



ETUDE « PRO-CDH : ANALYSE PROTÉOMIQUE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE EN CAS DE HERNIE DE COUPOLE DIAPHRAGMATIQUE : RECHERCHE DE PROFILS D'EXPRESSION À CARACTÈRE PRONOSTIQUE »

Coordonnateur	Pr Frédéric AUBER
Investigateur principal	Dr Nicolas BOURGON
Promoteur	CHU de Besançon
Financement	API RBFC 2016 - FIMATHO 2017

JOURNÉE ANNUELLE FIMATHO 15 MAI 2019

- Hernie de coupole : Critères pronostiques basés sur l'imagerie
 - Imparfaits, incertitude pronostique résiduelle
 - Reposent sur les mesures de volumes pulmonaires, mais pas sur le volume tissulaire (septa, vaisseaux) ni sur la fonction
- Hypothèse :
 - *Le profil du protéome ou des éléments du protéome du liquide amniotique sont ils susceptibles de refléter un phénotype particulier (gravité) ?*

- **Descriptif :**
 - Les patientes enceintes pour lesquelles une amniocentèse sera effectuée dans le cadre du diagnostic prénatal d'une hernie diaphragmatique congénitale confirmée en échographie diagnostique seront approchées pour leur proposer l'inclusion dans l'étude.

- **Descriptif :**

- Une analyse du protéome du liquide amniotique sera réalisée sur le liquide prélevé lors de l'amniocentèse.
- La prise en charge habituelle des patientes et de leurs enfants ne seront pas modifiées pas les procédures en rapport avec la recherche.
- Les quantités relatives des protéines et peptides contenus dans le liquide amniotique seront analysées pour explorer les variations de profil protéomique susceptibles de refléter des gravités cliniques différentes, en termes d'évolution ultérieure.

MATERIEL ET METHODES

- Prospective
- Bicentrique :
 - CHU de Besançon
 - CHU de Dijon
- Non-interventionnelle (volume de LA < 10cc)

INCLUSION	EXCLUSION
Hernie de coupole Amniocentèse réalisée	Refus parents Malformations multiples Grossesses multiples

- Objectif = 10 patientes

MATERIEL ET METHODES

Prélèvement
de LA

Analyse
biologique

Analyse bio-
informatique



Objectif principal :

Identifier, à partir du profil protéomique du LA, des marqueurs pronostiques candidats du décès à 2 mois du nourrisson

CDJ principal	CDJ secondaires
<ul style="list-style-type: none">• Décès néonatal à 2 mois d'âge civil	<ul style="list-style-type: none">• Décès• Chirurgie• Ventilation• HTAP• Nutrition• Retour à domicile

