syndrome with Absent Pulmonary Valve Syndrome from Turkey. *J Pediatr Genet [Internet].* 2021 Dec 10 [cited 2023 Jan 27]; Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0041-1740371>
69. Keegan CE, Mulliken JB, Wu BL, Korf BR. Townes-Brocks syndrome versus expanded spectrum hemifacial microsomia: review of eight patients and further evidence of a “hot spot” for mutation in the *SALL1* gene. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 2001;3(4):310–3.
70. Kohlhase J, Liebers M, Backe J, Baumann-Müller A, Bembea M, Destrée A, et al. High incidence of the R276X *SALL1* mutation in sporadic but not familial Townes-Brocks syndrome and report of the first familial case. *J Med Genet.* 2003 Nov;40(11):e127.
71. Mann N, Braun DA, Amann K, Tan W, Shril S, Connaughton DM, et al. Whole-Exome Sequencing Enables a Precision Medicine Approach for Kidney Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2019 Feb;30(2):201–15.
72. Valikodath NG, Jain S, Miller M, Kaufman LM. Ocular features of Townes-Brocks syndrome. *J AAPOS Off Publ Am Assoc Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 2020 Apr;24(2):115–8.
73. van Bever Y, Gischler SJ, Hoeve HLJ, Smit LS, Nauta J, Dooijes D. Obstructive apneas and severe dysphagia in a girl with Townes-Brocks syndrome and atypical feet involvement. *Eur J Med Genet.* 2009;52(6):426–9.
74. Bardakjian TM, Schneider AS, Ng D, Johnston JJ, Biesecker LG. Association of a de novo 16q copy number variant with a phenotype that overlaps with Lenz microphthalmia and Townes-Brocks syndromes. *BMC Med Genet.* 2009 Dec 16;10:137.
75. Borozdin W, Steinmann K, Albrecht B, Bottani A, Devriendt K, Leipoldt M, et al. Detection of heterozygous *SALL1* deletions by quantitative real time PCR proves the contribution of a *SALL1* dosage effect in the pathogenesis of

- Townes-Brocks syndrome. *Hum Mutat.* 2006 Feb;27(2):211–2.
76. Morisada N, Sekine T, Ishimori S, Tsuda M, Adachi M, Nozu K, et al. 16q12 microdeletion syndrome in two Japanese boys. *Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc.* 2014 Oct;56(5):e75-78.
77. Reuter MS, Chaturvedi RR, Liston E, Manshaei R, Aul RB, Bowdin S, et al. The Cardiac Genome Clinic: implementing genome sequencing in pediatric heart disease. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 2020 Jun;22(6):1015–24.
78. Wopperer FJ, Knaup KX, Stanzick KJ, Schneider K, Jobst-Schwan T, Ekici AB, et al. Diverse molecular causes of unsolved autosomal dominant tubulointerstitial kidney diseases. *Kidney Int.* 2022 Aug;102(2):405–20.
79. Kaiser-Rogers KA, Rao KW, Michaelis RC, Lese CM, Powell CM. Usefulness and limitations of FISH to characterize partially cryptic complex chromosome rearrangements. *Am J Med Genet.* 2000 Nov 6;95(1):28–35.
80. Albrecht B, Liebers M, Kohlhase J. Atypical phenotype and intrafamilial variability associated with a novel SALL1 mutation. *Am J Med Genet A.* 2004 Feb 15;125A(1):102–4.
81. Blanck C, Kohlhase J, Engels S, Burfeind P, Engel W, Bottani A, et al. Three novel SALL1 mutations extend the mutational spectrum in Townes-Brocks syndrome. *J Med Genet.* 2000 Apr;37(4):303–7.
82. Choi WI, Kim JH, Yoo HW, Oh SH. A family with Townes-Brocks syndrome with congenital hypothyroidism and a novel mutation of the SALL1 gene. *Korean J Pediatr.* 2010 Dec;53(12):1018–21.
83. Devriendt K, Fryns JP, Lemmens F, Kohlhase J, Liebers M. Somatic mosaicism and variable expression of Townes-Brocks syndrome. *Am J Med Genet.* 2002 Aug 1;111(2):230–1.
84. Engels S, Kohlhase J, McGaughran J. A SALL1 mutation causes a branchio-oto-renal syndrome-like phenotype. *J Med Genet.* 2000 Jun;37(6):458–60.
85. Fang JX, Zhang JS, Wang MM, Liu L. Novel mutation in the SALL1 gene in a four-generation Chinese family with uraemia: A case report. *World J Clin Cases.* 2022 Jul 16;10(20):7068–75.
86. Furniss D, Kan SH, Taylor IB, Johnson D, Critchley PS, Giele HP, et al. Genetic screening of 202 individuals with congenital limb malformations and requiring reconstructive surgery. *J Med Genet.* 2009 Nov;46(11):730–5.
87. Hwang DY, Dworschak GC, Kohl S, Saisawat P, Vivante A, Hilger AC, et al. Mutations in 12 known dominant disease-causing genes clarify many congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Kidney Int.* 2014 Jun;85(6):1429–33.
88. Johansson M, Karlsson E, Asp F, Berninger E. A Prospective Study of Genetic Variants in Infants with Congenital Unilateral Sensorineural Hearing Loss. *J Clin Med.* 2023 Jan 7;12(2):495.
89. Kosaki R, Fujimaru R, Samejima H, Yamada H, Izumi K, Iijima K, et al. Wide phenotypic variations within a family with SALL1 mutations: Isolated external ear abnormalities to Goldenhar syndrome. *Am J Med Genet A.* 2007 May 15;143A(10):1087–90.
90. Liberalesso PBN, Cordeiro ML, Karuta SCV, Koladicz KRJ, Nitsche A, Zeigelboim BS, et al. Phenotypic and genotypic aspects of Townes-Brock syndrome: case report of patient in southern Brazil with a new SALL1 hotspot region nonsense mutation. *BMC Med Genet.* 2017 Nov 6;18(1):125.
91. Lugli L, Rossi C, Ceccarelli PL, Calabrese O, Bedetti L, Miselli F, et al. Townes-Brocks syndrome with craniosynostosis in two siblings. *Eur J Med Genet.* 2022 Dec;65(12):104642.
92. Monies D, Abouelhoda M, Assoum M, Moghrabi N, Rafiullah R, Almontashiri N, et al. Lessons Learned from Large-Scale, First-Tier Clinical Exome Sequencing in a Highly Consanguineous Population. *Am J Hum Genet.* 2019 Oct 3;105(4):879.
93. Reardon W, Casserly LF, Birkenhäger R, Kohlhase J. Kidney failure in Townes-Brocks syndrome: an under recognized phenomenon? *Am J Med Genet A.* 2007 Nov 1;143A(21):2588–91.
94. Salerno A, Kohlhase J, Kaplan BS. Townes-Brocks syndrome and renal dysplasia: a novel mutation in the SALL1 gene. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2000 Jan;14(1):25–8.

