



Fausses couches à répétition et Echeecs d'implantation : Apport de la cartographie optique du génome

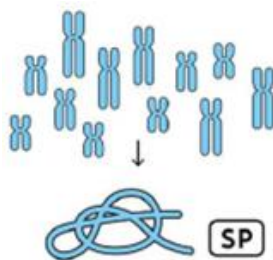
Dr. Fatma MAAZOUN

Service de Médecine génomique des maladies de système et d'organe
Hôpital Cochin - Port-Royal

La cartographie optique du génome (OGM) : principe de l'analyse

1

Extraction d'ADN de très haut poids moléculaire



- Kit **Bionano Prep SP** (capture sur disque Nanobind)
- À partir de **sang total congelé**, de cellules ou de tissus
- Molécules de **plusieurs centaines de kb**, jusqu'à l'échelle de la mégabase
- Manipulation douce, sans vortex, pour **éviter de fragmenter** l'ADN

2

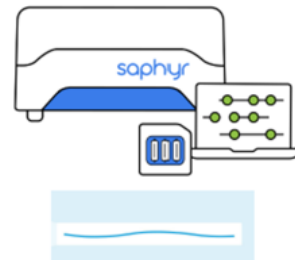
Marquage fluorescent par l'enzyme DLE-1



- Motif de 6 pb **CTTAAG**
- **14 à 17 marqueurs / 100 kb** détectés (≈ 15)
- Fluorochrome fixé directement, **sans coupure** de l'ADN
- Squelette coloré en bleu : chaque molécule porte son **code-barres**
- **750 ng** d'ADN par réaction

3

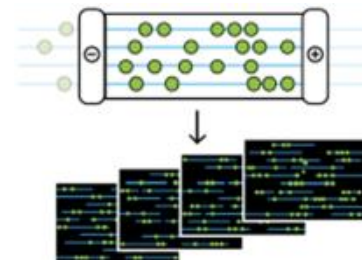
Linéarisation de l'ADN dans une puce nanofluidique



- Chargement sur une puce **Saphyr** : jusqu'à 3 échantillons
- Un **champ électrique** force l'ADN à se dérouler
- Des milliers de **nanocanaux** parallèles
- Les molécules défilent **une à une**, étirées et linéaires

4

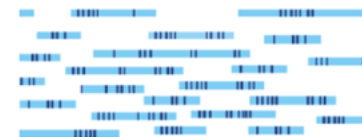
Acquisition d'images à très haute résolution



- Imagerie en fluorescence **automatisée**, par cycles successifs
- Marqueurs (vert) repérés le long du **squelette** (bleu)
- Cible : molécules ≥ 150 kb
- QC : **N50 > 230 kb**, alignement $> 70\%$, couverture $\geq 80\times$

