

Diagnostic prénatal des maladies génétiques

Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale

C. Coutton, V. Satre, F. Amblard et F. Devillard

Date de création du document 2010-2011

Table des matières

I Le DPN chromosomique.....	3
I.1 Indications du caryotype fœtal.....	3
I.2 Types de prélèvements.....	4
I.3 FISH	5
II Le DPN moléculaire.....	5
II.1 ADN fœtal circulant.....	6
II.2 Autres techniques complémentaires	6
III Diagnostic préimplantatoire (DPI).....	6

Ce chapitre traitera du diagnostic prénatal (DPN) chromosomique et moléculaire. Il n'abordera pas les autres possibilités de DPN : échographiques, biochimiques,...

Le but du DPN est de diagnostiquer des affections à haut risque d'être gravement invalidantes et incurables (article L. 2131-1 du Code de Santé Publique) et éventuellement dans la cadre de la loi de permettre au couple de demander une interruption médicale de grossesse (Loi n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique).

Dans les situations de DPN, souvent difficiles, le rôle du médecin est d'accompagner le couple tout au long de la démarche. L'information, délivrée au cours d'une consultation de conseil génétique, doit être la plus complète possible. A l'issue de celle-ci la patiente signe un consentement pour la réalisation du DPN chromosomique ou moléculaire. Le médecin prescripteur signe une attestation de consultation de conseil génétique. Le résultat de l'analyse sera rendu à ce médecin prescripteur, qui devra le transmettre à la patiente. Dans tous les cas, une prise en charge psychologique doit pouvoir être proposée.

Le DPN est encadré par plusieurs textes législatifs qui sont accessibles sur le site de l'Agence de Biomédecine (<http://www.agence-biomedecine.fr>).

Pour plus de clarté, nous aborderons en deux chapitres différents le DPN chromosomique et le DPN génique (moléculaire).

I LE DPN CHROMOSOMIQUE

Il consiste en la réalisation d'un caryotype à partir d'un prélèvement foetal. Il peut être couplé à des techniques d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH).

Le caryotype permet une étude morphologique globale du matériel héréditaire (anomalies du nombre et de la structure des chromosomes). La FISH, grâce à l'utilisation de sondes fluorescentes (fragments d'ADN marqués dirigés contre des régions spécifiques : centromères, télomères, locus spécifiques de syndrome, peinture chromosomique), permet une étude ciblée de certaines régions chromosomiques. Cette technique peut être appliquée sur des noyaux interphasiques ou des chromosomes en métaphases (après étape de culture).

I.1 INDICATIONS DU CARYOTYPE FŒTAL

Les anomalies chromosomiques surviennent le plus souvent accidentellement. Le DPN chromosomique est donc essentiellement réalisé chez des couples sans antécédents particuliers mais pour lesquels les moyens de dépistage (échographies, marqueurs sériques maternels) ont défini un risque particulier d'anomalies chromosomiques. En France, le dépistage concerne surtout la trisomie 21, principale aneuploïdie. En 2009, l'Agence de Biomédecine a enregistré la réalisation de 77 272 caryotypes. Ceci a permis l'identification de 3849 anomalies déséquilibrées et la réalisation de 2959 IMG.

Les indications reconnues et prises en charge par la sécurité sociale sont :

- Grossesse à risque de trisomie 21 foétale égal ou supérieur à 1/250. Celui-ci est évalué à partir de la combinaison entre l'âge maternel, les marqueurs sériques maternels du premier ou deuxième trimestre et l'épaisseur de la nuque mesurée au premier trimestre.
- Depuis l'arrêté du 23 juin 2009, l'âge maternel seul supérieur ou égal à 38 ans n'est plus une indication systématique. Il reste une indication exceptionnelle dans les situations où la patiente n'a pas pu bénéficier des autres moyens de dépistage.
- Signes d'appel échographiques. Le décret n°97-578 du 28 mai 1997 définit la mission et la composition des équipes des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDPN). Tout signe d'appel échographique doit être discuté au sein d'un CPDPN afin de définir s'il justifie la réalisation d'un caryotype.
- Antécédent pour le couple, de grossesse(s) avec caryotype anormal. Lorsque le caryotype des deux parents est normal, le risque de récurrence est de l'ordre de celui de la population générale. La réalisation du caryotype permet néanmoins de rassurer ce couple ayant déjà vécu une situation difficile.