95. Seltzsam S, Wang C, Zheng B, Mann N, Connaughton DM, Wu CHW, et al. Reverse phenotyping facilitates disease allele calling in exome sequencing of patients with CAKUT. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet*. 2022 Feb;24(2):307–18.
96. Sudo Y, Numakura C, Abe A, Aiba S, Matsunaga A, Hayasaka K. Phenotypic variability in a family with Townes-Brocks syndrome. *J Hum Genet*. 2010 Aug;55(8):550–1.
97. Surka WS, Kohlhase J, Neunert CE, Schneider DS, Proud VK. Unique family with Townes-Brocks syndrome, SALL1 mutation, and cardiac defects. *Am J Med Genet*. 2001 Aug 15;102(3):250–7.
98. Tian W, Chen N, Ye Y, Ma C, Qin C, Niu Y, et al. A genotype-first analysis in a cohort of Mullerian anomaly. *J Hum Genet*. 2022 Jun;67(6):347–52.
99. Unzaki A, Morisada N, Nozu K, Ye MJ, Ito S, Matsunaga T, et al. Clinically diverse phenotypes and genotypes of patients with branchio-oto-renal syndrome. *J Hum Genet*. 2018 May;63(5):647–56.
100. van de Putte R, Dworschak GC, Brosens E, Reutter HM, Marcelis CLM, Acuna-Hidalgo R, et al. A Genetics-First Approach Revealed Monogenic Disorders in Patients With ARM and VACTERL Anomalies. *Front Pediatr*. 2020;8:310.
101. Walter KN, Greenhalgh KL, Newbury-Ecob RA, Kohlhase J. Mosaic trisomy 8 and Townes-Brocks syndrome due to a novel SALL1 mutation in the same patient. *Am J Med Genet A*. 2006 Mar 15;140(6):649–51.
102. Weber S, Moriniere V, Knüppel T, Charbit M, Dusek J, Ghiggeri GM, et al. Prevalence of mutations in renal developmental genes in children with renal hypodysplasia: results of the ESCAPE study. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2006 Oct;17(10):2864–70.
103. Wei H, Sun L, Li M, Chen H, Han W, Fu W, et al. [Analysis of SALL1 gene variant in a boy with Townes-Brocks syndrome without anal atresia]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi Zhonghua Yixue Yichuanxue Zazhi Chin J Med Genet*. 2022 Apr 1;39(4):401–4.
104. Wu J, Zhang J, Xiao TL, He T. Townes-Brocks syndrome with adult renal impairment in a Chinese family: A case report. *World J Clin Cases*. 2023 Aug 16;11(23):5567–72.
105. Xiang YB, Xu CY, Xu YZ, Li HZ, Zhou LL, Xu XQ, et al. Next-generation sequencing identifies rare pathogenic and novel candidate variants in a cohort of Chinese patients with syndromic or nonsyndromic hearing loss. *Mol Genet Genomic Med*. 2020 Dec;8(12):e1539.
106. Yang G, Yin Y, Tan Z, Liu J, Deng X, Yang Y. Whole-exome sequencing identified a novel heterozygous mutation of SALL1 and a new homozygous mutation of PTPRQ in a Chinese family with Townes-Brocks syndrome and hearing loss. *BMC Med Genomics*. 2021 Jan 21;14(1):24.
107. Lin FJ, Lu W, Gale D, Yao Y, Zou R, Bian F, et al. Delayed diagnosis of Townes-Brocks syndrome with multicystic kidneys and renal failure caused by a novel SALL1 nonsense mutation: A case report. *Exp Ther Med*. 2016 Apr;11(4):1249–52.
108. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cited 2024 Mar 30]. Syndrome de Townes – Brocks. Available from: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3493442/fr/syndrome-de-townes-brocks](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3493442/fr/syndrome-de-townes-brocks)
109. Ushiki A, Zhang Y, Xiong C, Zhao J, Georgakopoulos-Soares I, Kane L, et al. Deletion of CTCF sites in the SHH locus alters enhancer-promoter interactions and leads to achondroplasia. *Nat Commun*. 2021 Apr 16;12(1):2282.
110. SALL1 protein expression summary - The Human Protein Atlas [Internet]. [cited 2024 May 8]. Available from: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000103449-SALL1>
111. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cited 2024 Mar 6]. Syndrome de Townes – Brocks. Available from: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3493442/fr/syndrome-de-townes-brocks](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3493442/fr/syndrome-de-townes-brocks)



