

LE CAS CLINIQUE DU MOIS

DÉCOUVERTE FORTUITE D'ANOMALIES GÉNÉTIQUES MATERNELLES LORS DU TEST PRÉNATAL NON INVASIF

LÉONARD F (1), GUEBEN RENAUD (2), GUEBEN ROBIN (2), GRISART B (3), VAN LINTHOUT C (4)

RÉSUMÉ : Le test prénatal non invasif (TPNI) a été introduit récemment dans notre pratique clinique. La sensibilité et la spécificité de cette méthode pour le dépistage des principales aneuploïdies fœtales est de l'ordre de 99%. À cause de l'existence de faux positifs et de faux négatifs, cette technique reste un test de dépistage, non de diagnostic. Les résultats discordants s'expliquent par la méthode elle-même qui analyse la totalité de l'ADN libre circulant dans le sang maternel : l'ADN fœtal provenant de la lyse des cellules trophoblastiques, mais aussi l'ADN d'origine maternelle. La mosaïque confinée au placenta est la cause principale des faux positifs décrits dans la littérature. Plus rarement, le TPNI peut mettre en évidence des anomalies maternelles. Nous rapportons le cas de deux patientes porteuses d'une anomalie cytogénétique révélée par le TPNI : une microduplication 22q11.2 et une anomalie des chromosomes sexuels

MOTS-CLÉS : *Test prénatal non invasif - ADN libre circulant - Faux positif - Résultat discordant, - Mosaïcisme*

INCIDENTAL FINDINGS OF MATERNAL GENETIC ABNORMALITIES DURING NON-INVASIVE PRENATAL SCREENING

SUMMARY : The non-invasive prenatal test (NIPT) has recently been added in our clinical practice. Sensitivity and specificity of this method in the common fetal aneuploidies screening is about 99%. This technique remains a screening test, not a diagnosis test, because false positive or negative results exist. The discordant results are explained by the method itself which analyses the whole free circulating DNA in the maternal blood: the fetal DNA from trophoblastic cells lysing but also the maternal DNA. Placenta confined mosaic is the main false positive cause reported in the literature. NIPT can rarely reveal maternal abnormalities. We are reporting two cases carrying a cytogenetic anomaly revealed with NIPT: microduplication of 22q11.2 and a sexual chromosomes anomaly.

KEYWORDS : *Non-invasive prenatal testing - Cell-free DNA - False positive result - Discordant result - Mosaicism*

INTRODUCTION

Le dépistage prénatal non invasif des principales aneuploïdies fœtales a connu ces dernières années une véritable révolution suite à la découverte de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel. La présence de ces fragments d'ADN a été décrite pour la première fois en 1997 par Lo et coll (1). L'application en pratique clinique a été rapide (2,3) avec la possibilité pour les patientes enceintes de réaliser ce test prénatal non invasif (TPNI) dès 2011 (4). Actuellement, de nombreuses patientes recourent au TPNI pour détecter la présence d'une trisomie 21, 18 ou 13 chez leur fœtus. Une méta-analyse récente, publiée en 2017 par Gil et coll, montre que ce test réalisé dans les grossesses singleton permet de détecter plus de 99% des trisomies 21, 98% des trisomies 18, et 99% des trisomies 13, avec un taux de faux positif de 0.13 % (5). Les performances de ce test sont largement supérieures à celles des autres techniques de dépistage des aneuploïdies fœtales,

que ce soit l'âge maternel, l'échographie du fœtus, les marqueurs sériques maternels ou le dépistage combiné du premier trimestre (6). Le TPNI reste toutefois une méthode de dépistage et non de diagnostic. En effet, de rares cas de faux positifs et de faux négatifs sont rapportés (7), inhérents à la technique qui analyse la totalité de l'ADN libre circulant dans le sang, d'origine maternelle et fœtale. L'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel est d'origine placentaire (syncytio- et cytotrophoblaste) (8). Le TPNI peut, dès lors, mettre en évidence une anomalie chromosomique limitée au placenta, le caryotype fœtal étant par ailleurs normal. Tout résultat anormal de TPNI doit être confirmé par un caryotype fœtal, qui nécessite un prélèvement invasif (ponction de trophoblaste ou amniocentèse)(5,7). D'autres causes, plus rares, de résultats discordants sont rapportées : la présence d'un jumeau évanescant porteur d'une aneuploïdie, le mosaïcisme fœtal vrai, le cancer maternel, l'anomalie des chromosomes sexuels maternels et, plus rare encore, une anomalie cytogénétique maternelle (9).

