

Les autres indications du DPNI

Anne Sophie Weingertner

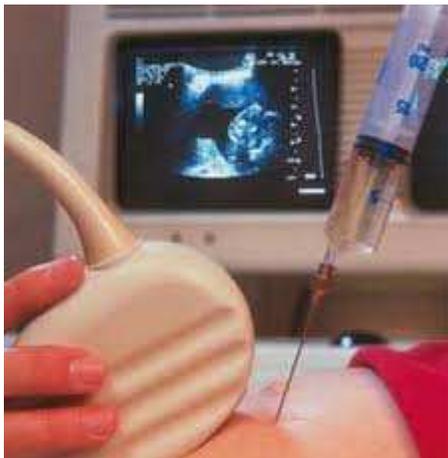
Journée Annuelle du CPDPN d'Alsace

05/10/2018

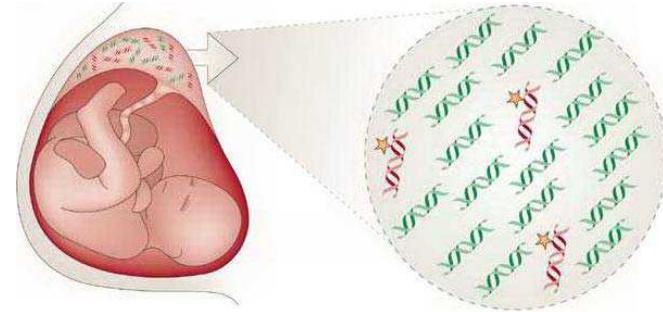
Section du Grand Est des CPDPN



- Développer une méthode permettant un dépistage (diagnostic) précoce, fiable et non invasif
 - Diminuer le risque iatrogène



Applications



- ADN foetal libre circulant dans le sang maternel
- Dosage chromosomique relatif
 - Trisomies 21,13,18
 - CNVs: microdélétions et microduplications pathogènes?
 - Gonosomes?
- Séquences absentes du génome maternel
 - Génotypage Rhésus D ou Kell, système plaquettaire
 - Sexe foetal
- Séquences différentes du génome maternel
 - Maladies monogéniques
- Intérêt dans les pathologies récessives ?

Dosage chromosomique relatif

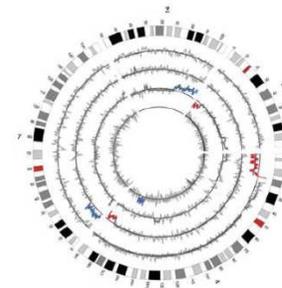
Variations du nombre de copies (CNVs)

- Fréquence des micro remaniements chromosomiques
 - À caryotype normal:
 - Shaffer 2012: 5,3 % CNVs (0,3 à 6,6 %)
 - Wapner 2013: 2,5 % CNVs (1,6 à 6 %)
 - Jansen 2015: anomalie cardiaque, exclusion T21 et Del22, 7 %CNV (3,4 à 9,3% selon anomalie isolée ou associée)
- Techniques non invasives possibles: *Srinivasan 2013, Jensen 2012, Zao 2015...*
 - Jusqu'à microdéletion de 300kb
 - En l'absence de mosaïque
- Dépistage?? Critères de choix
 - Fréquence
 - Pénétrance
 - Expressivité
 - Homogénéité génétique

Am J Hum Genet. 2013 Feb 7;92(2):167-76. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.12.006. Epub 2013 Jan 10.

Noninvasive detection of fetal subchromosome abnormalities via deep sequencing of maternal plasma.

Srinivasan A¹, Bianchi DW, Huang H, Sehner AJ, Rava RP.



Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies.

Grati FR¹, Molina Gomes D², Ferreira JC³, Dupont C⁴, Alesi V⁵, Gouas L⁶, Horelli-Kuitunen N⁷, Choy KW⁸, García-Herrero S⁹, de la Vega AG¹⁰, Piotrowski K¹¹, Genesio R¹², Queipo G¹³, Malvestiti B¹, Hervé B^{2,14}, Benzacken B⁴, Novelli A⁵, Vago P⁶, Pijppo K⁷, Leung TY⁸, Maggi E¹, Quibel T², Tabet AC⁴, Simoni G¹, Vialard F^{2,14}.