**AUTEURE : Nom : LEDUC**

**Prénom : Fiona**

**Date de soutenance : 11/06/2024**

**Titre de la thèse : Etude clinique et moléculaire du syndrome de Townes-Brocks (*SALL1*) : à propos d'une série de 49 patients et revue de la littérature**

**Thèse - Médecine - Lille 2024**

**Cadre de classement : Génétique**

**DES : Génétique médicale**

**Mots-clés : Syndrome de Townes-Brocks, *SALL1*, corrélations génotype-phénotype**

**Contexte.** Le syndrome de Townes-Brocks (TBS) est une pathologie autosomique dominante liée aux altérations du gène *SALL1*, caractérisée par une triade clinique (malformations anorectales, des pouces et des oreilles externes) associée à d'autres signes variables. L'insuffisance rénale et la surdité peuvent survenir à tout âge rendant le suivi de ces patients indispensable. Des corrélations génotype-phénotype ont été proposées mais les données sont limitées. L'objectif était la description clinique et biologique d'une nouvelle série de patients et la recherche de corrélations génotype-phénotype. **Méthode.** Nous avons inclus 49 nouveaux patients et 207 patients issus de la littérature. Les analyses statistiques comparatives ont été réalisées selon la position du variant identifié, notamment par rapport au site riche en glutamine correspondant au site de dimérisation des protéines Sal. **Résultats.** La triade clinique était retrouvée chez 25% des individus de notre série vs 49,7 % pour ceux issus de la littérature. Une insuffisance rénale était observée chez 39,6 % des patients de notre série vs 29,3 % dans la littérature. La fréquence de la surdité était similaire (65 %). Un trouble du développement intellectuel était rapporté chez 9 % des patients, mais certaines données étaient incomplètes (sévérité, évolution, etc). Sur le plan moléculaire, 35 % des variants de notre série étaient localisés avant le site riche en glutamine vs 6,5 % dans la littérature. Les analyses de corrélation génotype-phénotype ont été réalisées à partir des données de notre série et de la littérature : respectivement 26 et 200 individus étaient porteurs d'un variant avant et après le site riche en glutamine. Une augmentation significative des taux de surdités ( $p=0,037$ ), de malformations des oreilles externes ( $p=0,003$ ) et des pouces ( $p=0,009$ ) et une diminution significative de l'insuffisance rénale ( $p=0,04$ ) étaient observées chez les patients porteurs d'un variant situé après le site riche en glutamine, chez des individus cependant significativement plus jeunes ( $p=0,033$ ). **Conclusion.** Ce travail, comprenant la description de la plus grande série de patients porteurs d'un TBS, a permis d'identifier des corrélations génotypes-phénotypes. Bien qu'ils ne puissent pas être utilisés pour le suivi individuel des patients, ces résultats pourraient orienter de futures études fondamentales pour une meilleure compréhension du rôle de *SALL1* et de son mode d'action.

**Composition du Jury :**

**Présidente :**

**Madame le Professeur Florence PETIT**

**Assesseuses :**

**Madame le Docteur Fabienne ESCANDE**

**Madame le Docteur Philippine TOULEMONDE**

**Directrice de thèse :**

**Madame le Docteur Clémence VANLERBERGHE**