- Les anomalies chromosomiques parentales. La présence chez un des parents d'un remaniement chromosomique justifiera dans tous les cas qu'un DPN soit proposé. Les modalités de celui-ci seront discutées avec la patiente en fonction des risques liés au remaniement et au prélèvement.
- Diagnostic de sexe pour les maladies liées à l'X. Malgré la persistance de cette indication, la réalisation d'un caryotype foetal devient de moins en moins fréquente car supplantée par la recherche d'ADN foetal dans le sang maternel. Cette technique de biologie moléculaire recherche la présence de séquences du gène SRY dans le sang maternel. Leur présence est le reflet d'un sexe foetal masculin et entraîne la réalisation d'un DPN invasif génique. Leur absence témoigne d'un sexe féminin et les investigations génétiques ne sont pas poursuivies.

Pour chaque indication le type de prélèvement dépend du risque chromosomique, du terme de la grossesse et du risque lié au prélèvement.

I.2 TYPES DE PRÉLÈVEMENTS

- **Prélèvement de trophoblaste ou de villosités choriales ou trophocentèse**

Le prélèvement de trophoblaste est réalisé le plus souvent entre 11 et 13 semaines d'aménorrhée (SA), ce qui permet d'avoir un résultat précoce au cours de la grossesse. Il comporte un risque de fausses couches de 1 à 2 % (voie abdominale).

Un premier caryotype, dont le résultat est obtenu en 24 à 48 h, est réalisé à partir des mitoses spontanées du syncytiotrophoblaste. Il est complété par la réalisation d'un caryotype après culture des cellules de l'axe mésenchymateux. Le résultat final du caryotype est une synthèse de ces deux examens. Certains laboratoires réalisent à la place de l'examen direct une recherche des principales aneuploïdies (trisomies 13, 18 et 21) par FISH interphasique ou autre technique de quantification comme la QF-PCR.

Il existe de rares cas de discordance entre les résultats de l'examen direct et de la culture. Il est alors nécessaire de confirmer l'analyse chromosomique à partir d'un prélèvement de liquide amniotique.

- **Prélèvement de liquide amniotique ou amniocentèse**

Le prélèvement de liquide amniotique est le plus fréquemment employé. Il est réalisé à partir de 15 - 16 SA et est possible jusqu'au terme. Le risque de fausses couches est de 0,5 à 1 %.

La réalisation du caryotype nécessite une étape de culture cellulaire. Dans les situations à haut risque d'aneuploïdies (signes d'appel échographique), la FISH interphasique pour les chromosomes 13, 18, 21, X et Y permet un premier résultat rapide.

- **Prélèvement de sang fœtal ou cordocentèse**

Il est réalisé à partir de 22 SA, comporte un risque de fausse couche de 2 à 3 % ainsi qu'un risque important de morbidité. Pour ces raisons il est de moins en moins employé en dehors de situations exceptionnelles pour confirmer une anomalie rare découverte sur le liquide amniotique ou en cas de situation à très haut risque découverte tardivement.

I.3 FISH

Dans le cadre du diagnostic prénatal, elle est utilisée pour le diagnostic des aneuploïdies, des syndromes microdélétionnels (par exemple : cardiopathie cono-troncale et délétion 22q11.2) ou pour la caractérisation d'anomalies de structure des chromosomes.

La FISH interphasique permet essentiellement d'identifier les principales aneuploïdies (trisomies 13, 18 et 21) sur noyaux interphasiques en s'affranchissant de l'étape de culture cellulaire.

La FISH métaphasique identifie sur des chromosomes en métaphase, les principaux syndromes microdélétionnels et caractérise des anomalies de structure (marqueurs, translocations, chromosomes dérivés,...).

II LE DPN MOLÉCULAIRE

Le but du DPN moléculaire est l'identification des anomalies géniques par des techniques de biologie moléculaire. Le plus souvent il consiste à rechercher chez le fœtus la présence d'une ou de deux mutations préalablement identifiées, chez les parents ou un autre cas index. Le diagnostic est alors direct. De façon plus rare, on réalisera un diagnostic indirect à partir d'une étude familiale de ségrégation si la mutation n'est pas identifiée mais la localisation génique connue.

