



Marqueurs protéomiques pronostiques pour la hernie de coupole diaphragmatique

Pro-CDH study Clinical trial N° 03179371

Olivier Hild, Nicolas Bourgon , Frederic Mauny , Nicolas Mottet , Julie Cattin, Paul Sagot , Thierry Rousseau , Michel François , Frédéric Auber

Journées annuelles FIMATHO

03/06/2025

Olivier Hild



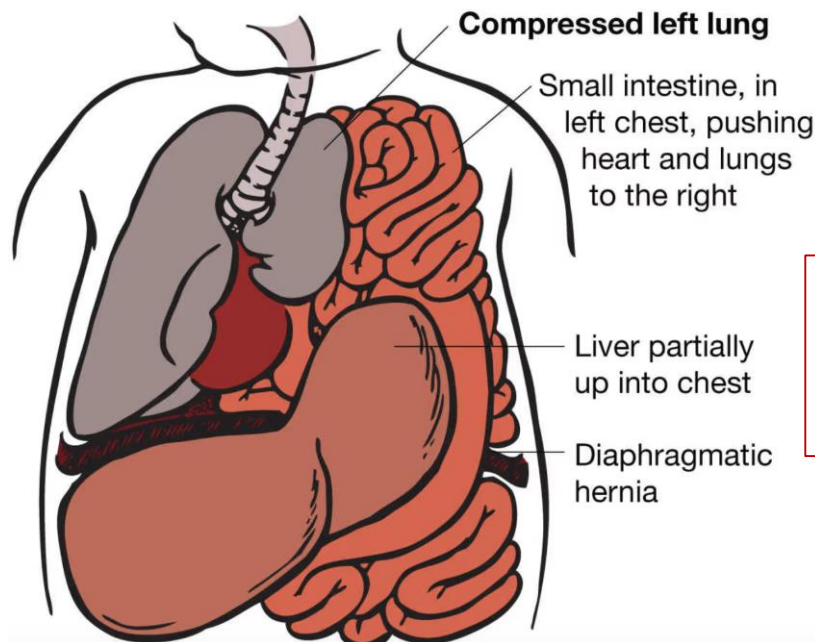
Introduction-Problématiques de la HCD

- **Hypoplasie pulmonaire**: défaut de développement
- Compression pulmonaire
 - Homolatérale (compression par les organes ascensionnés)
 - Controlatérale (déviation médiastinale)
- **Hypoplasie et remodelage vasculaire** : hypertension artérielle pulmonaire
- **Dysfonction ventriculaire cardiaque**