- Etude multicentrique rétrospective
 - Fréquence en prénatal pour les grossesses sans signe d'appel?
- 9 Syndromes microdélétionnels les plus fréquents en post natal

Di Georges	Del 22q11/Dup 22q11
Williams	Del 7q11.23
Angelman	Del 15q11q13 (60-75%). Empreinte
Prader Willi	Ano 15q11q13. Empreinte
Cri du chat	Del 5pter
Wolf-Hirschorn	Del 4pter
Smith-Magenis	Del 17p11.2 (90 %)
Monosomie 1	Del 1p36
Monosomie 2q37	Del 2q37

- Taux de détection global:
 - **0,7% avec 71,2 % de Del22**
- Population à « bas risque »: 0,3 %
- Population « à risque »: 1,4 %
- Aucune anomalie pour 5 régions

Pour Di-Georges

- Pénétrance de 100 % pour la délétion
 - Mais que de 91 % pour la duplication
 - Souvent héritée de parents sains
- Expressivité variable: pronostic sans signe écho??
 - 65 % héritée de parents sains pour Dup
 - 13 % héritée de parents sains pour Del
- Homogénéité génétique
 - 85 à 90 % Del 3 Mb
 - Mais varie de 0,7 à 3Mb
 - Délétions atypiques...
 - Mutations ponctuelles

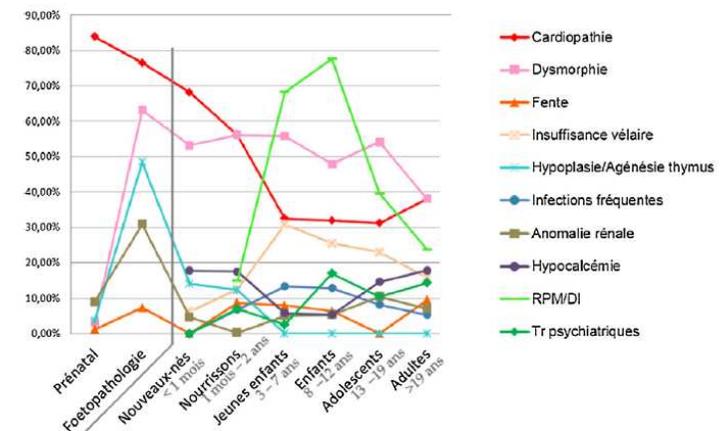


Fig. 2. Signes cliniques des syndromes de Di-George en fonction de l'âge de diagnostic. D'après [16].

Clinical experience with single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal screening for 22q11.2 deletion syndrome

[S. J. Gross](#),¹ [M. Stosic](#),¹ [D. M. McDonald-McGinn](#),² [A. S. Bassett](#),³ [A. Norvez](#),¹ [R. Dhamankar](#),¹ [K. Kobara](#),¹ [E. Kirkizlar](#),¹ [B. Zimmermann](#),¹ [N. Wayham](#),¹ [J. E. Babiarz](#),¹ [A. Ryan](#),¹ [K. N. Jinnett](#),¹ [Z. Demko](#),¹ and [P. Benn](#)^{✉ 4}

- > 20 000 patientes
- 7,5 % de non rendus
- 95 patientes à haut risque 0,45 %
- Prélèvement invasif chez 61 patientes (64,2 %)
 - 11 VP (VPP 18 %)
 - Ano echo 82 %
 - 50 FP (82 %)
 - Ano echo 18 %
- Au final taux de FP de 94 % dans la population sans signe d'appel

Dosage chromosomique relatif

Variations du nombre de copies (CNVs)

- Fréquence faible, Pénétrance et expressivité variable, Homogénéité génétique souvent absente
- Valeurs diagnostiques du test à évaluer en population générale
- Anomalies d'empreinte (Prader Willi et Angelman)
- Recommandations de ACLF 2015:
 - **DPNI dans le cadre du dépistage des syndromes microdélétionnels et des anomalies chromosomiques de structure déséquilibrées non recommandé**
 - **Si leur recherche est possible [Zhao et al 2015, Rose et al 2015, Helgeson et al 2015, Gross et al 2015], il n'existe pas pour le moment de preuves scientifiques suffisantes dans la littérature, en particulier en ce qui concerne la spécificité, la sensibilité et la VPP pour envisager l'utilisation de l'analyse de l'ADN fœtal circulant dans cette application**

Non-invasive prenatal testing in detecting sex chromosome aneuploidy: A large-scale study in Xuzhou area of China