Nous décrivons deux cas de résultats faussement positifs d'origine maternelle. Dans le premier cas, le résultat discordant du TPNI s'explique par une microduplication cytogénétique maternelle, dans le second cas par un mosaïcisme des chromosomes sexuels chez la mère. A cette occasion, nous proposons une discussion à propos des pièges d'interprétation des résultats du TPNI.

(1) Médecin spécialiste, Service de Gynécologie-Obstétrique, Clinique Sainte Elisabeth, Heusy, Belgique.

(2) Etudiant en médecine, Université de Liège.

(3) Expert scientifique, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique.

(4) Chef de clinique, Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Liège, Belgique.

CAS N°1

Une patiente de 23 ans, primigeste sans antécédent médico-chirurgical, consulte à 12 semaines d'aménorrhée. L'échographie du premier trimestre, incluant la mesure de clarté nucale, ne montre pas d'anomalie. Le TPNI, réalisé à la demande de la patiente, conclut à l'existence d'un fœtus de sexe masculin sans indice évocateur d'une trisomie 21, 18 ou 13, mais laisse toutefois suspecter la possibilité d'une trisomie 22 (z-score >3 pour le chromosome 22). L'analyse intra chromosomique par le logiciel Wisecondor (10) permet d'identifier une duplication 22q11 d'origine vraisemblablement maternelle. Le couple est reçu en consultation de génétique où une amniocentèse ainsi que la réalisation du caryotype moléculaire chez les futurs parents sont conseillées. L'amniocentèse est réalisée à 15 semaines d'aménorrhée. La recherche rapide d'aneuploïdie par technique de PCR quantitative fluorescente montre un contenu normal diploïde pour les chromosomes 21, 18 et 13. Le diagnostic de sexe fœtal par la même technique est masculin. Le caryotype moléculaire est normal. Un mosaïcisme plus faible est exclu par analyse complémentaire FISH en interphase au moyen d'une sonde spécifique du chromosome 22. Le caryotype moléculaire de la patiente montre une duplication de 3.15Mb dans la région 22q11.21. Cette région est associée au syndrome de micro délétion de Di George et au syndrome de microduplication 22q11.21. La prévalence de la microduplication 22q11.2 est de 1 à 9 ‰ (11). Les manifestations cliniques du syndrome de microduplication 22q11.2 sont extrêmement variables, les personnes porteuses étant souvent asymptomatiques (11). Le risque de récurrence lors d'une prochaine grossesse est de un sur deux, avec possibilité d'un diagnostic prénatal. La patiente accouche à terme d'un garçon de 3310g, 52 cm, dont l'évolution postnatale est normale à ce jour.

L'analyse du caryotype sur biopsie placentaire n'a pas été réalisée.

CAS N°2

Une patiente de 38 ans, primipare deuxième geste, consulte à 12 semaines d'aménorrhée. Ses antécédents médico-chirurgicaux sont sans particularité. D'un point de vue gynécologique, on note une ménarche spontanée à 14 ans et des cycles menstruels de 35 à 42 jours. Le couple présente une infertilité primaire d'origine mixte (dysovulation et astheno-tératospermie) pour laquelle une prise en charge en procréation médicalement assistée n'a pas conduit à

une grossesse. La patiente a ensuite deux grossesses spontanées. Lors de l'échographie du premier trimestre, réalisée à 12 semaines d'aménorrhée, la mesure de la clarté nucale est normale. Le test combiné au premier trimestre montre un risque de trisomie 21 de 1/500. Au vu de ce résultat intermédiaire, un TPNI est proposé à la patiente et laisse suspecter la présence d'une monosomie X ou syndrome de Turner (z-score de -8.908 pour le chromosome Y et z-score de -0.789 pour le chromosome X). Le couple est reçu en consultation de génétique à 17 semaines d'aménorrhée. Une amniocentèse est conseillée, mais refusée par les futurs parents. En effet, ceux-ci n'envisagent pas d'interruption de grossesse en cas de diagnostic confirmé et ne souhaitent donc pas de geste invasif. Les différentes possibilités diagnostiques leur sont expliquées, à savoir la possibilité d'un syndrome de Turner chez le fœtus, d'une mosaïque confinée au placenta ou d'une anomalie chez la mère. Le couple ne souhaite pas d'investigation supplémentaire. La patiente accouche à terme d'une fille de 3250g, 49.5 cm. Le caryotype réalisé après la naissance chez l'enfant est normal, 46XX. Le caryotype standard de la patiente est réalisé quelques semaines après l'accouchement. Le résultat montre un syndrome de Turner dans une forme mosaïque: une lignée majoritaire 46XX (76% des mitoses) et une lignée minoritaire 45XO (24% des mitoses). L'analyse du caryotype sur le placenta n'a pas été réalisée.