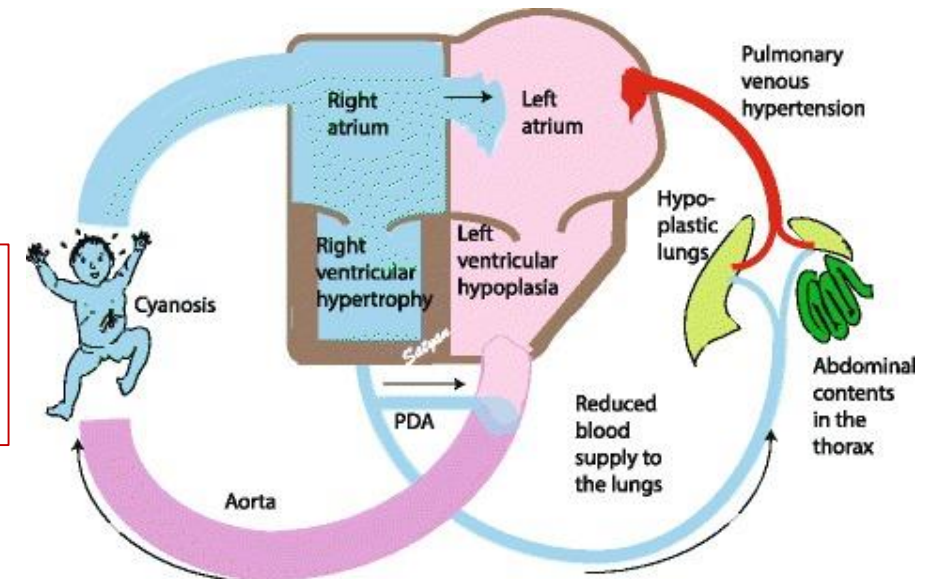
Keijzer R et al. Am J Pathol. 2000

Pierro M et al. Semin Fetal Neonatal Med. 2014

Schwartz SM et al., J Pediatr. 1994



**Mortalité élevée
30-60%**



Introduction-Intérêt de l'évaluation anténatale

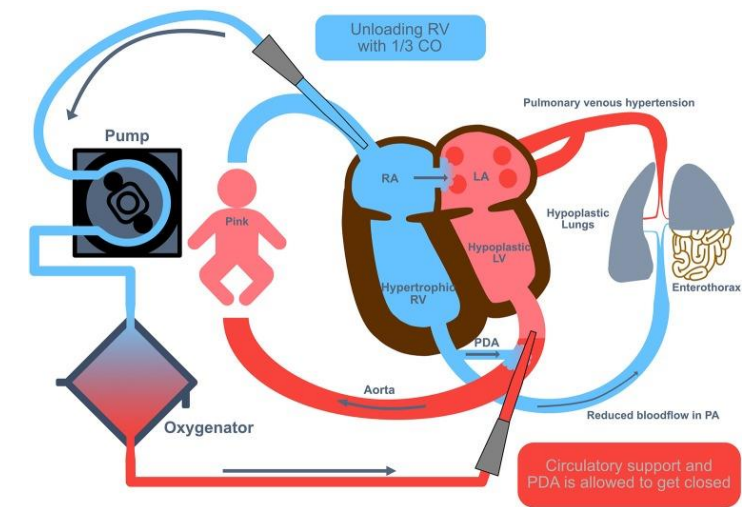
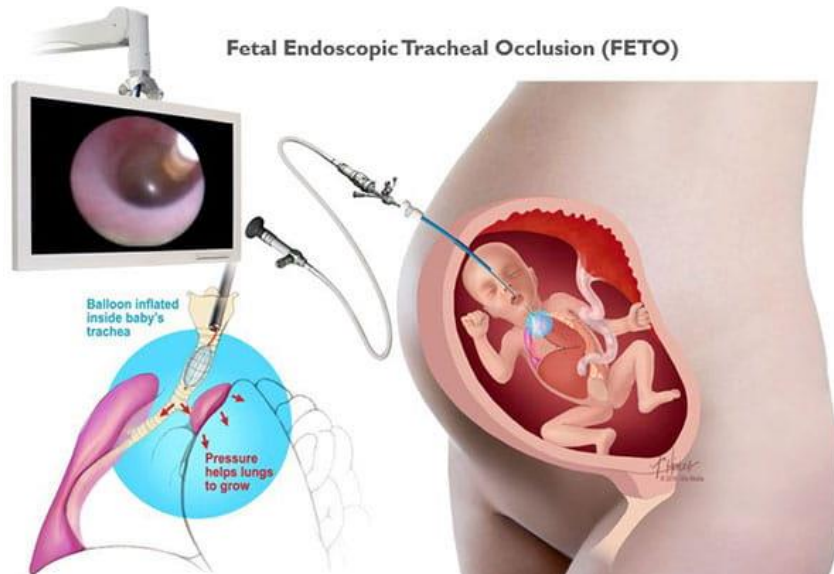
Evaluation pronostique anténatale indispensable

Orientations prénatales

- IMG?
- Thérapeutiques prénatales?
- Surveillance?

Conseil prénatal

Planification de soins post-nataux

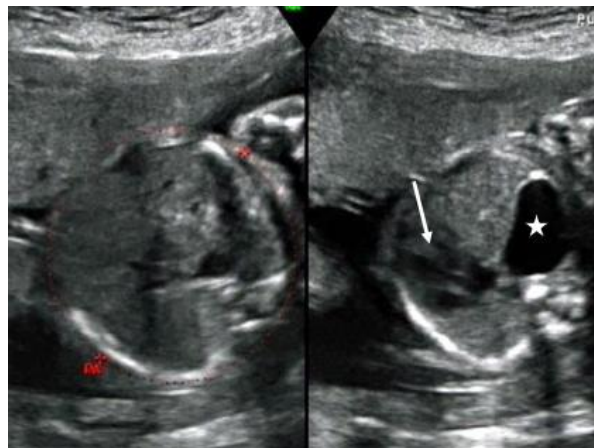


Introduction- Evaluation pronostique

Modalités d'évaluation pronostique anténatales

Echographie anténatale

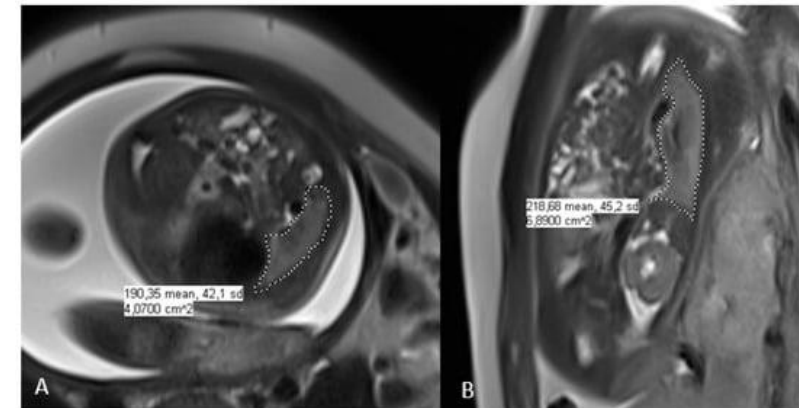
- **Foie intra-thoracique** (mortalité 65%)¹
- **LHR**²
 - LHR > 1.35 : survie 100%
 - LHR 1.35 to 0.6 : survie 61%
 - LHR < 0.6 – : mortalité 100%
- **LHR o/e**: sévère si < 25% (mortalité 75-90%)³
- **Position de l'estomac**⁴