Feng Suo ^a, Chuangxia Wang ^a, Tianya Liu ^b, Yuan Fang ^a, Qin Wu ^c, Maosheng Gu ^a ¹ , Lingshan Gou ^a ¹ 

- 8384 grossesses testées
- NIPT positifs vérifiés par test invasif
- 64 anomalies des gonosomes détectées par NIPT
 - 34 faux positifs
 - 12 monosomies X à NIPT
 - 9 cases of monosomy X, 1 cas de mosaïque 45X/47XXX, et 2 cas de mosaïque 45X/45XY
 - 47,XXX dans 9 cas NIPT
 - 5 cas de 47,XXX
 - 10 Klinefelter sd (47,XXY)
 - 6 cas de Klinefelter
 - 47,XYY dans 9 cas NIPT
 - 6 cas de 47,XYY et 1 cas de mosaïque 46,XY/47,XYY

Dépistage des dysgonosomies:

Recommandations de ACLF 2015

- Le dépistage des anomalies de nombre de chromosomes sexuels ne paraît pas devoir entrer dans le champ du DPNI pour des raisons techniques et éthiques
- Fréquence estimée à 1/2000 pour la monosomie X, et 1/1000 pour le syndrome de Klinefelter (47,XXY), le double chromosome Y (47,XYY) et la triple chromosome X (47,XXX).
- A ce jour, aucune étude n'a démontré l'intérêt du DPNI pour identifier les aneuploïdies des gonosomes. Même pour la monosomie X, trop peu de cas ont été analysés pour permettre de calculer correctement les paramètres de sensibilité, spécificité, VPP et VPN
- Ce sont précisément ces anomalies qui sont le plus sujettes à faux positifs ou négatifs [Wang et al 2015].

Sexe foetal

- Détection de séquences spécifiques du chromosome Y normalement absentes du génome maternel
 - Gène SRY ou DYS14
 - Sensibilité et spécificité proches de 100 % quand combinaison des marqueurs
SRY seul: 84 et 92 %
DYS14 seul: 94 et 71 %
Jacob 2015 Genet Test Mol Biomarkers
 - VPP et VPN également proches de 100% (99,6 et 98,8%).*NIPH 2016*
 - Après 10SA

©American College of Medical Genetics

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE | Genetics in Medicine

Noninvasive fetal sex determination in maternal plasma: a prospective feasibility study

F. Javier Fernández-Martínez, MSc¹, Alberto Galindo, MD, PhD², Antonio García-Burguillo, MD, PhD², Carmela Vargas-Gallego, BSc³, Nuria Nogués, PhD⁴, Marta Moreno-García, MD, PhD¹ and Ana Moreno-Izquierdo, BSc¹

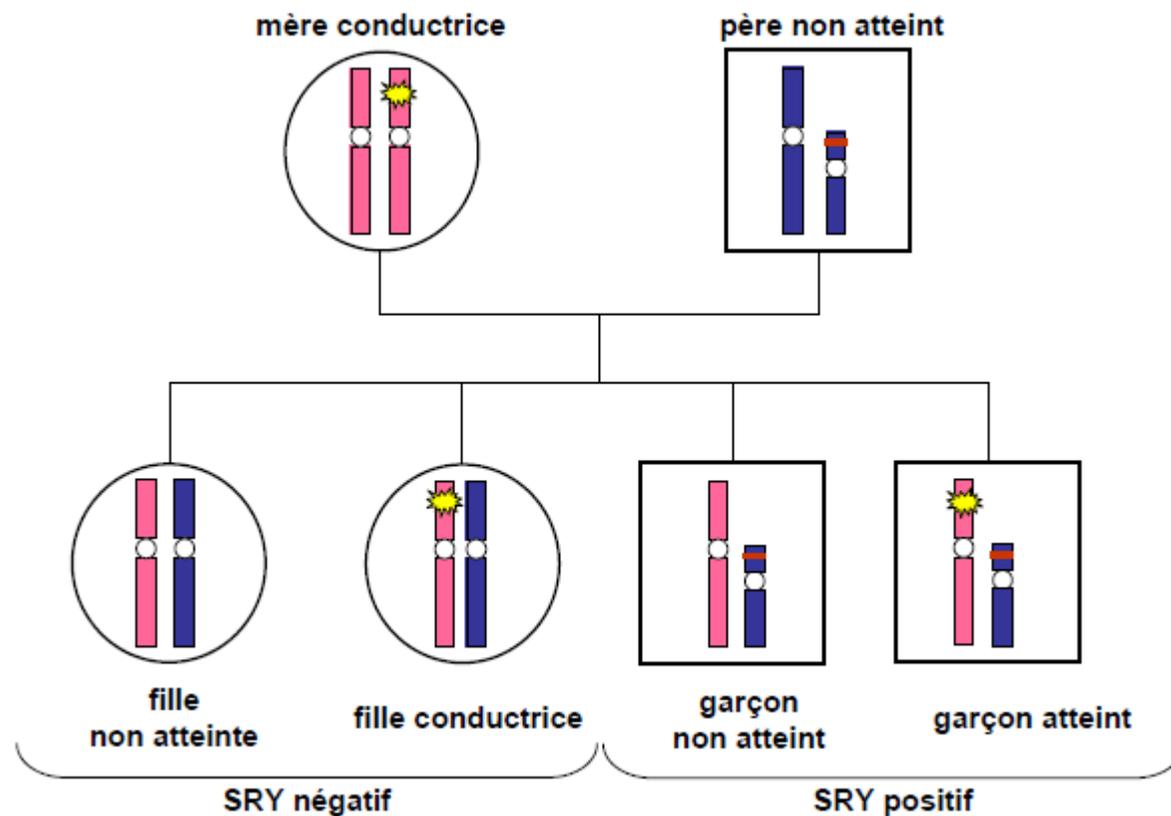
Table 2 Statistical parameters of the study