— EQUIPE

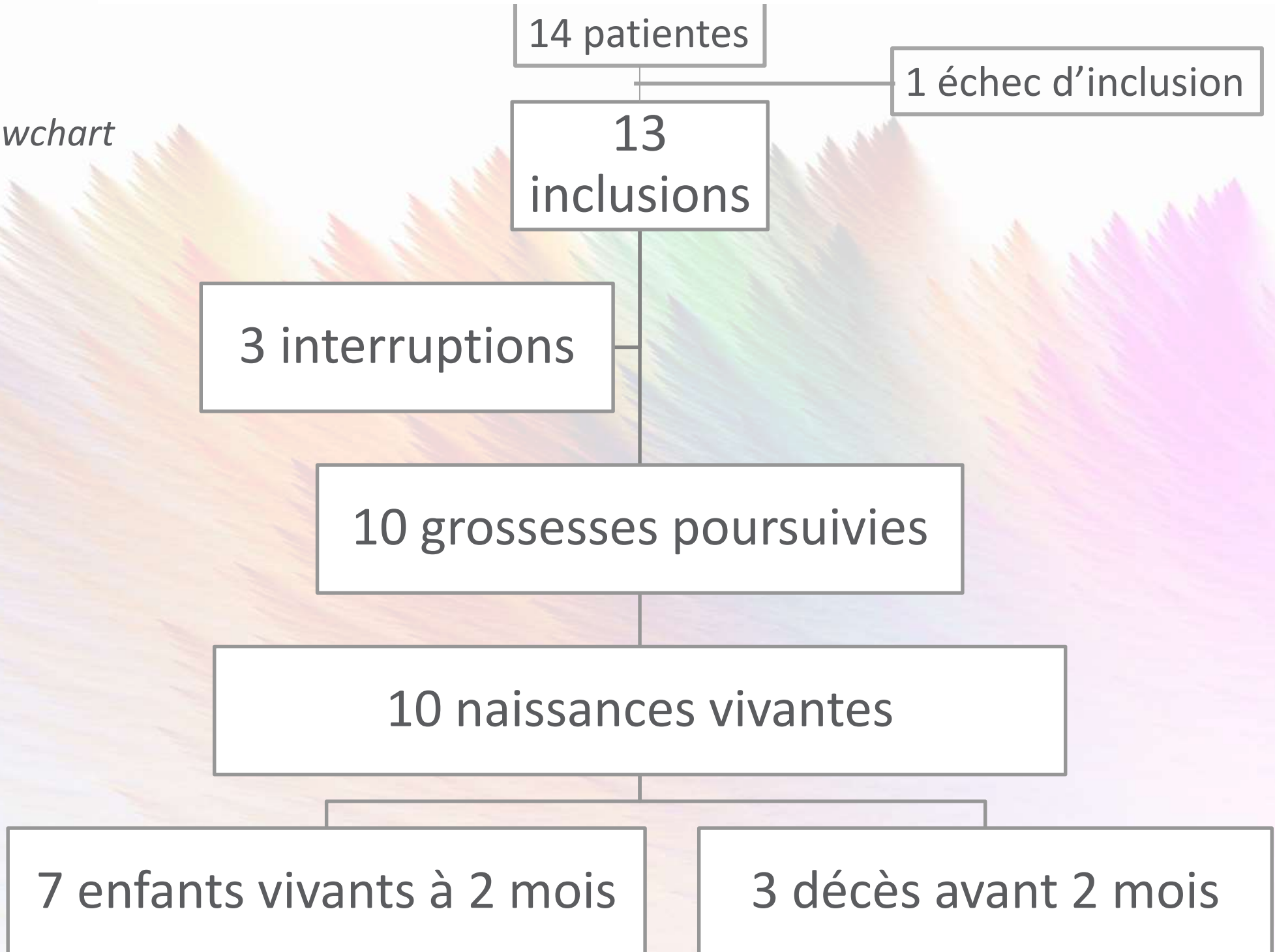
Equipe proCDH		
Coordonnateur	Pr Frédéric AUBER	CHU Besançon
Investigateur principal	Dr Nicolas BOURGON	CHU Dijon
Investigateurs	Dr Nicolas MOTTET	CHU Besançon
	Pr Paul SAGOT	CHU Dijon
	Dr Thierry ROUSSEAU	CHU Dijon
	Dr Alain MARTIN	CHU Besançon
	Pr Didier RIETHMULLER	CHU Besançon
	Dr Julie CATTIN	CHU Besançon
	Mme Pauline MAES	CLIPP
	Pr Emmanuel SAPIN	CHU Dijon
Méthodologie	Pr Frédéric MAUNY	CHU Besançon
	Mme Anne-Laure PARMENTIER	
	M Marc PUYRAVEAU	
DRCI	Mme Stéphanie FRANCOIS	CHU Besançon

— Inclusions

- 13 patientes OK pour participer :
 - 7 à Dijon
 - 6 à Besançon
- 3 exclues de l'étude :
 - 2 IMG
 - 1 IVG en Espagne
- 10 patientes incluses:
 - 5 à Dijon
 - 5 à Besançon
- Fin des inclusions : avril 2019