Benachi A, 2011

IRM foetale

- **TFLV**
- **TFLV o/e**⁵



¹ Mullassery D et al., *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010

² Metkus AP et al., *J Pediatr Surg.* 1996

³ Jani J et al., *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007

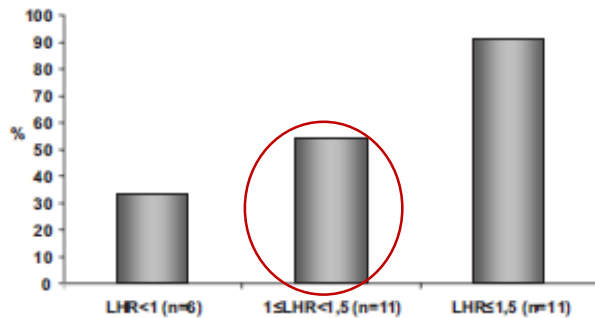
⁴ A.-G. Cordier et al., *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015

⁵ F. Rypens, et al. *Radiology*, 2001

Introduction-Rationnel

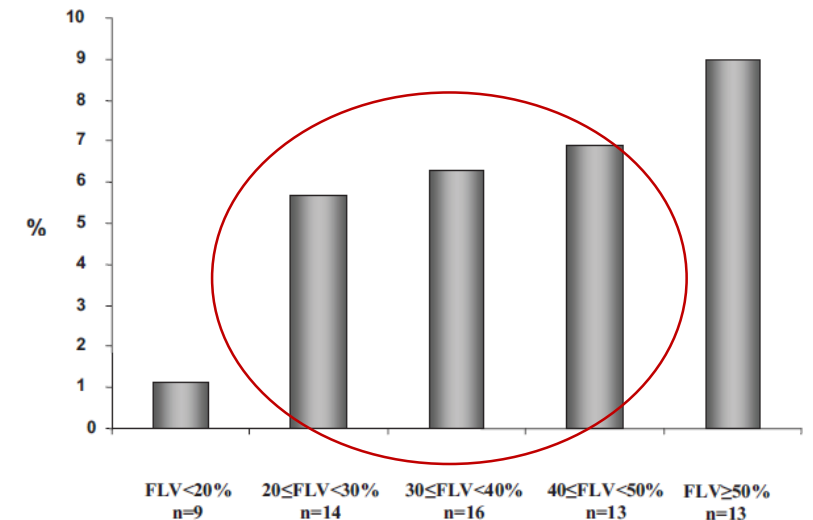
Evaluation pronostique de la HCD

- Pronostic prénatal: imagerie => LHR o/e (US) and FLV o/e(IRM)
- Pronostic postnatal extrêmement variable (formes de risque intermédiaire +++)
- Rôle de l'hypoplasie pulmonaire dans le pronostic de la HCD



Survival of patients with congenital diaphragmatic hernia according to LHR value (n = 28). LHR was measured by ultrasound between 22 and 28 weeks.

Datin-Dorriere. Prenatal prognosis in isolated congenital diaphragmatic hernia. Am J Obstet Gynecol 2008.



Survival of patients with CDH according to FLV ratio. MRI was performed in 62 of 79 patients between 27 and 37 weeks.

Datin-Dorriere. Prenatal prognosis in isolated congenital diaphragmatic hernia. Am J Obstet Gynecol 2008.

Biomarqueurs prénataux pour améliorer l'évaluation pronostique prénatale des HCD?

Introduction-Rationnel

Evaluation pronostique de la HCD

- Pronostic prénatal: imagerie => LHR o/e (US) and FLV o/e,(IRM)
- Pronostic postnatal extrêmement variable (formes de risque intermédiaire +++)
- Rôle de l'hypoplasie pulmonaire dans le pronostic de la HCD

*Biomarqueurs
prénataux pour
améliorer l'évaluation
pronostique
prénatale?*

Intérêt du liquide amniotique

- Reflet du bien-être et du développement foetal
- Son protéome contient des protéines issues des sécrétions pulmonaires

Hypothèse

Association entre les **variations du protéome du LA** et la **sévérité** de l'hypoplasie pulmonaire

Objectif

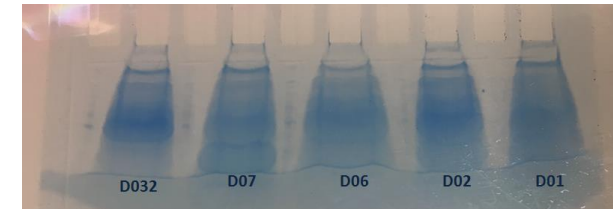
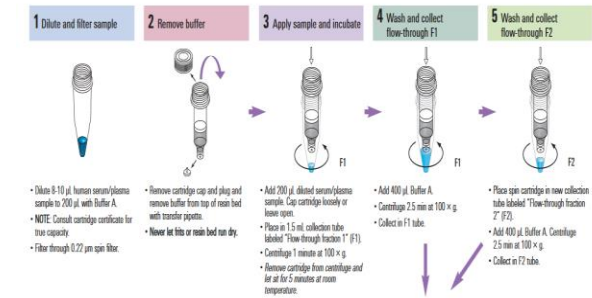
Identifier des **biomarqueurs protéomiques du liquide amniotique** associés avec un mauvais pronostic de CDH