	Fetal sex by noninvasive prenatal diagnosis
Samples analyzed	404
Female fetuses	183
Male fetuses	221
False positives	1
False negatives	0
Sensitivity (%)	100 (95% CI 99.8–100%)
Specificity (%)	99.5 (95% CI 98.1–100%)
Positive predicted value	99.5 (95% CI 98.4–100%)
Negative predicted value	100 (95% CI 99.7–100%)

CI, confidence interval.

Sexe foetal

- Maladies récessives liées à l’X



Prélèvement invasif uniquement si foetus masculin

Sexe foetal



- Hyperplasie congénitale des surrénales
- Maladie autosomique récessive
 - Déficit en 21-hydroxylase
 - Production excessive d'androgènes
 - Virilisation OGE féminins
- Recommandations:
 - Traitement par DEX dès le diagnostic grossesse
 - Sexe foetal sur sang maternel
 - Arrêt traitement si garçon

Sexe foetal



- Indications
- Etablies (HAS 2009)
 - Maladies récessives liées à l’X
 - Duchenne, Hémophilie A ...
 - Hyperplasie congénitale des surrénales
- Discutées
 - Anomalies des OGE (*Finning et al. 2008, littérature insuffisante*)
 - X-fragile (*Wald et al. 2003*)
 - Confirmation sexe après DPI (**1% erreur**) (*Tachdjian et al. 2002*)

Maladies monogéniques

- Mutations de novo
 - Ex: achondroplasie et mutation G380R gène $FGFR_3$

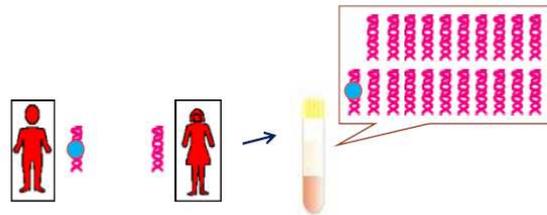
[Non-invasive prenatal detection of achondroplasia in size-fractionated cell-free DNA by MALDI-TOF MS assay.](#)
Li Y, Page-Christiaens GC, Gille JJ, Holzgreve W, Hahn S.
Prenat Diagn. 2007 Jan;27(1):11-7.

[Prenatal DNA diagnosis of a single-gene disorder from maternal plasma.](#)
Saito H, Sekizawa A, Morimoto T, Suzuki M, Yanaiharu T.
Lancet. 2000 Sep 30;356(9236):1170.