5

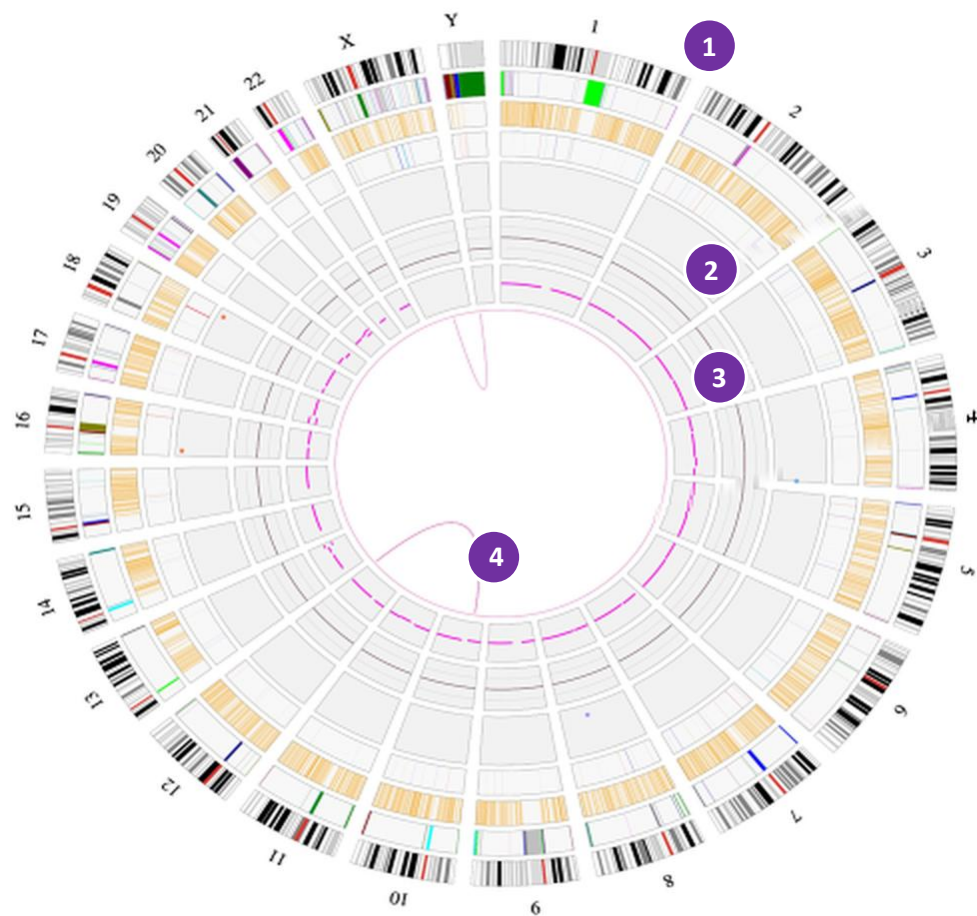
Conversion en données numériques



- Molécules numérisées (position des marqueurs)
- **Assemblage de novo** (Bionano Solve) en cartes consensus
- Comparaison à la référence **GRCh38**
- Détection des **SV ≥ 500 pb** et des **CNV ≥ 500 kb**