Matériel et méthodes

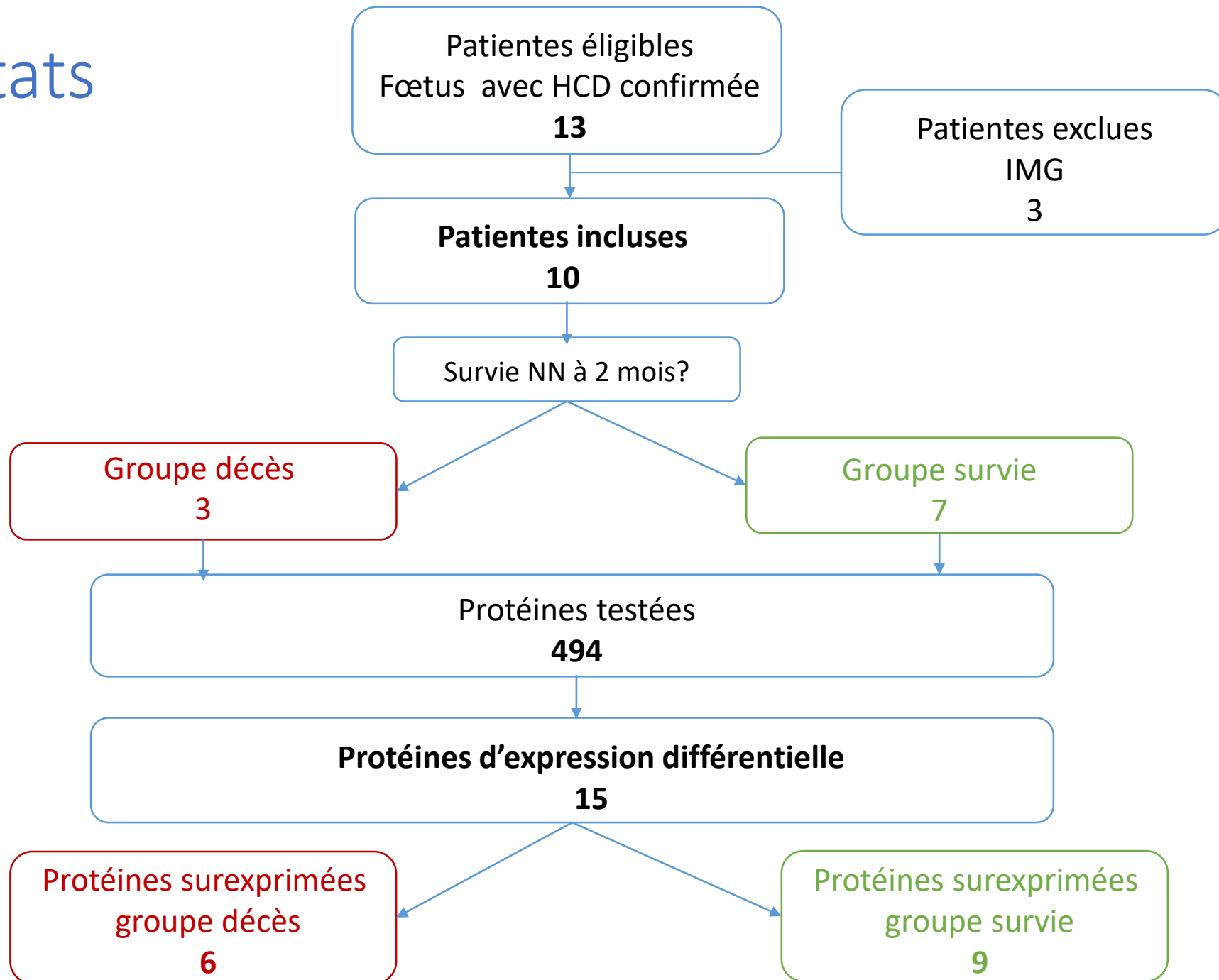
- Etude **prospective** bicentrique (CHU de Besançon et Dijon) entre 2017 et 2018
- Critère d'inclusion: **femme enceinte ayant une amniocentèse dans le cadre d'une HCD confirmée**
- Prélèvement de liquide amniotique **dans le cadre de l'amniocentèse recommandée** dans le contexte de HCD (22-34 SA)

- Analyse protéomique (*Plateforme Clipp*)
 - Déplétion en pré-albulmine suivie d'une analyse en spectrométrie de masse
 - **Quantification protéique** (Algorithme *Andromeda* / Logiciel *Maxquant v1.6.7.0*)
 - **Identification protéique** (Base de données *UniProt*)

- **Comparaison de la composition du protéome du LA**
 - Entre 2 groupes
 - Selon la **survie du nouveau né à 2 mois**



