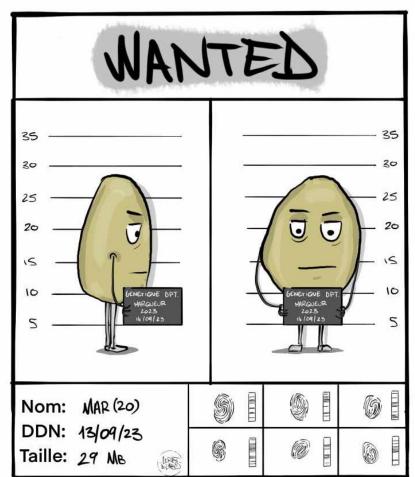
## Quand toutes les techniques s'emmêlent s'en mêlent

Julien Erra, Virginie Firmin, Sandra Macquet, <u>Juliette Labitte</u>



Case Report: How whole-genome sequencing-based cell-free DNA prenatal testing can help identify a marker mhromosome
P. Kleinfinger et al
2022 Sep 26;13:926290





### **QU'EST-CE QU'UN MARQUEUR CHROMOSOMIQUE?**

• Chromosome surnuméraire, non identifiable en cytogénétique conventionnelle

- Prévalence de 0,075% en prénatal et 0,044% en postnatal
- Dans 80% des cas issu d'un chromosome acrocentrique
- · Le plus souvent confiné au placenta

• Pronostic d'excellent à catastrophique en cas de grossesse



### **ELÉMENTS QUI DÉFINISSENT LE PRONOSTIC**

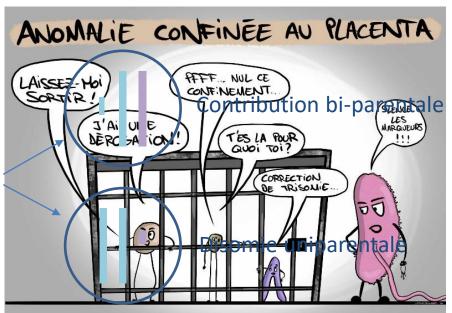
• Euchromatine (= ADN codant) / Hétérochromatine (= ADN non codant) ?

• Confiné au placenta / Présent chez le fœtus?

Correction d'une trisomie

Hérité / De novo ?





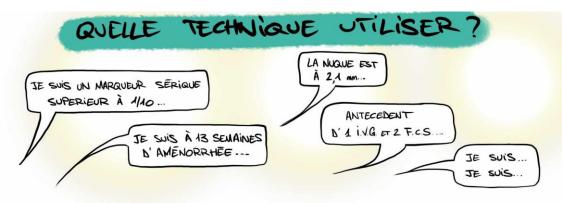
• UPD (Disomie Uniparentale)/ Contribution bi-parentale?



### Présentation de la patiente

• Patiente de 39 ans

• 1 IVG et 2 FCS



Caryotypes parentaux : sans anomalie

• Echo 12,6 SA: sans anomalie



• Marqueurs sériques du 1<sup>er</sup> trimestre : 1/10 > haut risque pour la T21 (b-hCG : 3.28 MoM; PAPP-A : 0.44 Mo)

> Réalisation d'une Biopsie de Trophoblaste à 13,1 SA



### D'OÙ VIENNENT LES DIFFÉRENTS TISSUS ÉTUDIÉS?



Cytotrophoblaste : **DIRECTE** des BT +DPNI

Mésenchyme : **CULTURE** 

des BT

Ectoderme amniotique et

embryonnaire:

**AMNIOCENTÈSE** 

Zygote

Cellules souches

Bouton embryonnaire

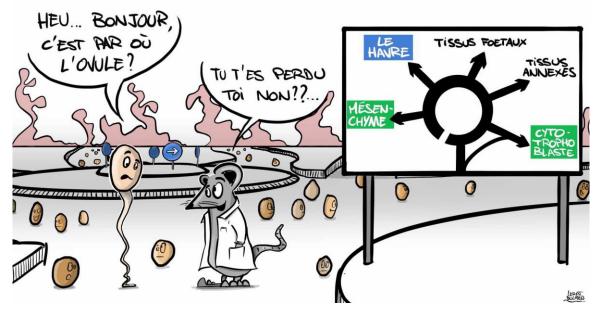
Cytotrophoblaste

Mésenchyme

= Placenta

Ectoderme Amniotique et embryonnaire

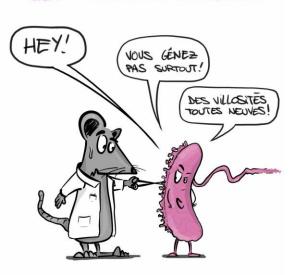




Epiblaste

### EXAMEN DIRECT DE LA BT

### BIOPSIE DE TROPHO



- 48,XX,+mar x2
- Pas d'ACPA sur la biopsie de trophoblaste fraîche















> Réalisation d'un DPNI à 14,1 SA



### **ADN FŒTAL LIBRE CIRCULANT**

- ADN circulant chez une femme enceinte = son propre ADN + ADN Fœtal (10%) provenant de la lyse des cellules du cytotrophoblaste
- Séquençage de millions de fragments de la totalité de l'ADN libre circulant
- Recherche d'une sur ou d'une sous-représentation statistiquement significative du nombre de copies de chaque chromosome traduisant une délétion (ou monosomie) ou une duplication (ou trisomie)

# T'AS VU! J'A FAIT UN PIÈGE À ADM LIBRE ... POPULES PRO ROUGES PRO LIE EST AON ROUGES PRO ROUG

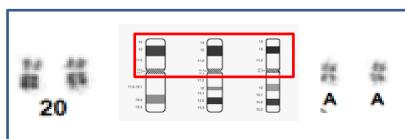


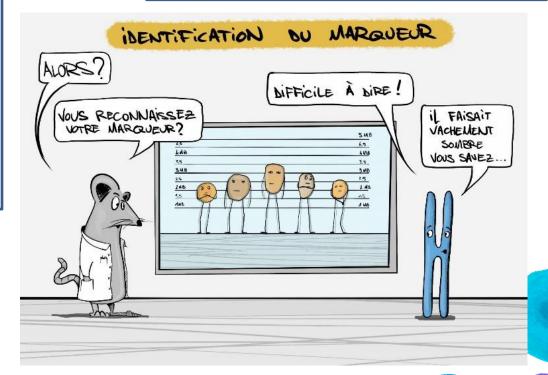
### RÉSULTAT DE L'ANALYSE DE L'ADN LIBRE CIRCULANT

Détection d'une dup(20)(p13q11.21) Comparaison des chromosomes 20 avec les 2

marqueurs

	DETECTED: dup(20)(p13q11.
region_classification	21)
chromosome	chr20
start_base	600001
end_base	29700000
start_cytoband	p13
end_cytoband	q11.21
region_size_mb	29.1
region_llr_trisomy	509.2733426
region_llr_monosomy	NA
region_t_stat_long_reads	34.33013067
region_mosaic_ratio	2.059591718
region_mosaic_llr_trisomy	521.6461786
region_mosaic_llr_monosomy	NA





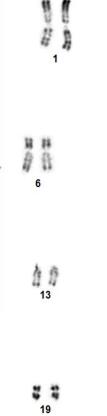


### EXAMEN DIRECT DE LA BT

### BIOPSIE DE TROPHO

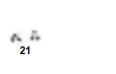


- 48,XX,+mar x2
- Pas d'ACPA sur la biopsie fraîche
- FISH interphasique du 20 qui confirme l'identification des marqueurs









15





11









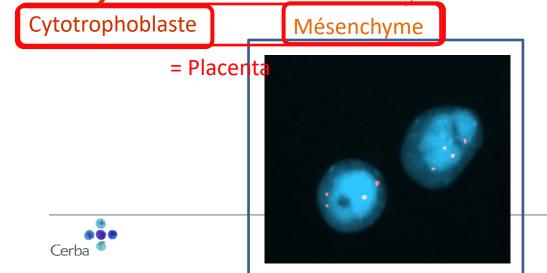


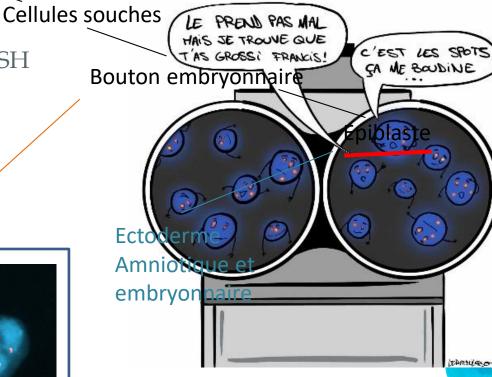
# RÉSULTAT DE LA CULTURE CELLULAIRE DU TROPHOBLASTE (MESENCHYME)

• Caryotype : 46,XX sur 25 cellules



- FISH métaphasique 20 Zygoten érique : normal sur 25 métaphases
- FISH métaphasique complété par la FISH interphasique : 20% tétrasomie 20
- ACPA: sans anomalie