DISCUSSION

De nombreuses études s'intéressant à la sensibilité et à la spécificité du TPNI ont été publiées et montrent que le TPNI est actuellement le meilleur test de dépistage pour la détection des trisomies 21, 18 et 13 (5). Ce test reste, toutefois, un test de dépistage et ne peut remplacer le diagnostic prénatal invasif (7,9,12). En effet, avec l'utilisation de plus en plus fréquente de ce test, des cas de faux positifs et de faux négatifs sont apparus. Les études rapportant les cas de TPNI discordants sont peu nombreuses comparées aux études s'intéressant à la performance du TPNI. Une revue récente, publiée en 2017 par Hartwig et al, a identifié 22 études comportant, au total, 206 cas de discordance, les discordances au niveau des chromosomes sexuels ayant été exclues de l'étude (9). Parmi les 206 cas discordants, on retrouve 88% de faux positifs et 12 % de faux négatifs. Dans 67, % de ces cas discordants, aucune explication biologique ou technique n'a été retrouvée. Dans

les 33 % de cas restants, les causes principales de discordance sont les mosaïques confinées au placenta (32 %), les «variations du nombre de copies maternelles» (copy number variation ou CNV) (48 %) et la présence d'une néoplasie maternelle (15 %). Plus rarement, la présence d'un jumeau évanescent porteur d'une aneuploïdie (2%), d'un mosaïcisme maternel (2 %) ou d'une duplication maternelle et fœtale (2 %) est rapportée.

Les discordances fœto-placentaires s'expliquent par la nature même du test qui repose sur l'étude de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel provenant essentiellement de l'apoptose des cellules trophoblastiques (8). En cas de mosaïque confinée au placenta, le TPNI revient faussement positif (13). Ces mosaïques concernent 1 à 2 % des placentas au premier trimestre et sont à l'origine de la majorité des discordances entre le résultat du TPNI et le caryotype fœtal. C'est pourquoi, avant d'envisager une interruption de grossesse, tout TPNI positif doit être confirmé par la réalisation d'un génotype fœtal nécessitant une procédure invasive (prélèvement de villosités choriales ou ponction de liquide amniotique plus représentative du fœtus).

Les faux positifs peuvent être également le reflet d'une anomalie maternelle. L'ADN libre circulant dans le sang maternel est une combinaison de fragments d'ADN maternel et fœtal dans laquelle la fraction fœtale (rapport entre le nombre de fragments d'ADN d'origine fœtale par rapport au nombre total de fragments d'ADN séquencés, d'origine fœtale et maternelle) est de l'ordre de 10 % à 12 semaines d'aménorrhée. La présence de CNV maternels dans la population générale est connue et peut entraîner des résultats de TPNI faussement positifs, en augmentant le z-score (14). Cet impact dépend de la technique utilisée. Il est important d'éliminer les CNV non pathogènes pour réduire le nombre de faux positifs et ne conserver que les duplications ou les délétions significatives (15).

Une anomalie cytogénétique maternelle peut également générer un résultat faussement positif. Un faible mosaïcisme maternel peut entraîner des variations dans la fraction maternelle de l'ADN libre circulant, ce qui impacte le résultat du TPNI. Ceci est également démontré en cas d'anomalie des chromosomes sexuels maternels. Wang et al décrivent, en 2015, un cas similaire au nôtre, où une faible concentration en chromosome X est détectée et s'explique par un mosaïcisme maternel 45X0-46XX (16). En cas de tumeur maternelle, une augmentation des fragments d'ADN d'origine maternelle est observée. Les cellules tumorales apoptotiques

libèrent des fragments d'ADN dans le sang et donnent un résultat de TPNI faussement positif pour de multiples chromosomes (17).

Bien que plus rares, des cas de faux négatifs ont été rapportés. La cause principale est le mosaïcisme fœtal vrai, le trophoblaste étant normal et donnant un TPNI normal. On retrouve, parmi les faux négatifs, quelques cas de discordance entre l'anomalie chromosomique annoncée par le TPNI et celle retrouvée chez le fœtus (12). Enfin, une fraction fœtale trop faible (inférieure à 4 %) peut également expliquer certains faux négatifs. Elle dépend de nombreux facteurs tels que l'âge gestationnel, le poids maternel, la masse placentaire (5).