Résultats



Résultats- Population

		Analyse bivariée			
Résultats de l'article	Total, N = 10 ¹	Survie, N = 7 ¹	95% CI ²	Décès, N = 3 ¹	95% CI ²
Age maternel (années)			25.95, 35.19		27.52, 32.48
Median [Range]	31.00 [21.00 - 36.00]	31.00 [21.00 - 36.00]		30.00 [29.00 - 31.00]	
Terme confirmation échographique (SA + jours)			21.55, 31.11		21.88, 25.45
Median [Range]	23.64 [22.43 - 34.71]	23.71 [22.43 - 34.71]		23.57 [23.00 - 24.43]	
Terme amniocentèse (SA + jours)			21.65, 31.13		21.18, 26.82
Median [Range]	23.64 [22.43 - 34.71]	23.71 [22.43 - 34.71]		23.57 [23.14 - 25.29]	
Terme naissance (SA + jours)			34.15, 38.99		34.26, 41.65
Median [Range]	37.79 [31.86 - 39.29]	37.29 [31.86 - 39.29]		38.43 [36.29 - 39.14]	
Poids naissance (g)			2187.23, 3475.63		1497.46, 4655.87
Median [Range]	2830.00 [1650.00 - 3680.00]	2790.00 [1650.00 - 3680.00]		3350.00 [2350.00 - 3530.00]	
LHR o/e (%)			26.02, 61.14		21.08, 40.95
Median [Range]	35.00 [21.00 - 60.00]	49.74 [21.00 - 60.00]		31.04 [27.00 - 35.00]	
Foie intra-thoracique (%)	6 (75.00%)	4 (80.00%)	28.36%, 99.49%	2 (66.67%)	9.43%, 99.16%
Estomac intra-thoracique (%)	3 (37.50%)	1 (20.00%)	0.51%, 71.64%	2 (66.67%)	9.43%, 99.16%
Caryotype normal (%)	10 (100.00%)	7 (100.00%)	59.04%, 100.00%	3 (100.00%)	29.24%, 100.00%

Résultats- Analyse quantitative

Protéines surexprimées dans chaque groupe

Groupe décès

Protein (n=6)	Fold change death/survival	p
IGFBP 5	3,44	0,03
ADAMTSL4	2,69	0,03
C6	1,73	0,03
HGF	2,37	0,04
RNH1	1,92	0,03
IGF2	3,55	0,03

6 protéines surexprimées

Groupe survie

Protein (n=9)	Fold change death/survival	p
SERPINA1	-102,60	0,03
C16orf89	-695454,55	0,04
PSMA6	-1208923,19	0,03
TGM3	-2,13	<0,01
NGFR	-827562,91	0,03
NME2	-702342,15	<0,01
YWHAQ	-826911,20	0,02
LRP1	-491403,67	0,03
SDCBP2	-213801,37	0,03

9 protéines surexprimées

Résultats – Analyse qualitative

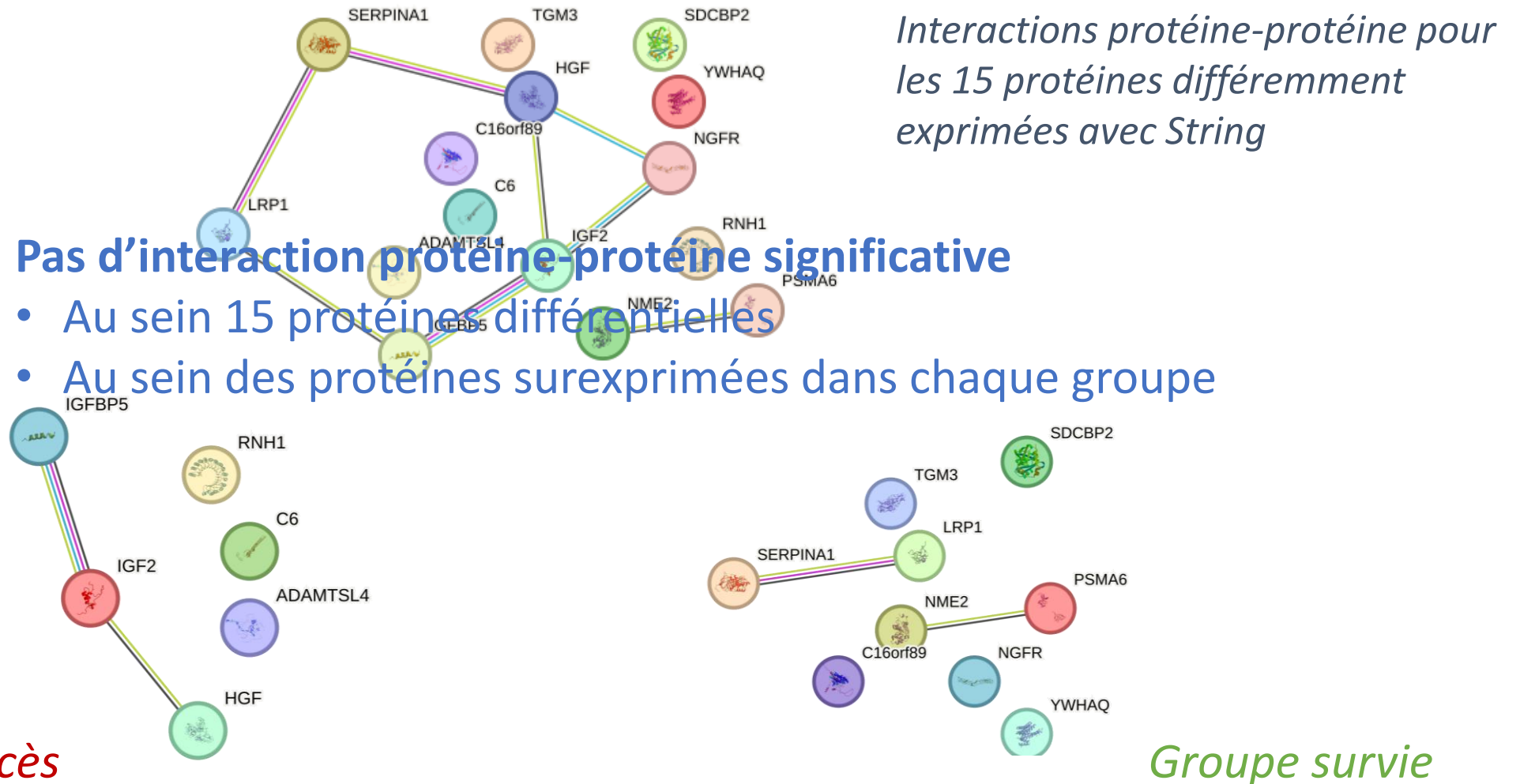
- Annotations fonctionnelles pour chaque protéine
 - Collectées à partir de la base de données **UniProt**
 - Catégorisées selon 3 categories:
 - Composants cellulaires
 - Processus biologiques
 - Fonctions moléculaires