Maladies monogéniques

- Mutations paternelles
 - Maladies autosomiques dominantes paternelles



- Maladie de Huntington

- Génotypage plaquettaire (HPA1)
- Génotypage Kell (K1)

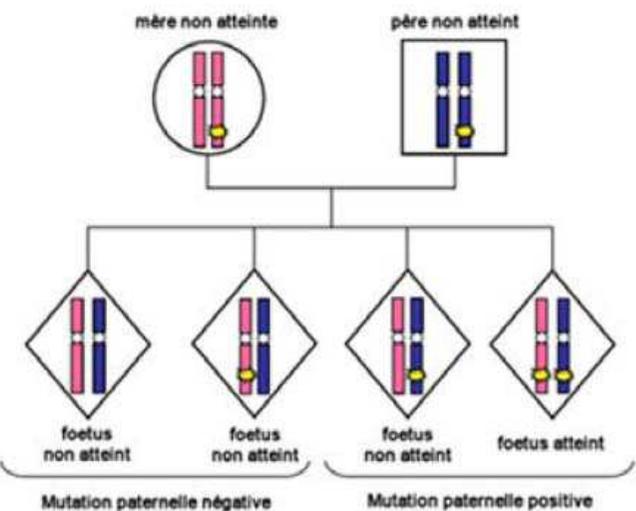
- Test de paternité

Huntington disease—unaffected fetus diagnosed from maternal plasma using QF-PCR

M. C. González-González^{1,9}, M. J. Trujillo¹, M. Rodríguez de Alba¹, M. García-Hoyos¹, I. Lorda-Sánchez¹, J. Díaz-Recasens², C. Ayuso¹ and C. Ramos¹

Maladies monogéniques

- Maladies autosomiques récessives
 - Diagnostic d'exclusion: confirmation de l'absence d'allèle paternel muté
 - Condition: mutation différente de celle de la mère
- Ex d'Applications
 - Mucoviscidose
 - α et β thalassémies
 - Acidémie propionique
 - Hyperplasie congénitale des surrénaux
 - Amaurose congénitale de Leber



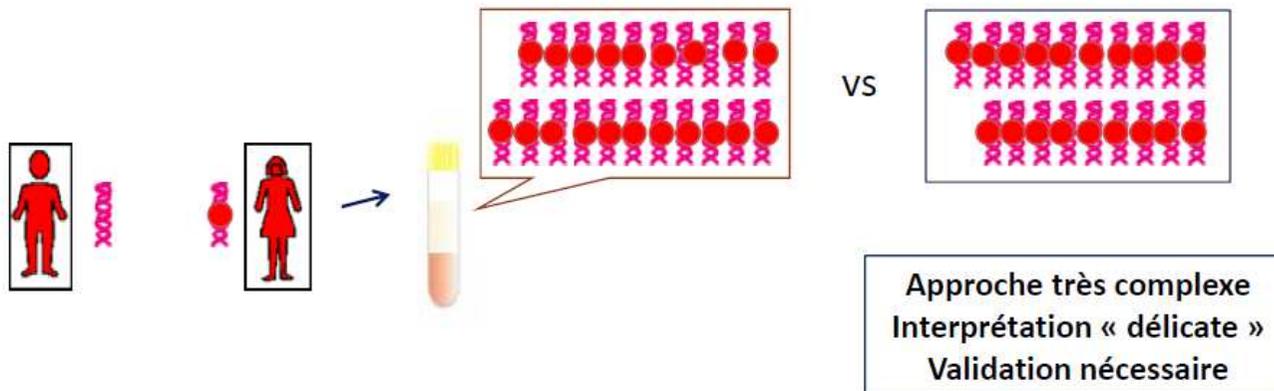
Maladies monogéniques

- Mutations maternelles:
 - Quantification par dosage «nucléotidique» relatif

[Noninvasive prenatal diagnosis of monogenic diseases by digital size selection and relative mutation dosage on DNA in maternal plasma.](#)

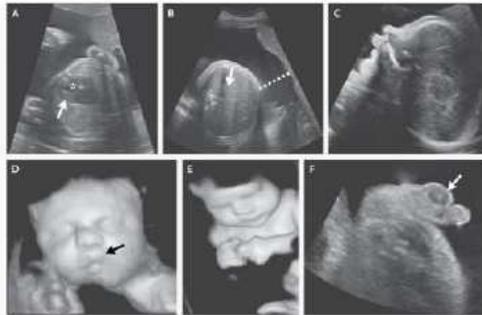
Lun FM, Tsui NB, Chan KC, Leung TY, Lau TK, Charoenkwan P, Chow KC, Lo WY, Wanapirak C, Sanguansermsri T, Cantor CR, Chiu RW, Lo YM.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Dec 16;105(50):19920-5. Epub 2008 Dec 5.