L'utilisation du TPNI dans la population générale, à bas risque, est toujours en cours d'évaluation. Si la sensibilité et la spécificité restent bonnes, la valeur prédictive positive est de l'ordre de 45 % (6). La méta-analyse de Taylor-Philips et al, en 2016, montre que sur 100 000 grossesses à bas risque, on peut s'attendre à trouver, respectivement, 417, 89 et 40 cas réels de trisomie 21, 18 et 13 pour, respectivement, 94, 154 et 42 faux positifs (7). Il est donc indispensable, en cas d'anomalie dépistée par le TPNI, de réaliser un caryotype fœtal et un caryotype maternel avant toute décision sur l'issue de la grossesse.

Dans les deux cas que nous rapportons, la découverte fortuite de l'anomalie maternelle n'a pas eu de répercussion pour la grossesse en cours, mais permet une prise en charge préventive. En effet, dans le cas de la microduplication 22q11.2.1, un diagnostic prénatal pour une grossesse future est possible ainsi qu'une enquête familiale. Dans le second cas, le TPNI met en évidence un syndrome de Turner en mosaïque chez la patiente. Grâce à ce diagnostic, nous pouvons lui expliquer son histoire clinique d'hypofertilité, assurer un suivi médical approprié, proposer un dépistage et un conseil génétique lors d'une grossesse ultérieure.

CONCLUSIONS

L'ADN libre circulant dans le sang maternel provient de sources différentes. Le TPNI n'est pas seulement le reflet du caryotype fœtal, mais peut, potentiellement, être le reflet d'anomalies confinées au placenta, d'anomalies tumorales et, plus rarement, comme dans les deux cas rapportés, d'anomalies génétiques maternelles méconnues. Il est essentiel que les praticiens et les patientes soient correctement informés du risque de faux positifs et de faux négatifs. Un

TPNI positif doit être confirmé, par un caryotype fœtal et un caryotype maternel, pour poser un diagnostic de certitude. Les cas de discordance doivent également être recensés correctement afin de valider et affiner cette nouvelle technique dans les années futures.

REMERCIEMENTS

Merci à Jean Darimont, pharmacien-biologiste à la clinique Saint Vincent de Rocourt pour son aide dans l'interprétation et la gestion des résultats discordants.

BIBLIOGRAPHIE

- Lo YMD, Tein MSC, Lau TK, et al.— Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum : implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am J Hum Genet*, 1998, 62, 768-775.
- Chiu RWK, Chan KCA, Gao Y, et al.— Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105, 20458-20463.
- Chitkara U, Hudgins L, Fan HC, et al.— Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105, 16266-16271.
- Nicolaides KH, Syngelaki A, Ashoor G, et al.. Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol*, 2012, 207, 374.e1-6.
- Gil MM, Accurti V, Santacruz B, et al.. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2017, 50 ,302-314.
- Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, et al. DNA Sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med*, 2014, 370, 799-808.
- Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 2016, 6, e010002.
- Alberry M, Maddocks D, Jones M, et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn*, 2007, 27, 415-418.
- Hartwig TS, Ambye L, Sørensen S, et al. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT) – a systematic review. *Prenat Diagn*, 2017, 37, 527-539.
- Straver R, Sistermans EA, Holstege H, et al. WISE-CONDOR: Detection of fetal aberrations from shallow sequencing maternal plasma based on a within-sample comparison scheme. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42, e31.
- Ou Z, Berg JS, Yonath H, et al. Microduplications of 22q11.2 are frequently inherited and are associated with variable phenotypes. *Genet Med*, 2008, 10, 267-277.
- Pan Q, Sun B, Huang X, et al. A prenatal case with discrepant findings between non-invasive prenatal testing and fetal genetic testings. *Mol Cytogenet*, 2014, 7 ,48-52.
- Mardy A, Wapner RJ. Confined placental mosaicism and its impact on confirmation of NIPT results. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet*, 2016, 172, 118-122.
- Snyder MW, Simmons LE, Kitzman JO, et al. Copy-number variation and false positive prenatal aneuploidy screening results. *N Engl J Med*, 2015, 372, 1639-1645.
- Zhang H, Zhao Y-Y, Song J, et al. Statistical approach to decreasing the error rate of noninvasive prenatal aneuploid detection caused by maternal copy number variation. *Sci Rep*, 2015, 5, 16106-16120.
- Wang Y, Chen Y, Tian F, et al. Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing. *Clin Chem*, 2014, 60, 251-259.
- Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ, et al. Noninvasive prenatal testing and incidental detection of occult maternal malignancies. *JAMA*, 2015, 314, 162-169.

Les demandes de tirés à part doivent être adressées au Dr Léonard F, Boulevard des Anglais 10, 4900 Spa, Belgique.
Email : f-leonard@skynet .be