Annotations fonctionnelles pour la protéine ADAMTSL4 avec UniProt

Majority Protein Features			Biological Process				Cellular Component				Molecular function			
Leader Protein ID	Majority Protein Names	Genes	Annotations	Description	Ancestors	Ancestor Tree	Annotations	Description	Ancestors	Ancestor Tree	Annotations	Description	Ancestors	Ancestor Tree
Q6UY14	ADAMTS-like protein	ADAMTSL4	GO:0002064 : epithelial cell	The process whose	epithelial cell	http://amigo.geneontology.org	GO:0005614 : interstitial	A type of extracellular	cellular_component	http://amigo.geneontology.org	GO:0002020 : protease	Interacting selectively	protease binding	http://amigo.geneontology.org

Résultats – Analyse qualitative

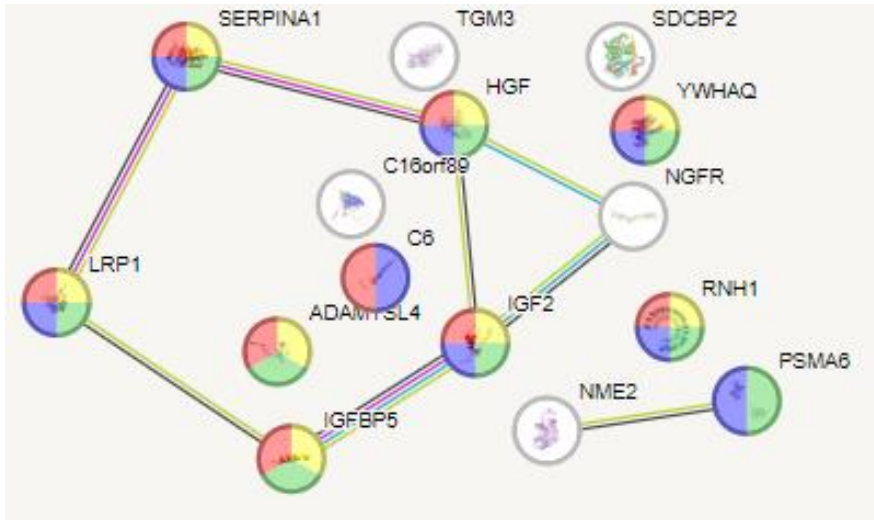
- Interactions: Evaluation des interactions protéine-protéine



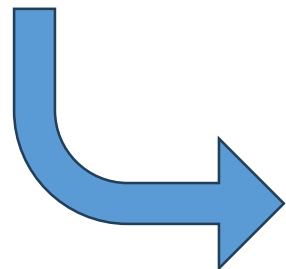
Résultats – Analyse qualitative

- Composants cellulaires: Evaluation de l'expression tissulaire préférentielle

Expression tissulaire préférentielles



Protéine	Tissu
ADAMTSL4	Tissus fœtaux+++: Foie, poumon et muscles striés
IGF2	Durant embryogénèse: foie, poumon et muscles striés