Perspectives

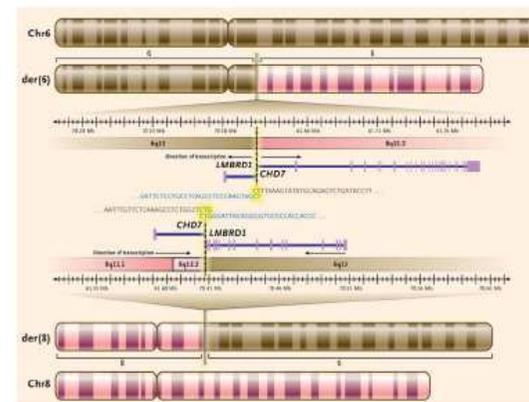
- DPNI et anomalies de structures équilibrées



Séquençage haut débit
Point de cassure de la
translocation interrompt le
gène *CHD7* (Syndrome de CHARGE)
T(6;8)(q13;q12.2)



Caryotype
46,XY,t(6;8)(q13;q13)dn
CGH array normale



Perspectives

- Génome entier

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH	NIH Public Access Author Manuscript <i>Nature. Author manuscript; available in PMC 2013 February 01.</i>
	Published in final edited form as: <i>Nature.</i> 2012 July 19; 487(7407): 320–324. doi:10.1038/nature11251.
NIH-PA Author Manuscript	Noninvasive Prenatal Measurement of the Fetal Genome
	H. Christina Fan ^{1,5,*} , Wei Gu ^{1,*} , Jianbin Wang ¹ , Yair J. Blumenfeld ² , Yasser Y. El-Sayed ² , and Stephen R. Quake ^{1,3,4}
	¹ Department of Bioengineering, Stanford University, Stanford, California, USA
	² Department of Obstetrics & Gynecology, Stanford University, Stanford, California, USA
³ Department of Applied Physics, Stanford University, Stanford, California, USA	
⁴ Howard Hughes Medical Institute, Stanford University, Stanford, California, USA	

Here we demonstrate that it is possible to noninvasively sequence the entire prenatal genome.

DPNI en France: Etat des lieux

Tableau DPN14a. Analyses de génétique moléculaire réalisées à partir d'ADN fœtal circulant dans le sang maternel en 2016 : indications qui ont fait l'objet d'une recommandation par la HAS