Inclusions

Flowchart



Inclusions

	Inclusion	Accouchement	Coté	Large	Vivant à 2 mois	
D1	2017	Né vivant	D	Non	Oui	
D2	2017	Né vivant	D	Non	Oui	
D3	2017	Né vivant	G	Oui	Oui	
D4	2018	IMG	G	-	-	
D5	2018	IVG	G	-	-	
D6	2018	Né vivant	G	Non	Oui	
D7	2018	Né vivant	G	Non	Oui	
B1	2017	Né vivant	G	Non	Oui	
B2	2017	Né vivant	G	Oui	DCD	
B3	2018	IMG	G	-	-	*
B4	2018	Né vivant	G	Oui	DCD	
B5	2018	Né vivant	D	Oui	DCD	
B6	2018	Né vivant	D	Oui	Oui	

* LHR = 0,5 soit O/A 14%

PLANNING PRÉVISIONNEL

Aspects réglementaires :

- Etude prospective non interventionnelle
- Avis favorable CPP Est-II (7/02/2017)
- CNIL/CCTIRS : engagement de conformité selon méthodologie MR 03 (Délibération N°2016-263 du 21 juillet 2016, JO du 14 aout 2016)
- Enregistrement Clinical Trial.org : 03179371

Aspects budgétaires :

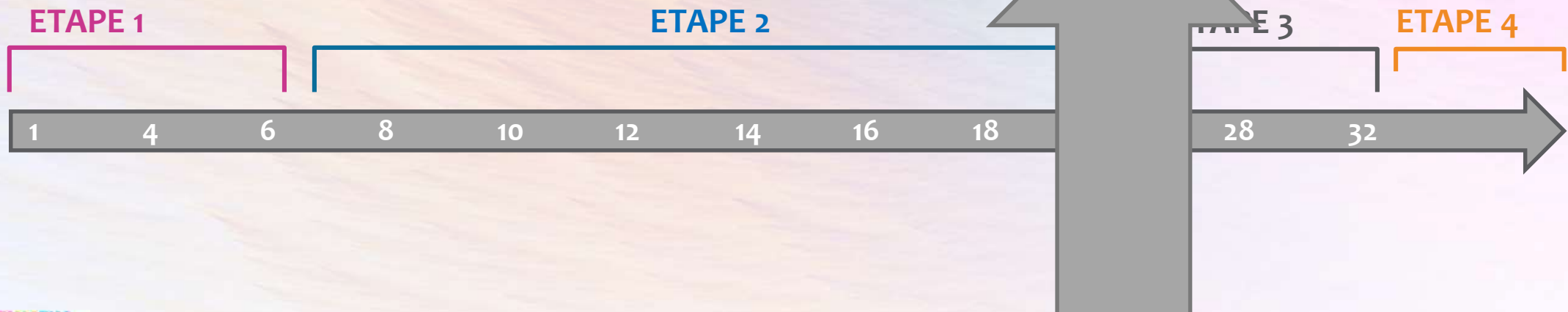
- Auto-financement : 25 000 €
- AAP API RBFC (région) 25 000 €
- AAP FIMATHO 2017 : 10 000 €

Inclusion des patientes :

- Critères d'inclusion : Les patientes enceintes pour lesquelles une amniocentèse sera effectuée dans le cadre du diagnostic prénatal d'une hernie de coupole diaphragmatique.
- Principaux critères de non inclusion : Refus des patientes, refus du conjoint concernant les données du futur enfant, malformations multiples, grossesse gémellaire.
- Critère d'exclusion : diagnostic prénatal d'une hernie de coupole diaphragmatique non confirmé, fausse couche après l'amniocentèse.