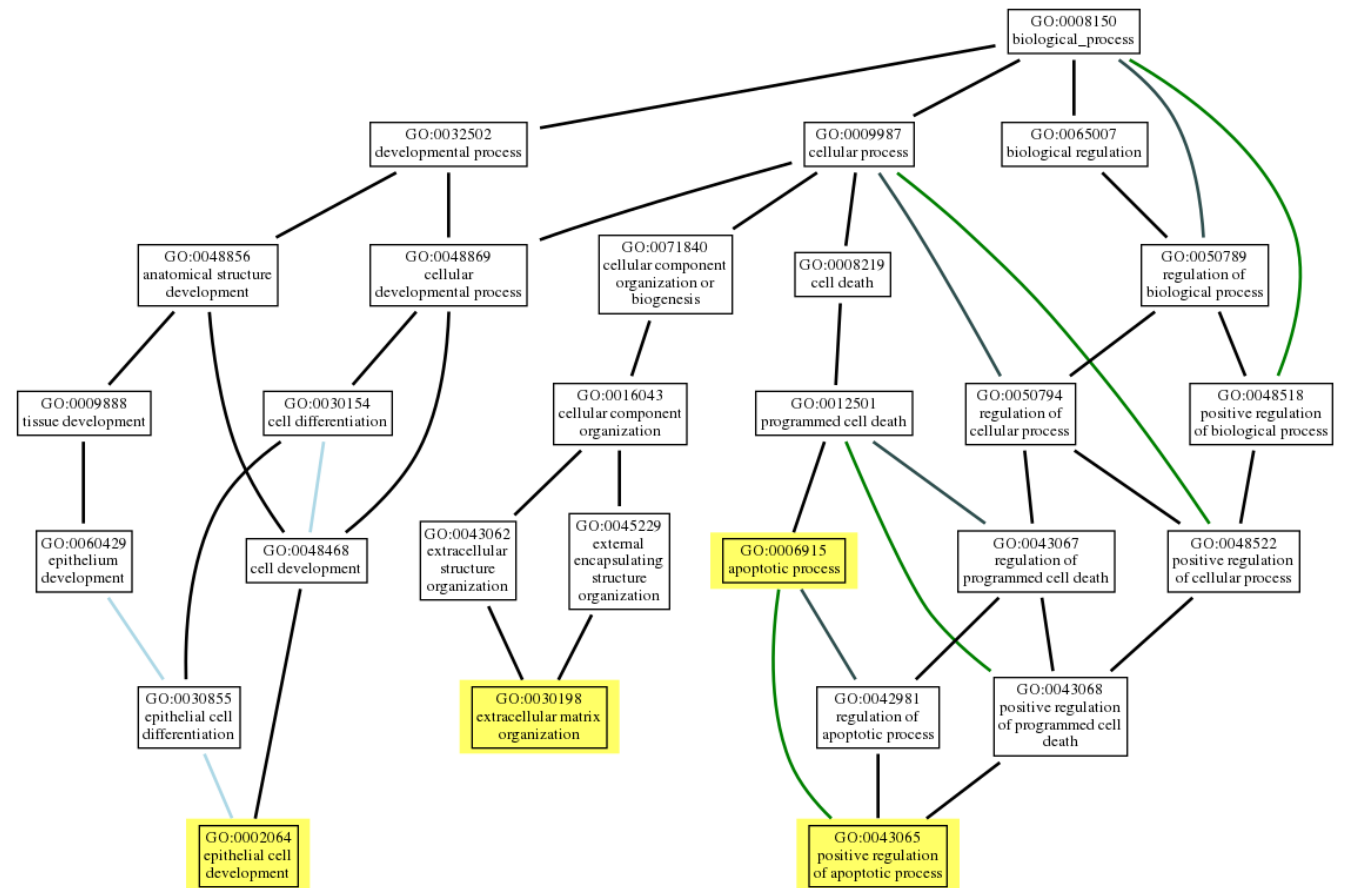


- Foie et placenta: 8 protéines
- Structures embryonnaires: 9 protéines

Résultats – Analyse qualitative

- Voies de signalisation: Génération d'annotation de "parenté":
 - Visualisation de voies métaboliques pour chaque protéine
 - Comparaison des voies métaboliques préférentielles

*Voies métaboliques impliquant
ADAMTSL4 avec GeneOntology*



Résultats – Analyse qualitative

- Voies de signalisation: Génération d'annotation de “parenté”:
 - Visualisation de voies métaboliques pour chaque protéine
 - Comparaison des voies métaboliques préférentielles

Voies métaboliques communes

- **Croissance, prolifération, différenciation cellulaire**: cascade Tyrosine Kinase, MAPK, PI3K et activité PKB, ERK
- **Inflammation**: Voies cytokines, voies Interleukines, voie NFkB
- **Immunité**: Voies du Complément et activité lymphocytaire T

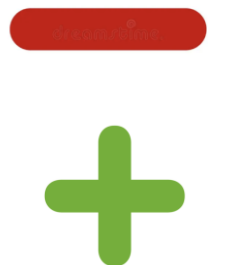
Groupe décès

- **Croissance prolifération**:
 - Tyrosine kinase
 - MAPK
 - PI3K
- Inflammation:
réponse **anti-inflammatoire** IL10



Groupe survie

- **Croissance prolifération**:
 - Tyrosine kinase
 - MAPK
 - PI3K
- Inflammation:
réponse **pro-inflammatoire** NFkB



Résultats – Analyse qualitative

- Procédés biologiques: [Evaluation des procédés biologiques différentiels](#)

Procédés biologiques communs

- **Immunité**: activation de l'immunité innée et activation lymphocytaire T
- **Homéostasie glucidique**
- **Développement foetal**: régulation du développement structurel du fœtus