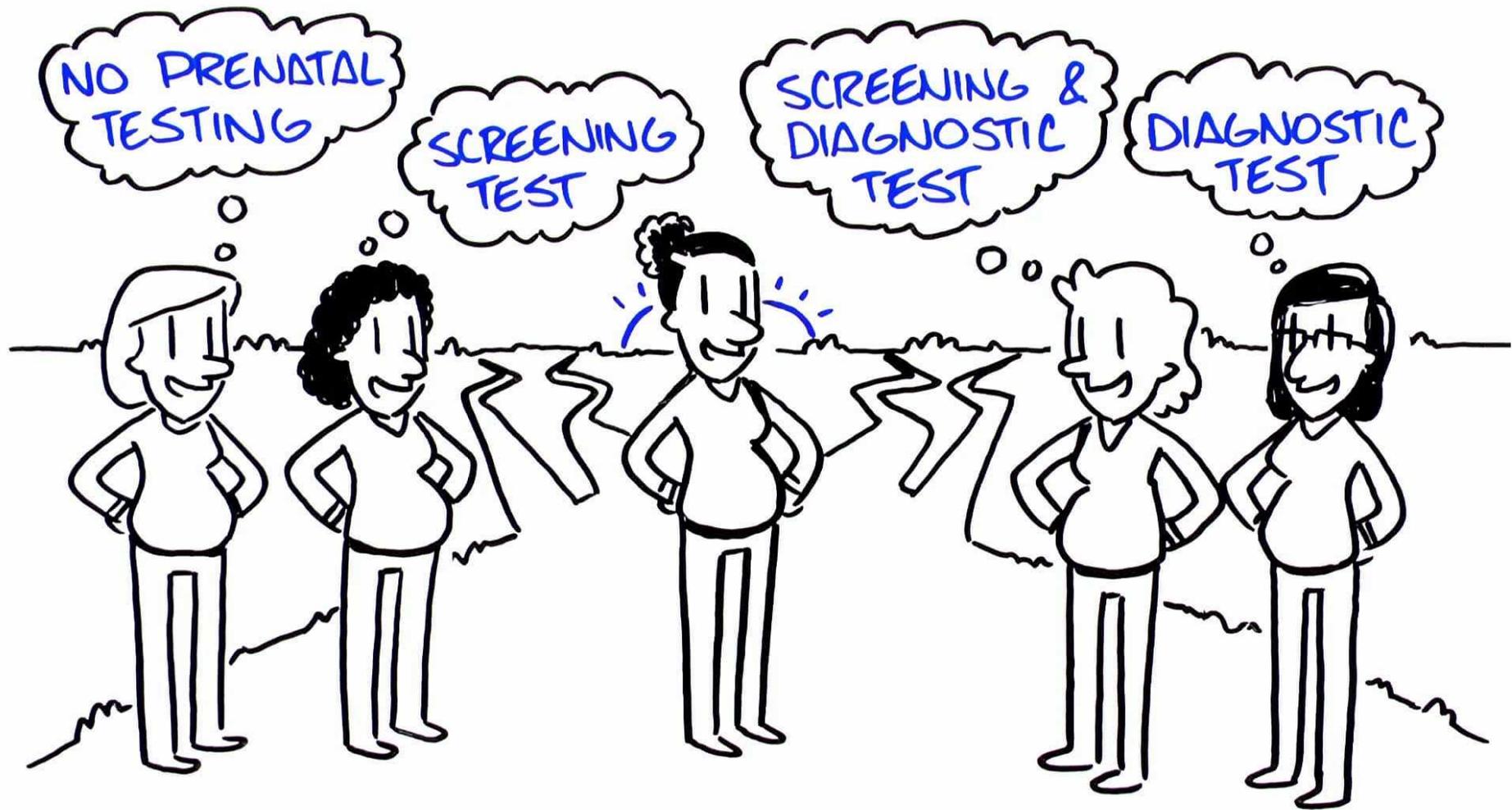
Analyses de génétique moléculaire	Nombre de centres	Nombre de fœtus étudiés
Détermination du rhésus fœtal	10	5 481
Détermination du sexe fœtal	6	514
. <i>Ambiguïté sexuelle</i>	4	21
. <i>Hyperplasie congénitale des surrénales</i>	6	69
. <i>Maladies liées à l'X</i>	6	421

Tableau DPN15. Evolution de la recherche d'aneuploïdies par analyse d'ADN fœtal présent dans le sang maternel dans le cadre du diagnostic de 2013 à 2016

Analyses de génétique moléculaire	Nombre de fœtus étudiés dans le cadre du diagnostic			
	2013	2014	2015	2016
Groupage	58	70	98	206
Recherche d'anomalies géniques	10	21	5	12
Recherche d'aneuploïdies	168	2 988	5 647	21 161
Total	236	3 079	5 750	21 379

Conclusion

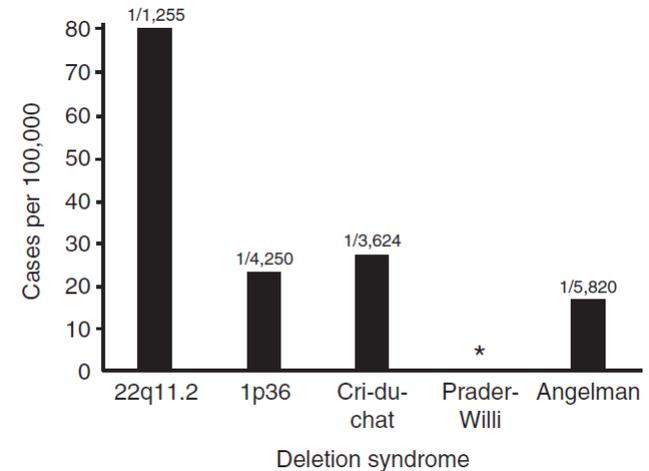




ORIGINAL ARTICLE

Clinical experience with a single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal test for five clinically significant microdeletions

K. Martin¹ | S. Iyengar¹ | A. Kalyan¹ | C. Lan¹ | A.L. Simon¹  | M. Stosic¹ | K. Kobara¹ | H. Ravi¹ | T. Truong¹ | A. Ryan¹ | Z.P. Demko¹ | P. Benn² 