Analyse protéomique

Analyse Statistique



ANALYSE BIOLOGIQUE




- Déplétion des protéines majoritaire sur colonne d'affinité



- Dosage protéique pour standardisation



- Migration sur gel pour éliminer les contaminants

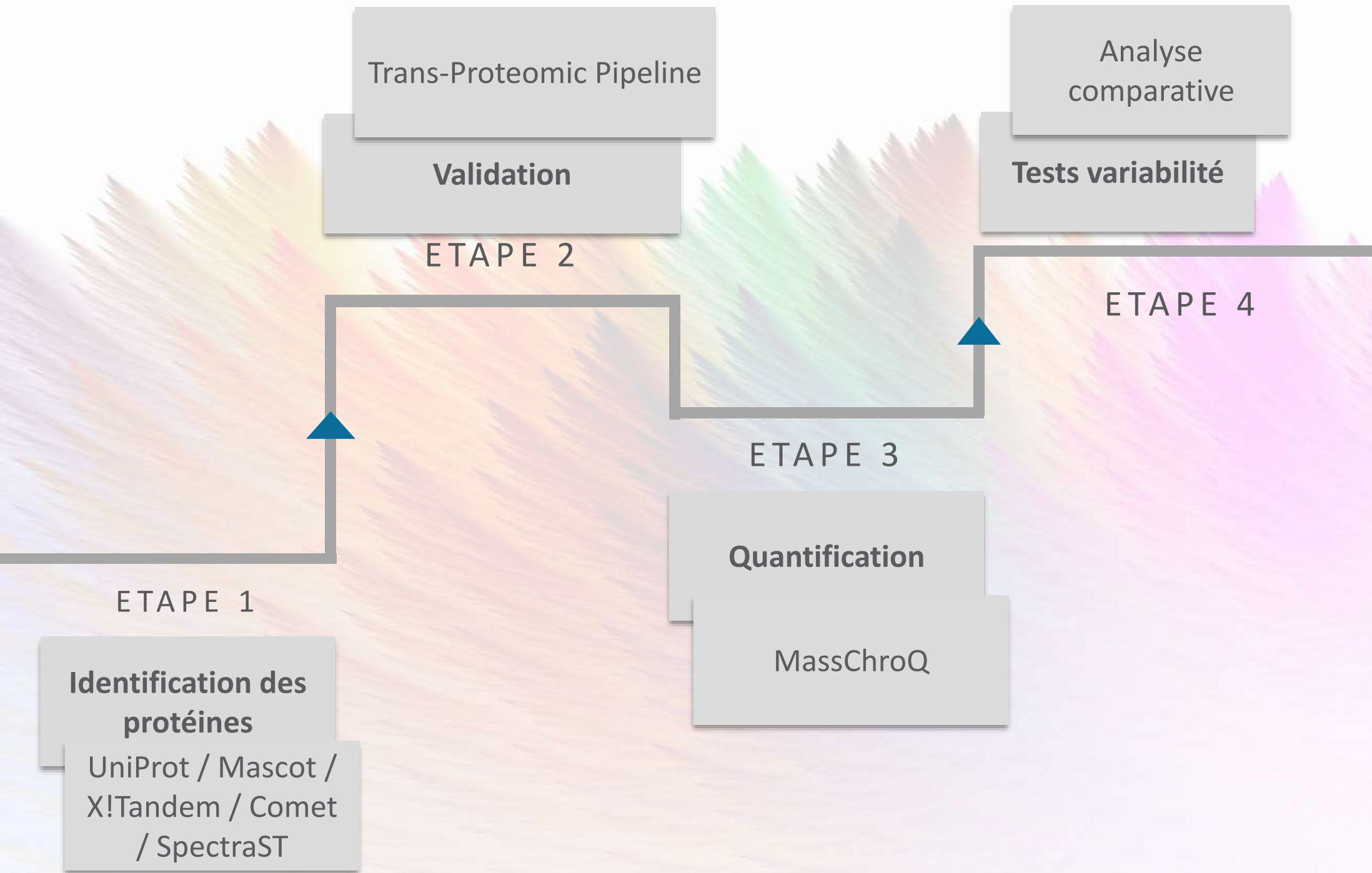


- Séparation des peptides sur colonne de chromatographie
- Analyse par spectrométrie de masse



Identification de plus de 1000 protéines et 5000 peptides
Run de 02 minutes

ANALYSE BIO-INFORMATIQUE



Remerciements

- Les patientes
- Equipe des CPDPN de Besançon et Dijon
- Equipe de l'hôpital Antoine Béclère et de l'hôpital de Bicêtre (FETO) :
 - Virginie Fouquet
 - Alexandra Benachi
 - Marie Victoire Sénat
 - Mostafa Mokhtari
- FIMATHO
- Région Bourgogne Franche-Comté