En l'absence d'antécédent familial, les situations où les signes échographiques orienteront vers un DPN moléculaire sont rares. En 2009, l'Agence de Biomédecine a enregistré la réalisation de 2728 tests de génétique moléculaire pour 213 pathologies différentes. Ceci a permis l'identification de 534 cas de fœtus atteints de maladie génétique et la réalisation de 385 IMG.

Les modes de prélèvements fœtaux sont les mêmes que pour le DPN chromosomique. Le choix du type de prélèvement dépend du risque génétique, du terme de la grossesse et du risque lié au prélèvement. Cependant le risque d'atteinte fœtale étant le plus souvent de 25 ou 50 %, le prélèvement de villosités choriales est privilégié en raison de sa précocité. De plus, ce tissu permet généralement l'extraction directe d'une quantité suffisante d'ADN pour la recherche de la ou des mutations voire pour une étude familiale indirecte.

Les études de biologie moléculaire peuvent également être réalisées à partir de l'ADN extrait des cellules amniotiques (analyse directe ou après culture) ou des cellules sanguines fœtales. Dans tous les cas, il est indispensable d'éliminer une contamination du prélèvement fœtal par de l'ADN maternel.

II.1 ADN FŒTAL CIRCULANT

Une étude de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel peut être proposée dans de rares situations comme le diagnostic de sexe dans les maladies liées à l'X et l'hyperplasie congénitale des surrénales. Cette technique permet également la caractérisation du Rhésus sanguin fœtal.

Elle permet de mieux cibler les indications du DPN invasif et/ou de proposer une prise en charge adaptée au cours de la grossesse (hyperplasie congénitale des surrénales et incompatibilité Rhésus).

II.2 AUTRES TECHNIQUES COMPLÉMENTAIRES

Il s'agit de techniques d'études quantitatives du génome qui permettent l'identification de pertes ou de gains de matériel héréditaire soit de façon ciblée (techniques de PCR quantitative) soit pangénomique (analyse chromosomique sur puce à ADN). Les niveaux de résolution de ces techniques sont intermédiaires entre le caryotype et les techniques classiques de biologie moléculaire.

Elles ne sont mises en œuvre actuellement que devant certains signes d'appel échographique ou pour l'identification d'anomalies de structures chromosomiques déséquilibrées. Comme pour toute technique réalisée à partir de l'extraction d'ADN, elles nécessitent la vérification de l'absence de contamination maternelle.

III DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE (DPI)

Le DPI est une alternative au DPN qui évite le recours à l'IMG et est proposé en France depuis 1999. Cette technique complexe nécessite la réalisation d'une fécondation in vitro avec ICSI (injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde). Au 3ème jour après fécondation, lorsque les embryons sont au stade de 8 cellules, une biopsie embryonnaire permet de prélever une à deux cellules afin de réaliser un diagnostic chromosomique (FISH) ou moléculaire. La difficulté réside dans la très faible quantité de matériel génétique et le risque de contamination par de l'ADN exogène (maternel ou autre) pour le versant moléculaire. Seuls des embryons sains sont transférés dans l'utérus maternel.

Les indications du DPI recouvrent celles du DPN et doivent être discutées au sein d'un CPDPN.

Néanmoins les contraintes supplémentaires liées à la technique doivent être prises en compte. D'une part, il est nécessaire que la femme dispose d'une réserve ovarienne suffisante et d'une bonne qualité ovocytaire. D'autre part, le nombre de pathologies pour lesquelles un DPI est réellement disponible est limitée (liste consultable sur le site de l'Agence de Biomédecine).

Actuellement cette technique est réalisée uniquement dans quelques centres français et les délais de prise en charge sont longs. En 2009, 276 couples ont bénéficié d'un DPI : 142 en génétique moléculaire (30 naissances) et 134 en cytogénétique (25 naissances). Globalement cette technique permet d'obtenir par ponction ovocytaire, un taux d'accouchement de 16 à 20 %.