Groupe décès

- **IGFBP5**: régulation négative :
 - Migration, prolifération **des cellules musculaires**
 - **Différenciation des muscles striés**
 - **Développement pulmonaire**



Groupe survie

- Surexpression de **LRP1**:
 - **Développement embryonnaire précoce**
 - **Migration des cellules musculaires**
- Activation de la kératinisation des tissus



Conclusion

- **Possibles différences de protéome dans le liquide amniotique** : HCD favorables vs défavorables
- Protéines différencielles
 - Impliquées dans des **voies métaboliques et développementales clés**: prolifération, inflammation, immunité...
 - **Régulation opposée** de chaque voie selon le groupe

⇒ Protéome:

⇒ Comme **marqueur prénatal de sévérité de la hernie diaphragmatique?**

⇒ Pour affiner l'évaluation pronostique en plus du LHR et du FLV?

- **Nécessité de confirmation par une étude à plus grande échelle**

Perspectives – Littérature...

scientific reports

Comparaison du protéome de LA de

- 5 fœtus sains
- Vs 5 fœtus HCD

OPEN

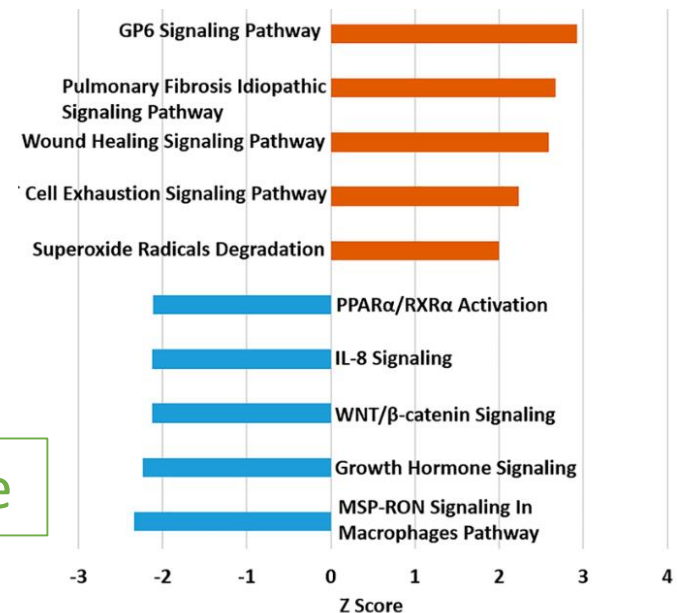
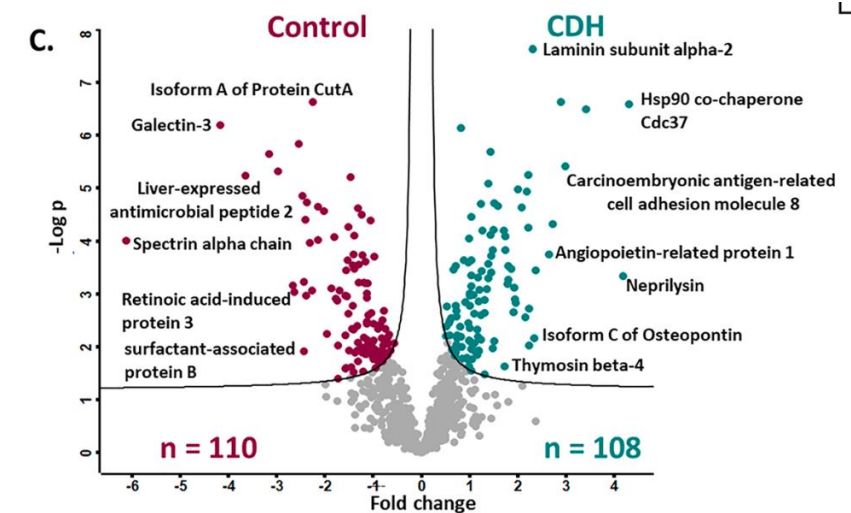
Identification of protein biomarkers associated with congenital diaphragmatic hernia in human amniotic fluid

Sumit Bhutada¹, Karin Tran-Lundmark^{2,3}, Benjamin Kramer⁴, Peter Conner⁵, Ashley M. Lowry⁶, Eugene Blackstone^{4,6}, Bjorn Frenckner⁵, Carmen Mesas-Burgos⁵ & Suneel S. Apte^{1✉}

Intérêt diagnostic

Pas d'étude de protéomique dans l'évaluation pronostique

Pas grand-chose mais ça bouge!



Perspectives-What's next?

Etude prospective multicentrique

- Régionale?
- Nationale?



Université Claude Bernard



Thomas Brunet: chargé de recherche, HCL

Yohann Clément: Data scientist, Institut des Sciences Analytiques (UMR 5280)

Spécialistes dans les approches multi-omiques

Merci de votre attention

Remerciements

- Femmes enceintes participantes
- Pr Frédéric Auber
- Obstétriciens et équipe du CPDPN
- Plateforme Clipp

Financements

- CHU Besançon
- Région Bourgogne Franche-Comté
- Filière FIMATHO