- Étude rétrospective sur > 120 000 patientes

TABLE 5 Projected test performance with the revised screening protocol

Deletion syndrome	22q11.2	1p36	CdC	PWS	AS	1p36, CdC, PWS, AS combined	All combined
Adjusted total calls ^a	68 307 ^b	37 350 ^c	38 358 ^d	38 673	32 095 ^e	Rates per 100 000 tests	
High-risk call, <i>n</i>	87	7	7	4	17	100 ^g	228 ^g
SPR, %	0.13	0.02	0.02	0.01	0.05	0.10 ^h	0.23 ^h
TP, <i>n</i>	23 ^f	2	4	0	1	19 ^g	53 ^g
FP, <i>n</i>	29	2	2	1	9	41 ^g	84 ^g
Unk, <i>n</i>	35	3	1	3	7	40 ^g	91 ^g
PPV (range) ^h , %	44.2 (26.4-66.7)	50.0 (28.6-71.4)	66.7 (57.1-71.4)	0 (0-75.0)	10.0 (5.9-47.1)	31.7 (19.0-59.0)	38.7 (23.2-63.2)
FPR (range) ^h , %	0.07 (0.04-0.09)	0.01 (0.005-0.01)	0.01 (0.005-0.01)	0.01 (0.003-0.01)	0.05 (0.03-0.05)	0.07 ⁱ (0.04-0.08)	0.14 ⁱ (0.08-0.18)

Abbreviations: AS, Angelman syndrome; CdC, cri-du-chat syndrome; FP, false positive; FPR, false-positive rate; PPV, positive predictive value PWS, Prader-Willi syndrome; TP, true positive; Unk, cases with unknown outcome.

Table 2. Test Performance for Trisomy 21 in the Primary Analysis Cohort, According to Maternal Age and Risk.*

Variable	Standard Screening	Cell-free DNA Testing		
	All Patients (N = 15,841)	All Patients (N = 15,841)	Maternal Age <35 Yr (N = 11,994)	Low Risk (N = 14,957) †
True positive — no.	30	38	19	8
True negative — no.	14,949	15,794	11,969	14,941
False positive — no.	854	9	6	8
False negative — no.	8	0	0	0
Sensitivity (95% CI) — %	78.9 (62.7–90.4)	100 (90.7–100) ‡	100 (82.4–100)	100 (63.1–100)
Specificity (95% CI) — %	94.6 (94.2–94.9)	99.9 (99.9–100) §	99.9 (99.9–100)	99.9 (99.9–100)
Positive predictive value (95% CI) — %	3.4 (2.3–4.8)	80.9 (66.7–90.9) §	76.0 (54.9–90.6)	50.0 (24.7–75.3)
Negative predictive value (95% CI) — %	99.9 (99.9–100)	100 (99.9–100) ¶	100 (99.9–100)	100 (99.9–100)
Positive likelihood ratio	14.6	1755.9	1995.8	1868.6
Negative likelihood ratio	0.22	0	0	0

* P values are for the comparison between standard screening and cell-free DNA screening in the primary analysis cohort.

† Low risk was defined as a mid-trimester risk of trisomy 21 of less than 1 in 270 on standard screening.

‡ P = 0.008

§ P < 0.001

¶ P = 0.005.

Table 3. Test Performance for Trisomy 18 and Trisomy 13.*

Metric	Trisomy 18		Trisomy 13	
	Standard Screening (N = 15,841)	Cell-free DNA Testing (N = 15,841)	Standard Screening (N = 11,185)	Cell-free DNA Testing (N = 11,185)
True positive — no.	8	9	1	2
True negative — no.	15,782	15,830	11,155	11,181
False positive — no.	49	1	28	2
False negative — no.	2	1	1	0
Sensitivity (95% CI) — %	80.0 (44.4–97.5)	90.0 (55.5–99.7)	50.0 (1.2–98.7)	100 (15.8–100)
Specificity (95% CI) — %	99.7 (99.6–99.8)	100 (99.9–100) †	99.7 (99.6–99.8)	100 (99.9–100) †
Positive predictive value (95% CI) — %	14.0 (6.2–25.8)	90.0 (55.5–99.7) †	3.4 (0.1–17.8)	50.0 (6.8–93.2)
Negative predictive value (95% CI) — %	100 (99.9–100)	100 (99.9–100)	100 (99.9–100)	100 (99.9–100)

* Included in the trisomy 13 analysis are patients who were enrolled after September 2012.

† P < 0.001 for the comparison with standard screening.