### Type de mosaïque retrouvée après BT

Direct	Culture	Anomalie fœtale	
Mosaïque	Normale	1/140 ( 0.7%)	1 10/
Homogène		1/35 (2.9%)	1.1%
Normale	Mosaïque	6/124 (4.8%)	12.8%
	Homogène	13/25 (52%)	
Mosaïque	Mosaïque	11/29 (37.9%)	
Homogène	Mosaïque	2/20 (10.0%)	37,9%
Mosaïque	Homogène	9/9 (100%)	

Type de mosaïque retrouvée après BT d'après les études de Grati (203 cas) et Hahnemann (179 cas) sur 107355 BT

- Risque d'avoir une anomalie fœtale avant la FISH interphasique
- Risque d'avoir une anomalie fœtale après la FISH interphasique
- > Risque x3!

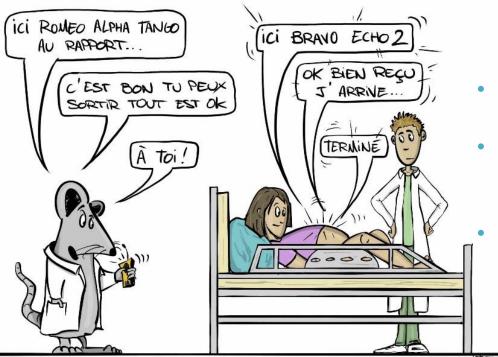
Anomalie confinée au placenta ? > Réalisation d'une ponction de LA à 16,2 SA



### RÉSULTAT DE L'ANALYSE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

- FISH interphasique 20 centromérique : normal
- Après pousse de la culture :
  - Caryotype normal 46,XX sur 31 cellules (13 IS, 18 Tryp)
  - FISH métaphasique 20 centromérique : normal

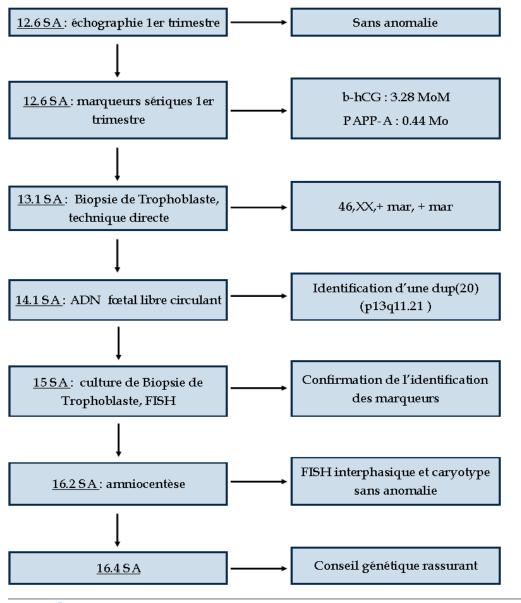
Conclusion : anomalie confinée au placenta, absente chez le fœtus



- Echo 23 SA: sans anomalie
  - Naissance à 40 SA d'une petite fille bien portante
    - À 1 an la petite fille est toujours en bonne santé



### **CONCLUSION**



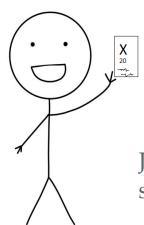
L'ensemble de la stratégie a permis en un temps record de 4,1 semaines :

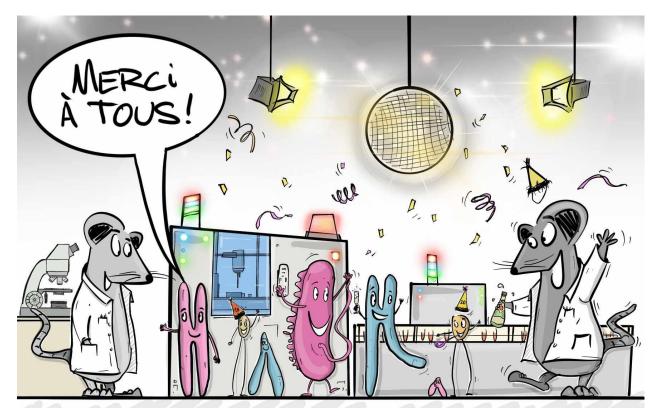
- D'identifier les marqueurs
- D'exclure leur présence chez le fœtus
- D'exclure la nécessité de rechercher une disomie uniparentale
- Rendre un conseil génétique rassurant



### **REMERCIEMENTS**

- Marie Bréchard
- Pascale Kleinfinger
- Karine Cordier-Courel
- Les équipes de :
  - Biologie Moléculaire
  - FISH
  - Constit





Je remercie tout particulièrement Julien Erra, pour ses magnifiques dessins