Visualisation des résultats : 1- Circos plot

Une vue d'ensemble du génome... en un coup d'œil



De la périphérie vers le centre

1

Idéogramme

Tous les chromosomes (1 à 22, X, Y), en périphérie

2

Piste « SV » — variants de structure

● Insertion ● Délétion ● Inversion ● Duplication

3

Piste « CNV » — nombre de copies

Gains et pertes le long de chaque chromosome

4

Centre — réarrangements inter/intra chromosomiques

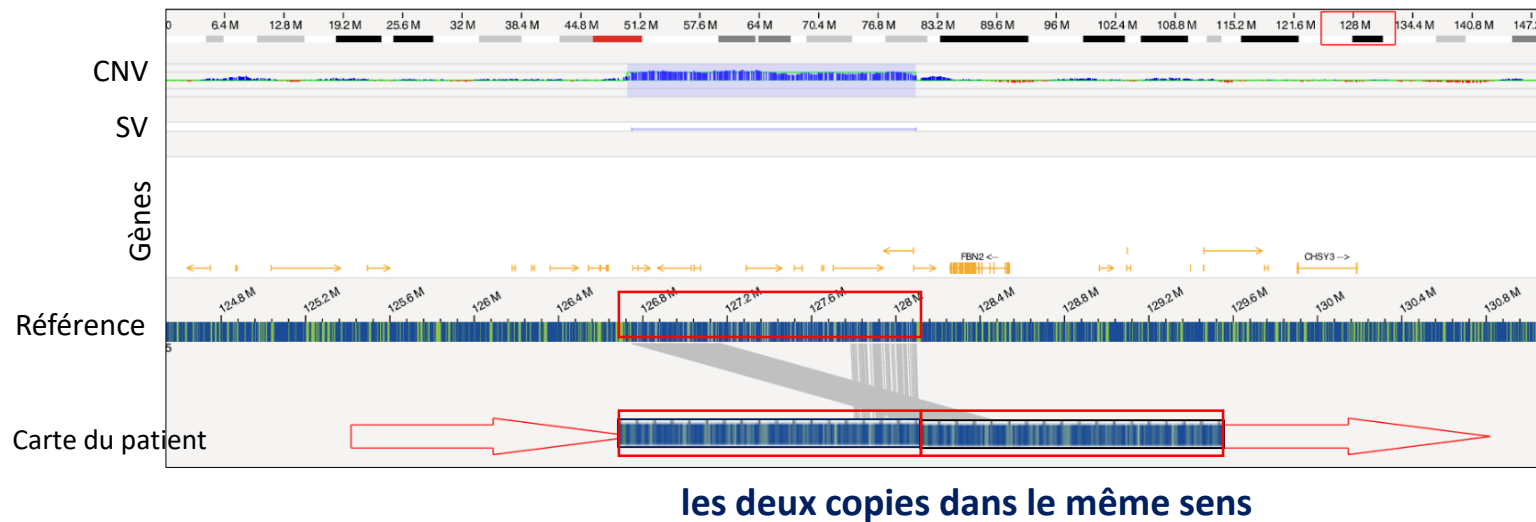


Pour analyser une anomalie en détail : **il faut zoomer**

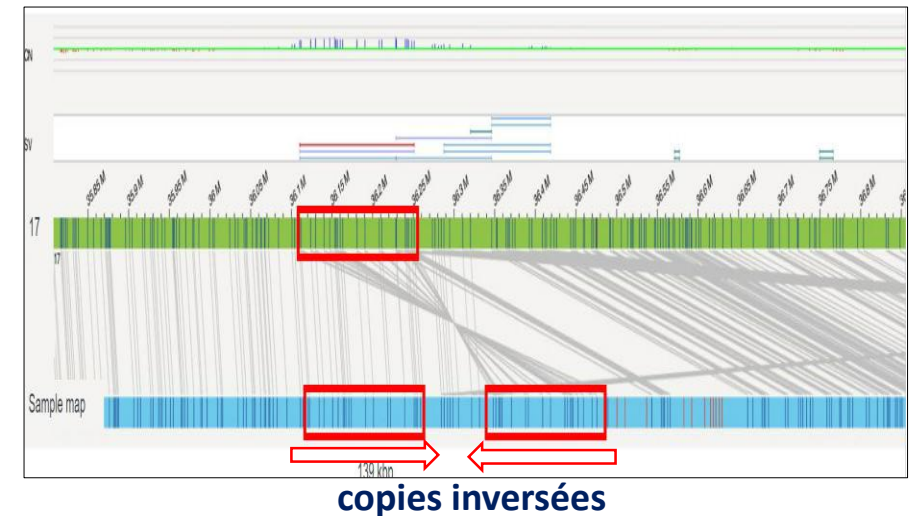
Visualisation des résultats : 2- Genome Browser

Anomalies déséquilibrées

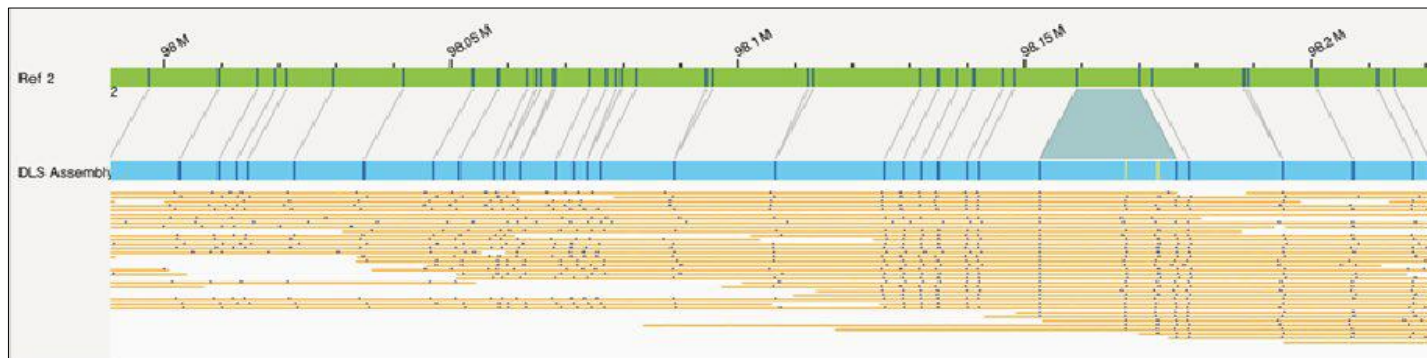
1-A) Duplication en tandem directe



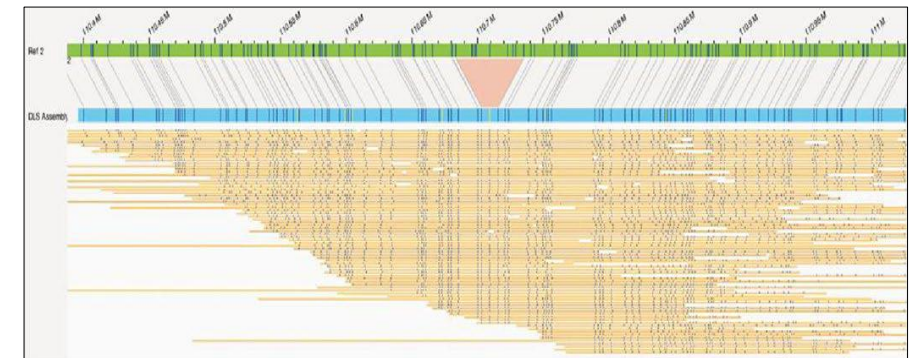
1-B) Duplication en tandem en miroir



2-Insertion



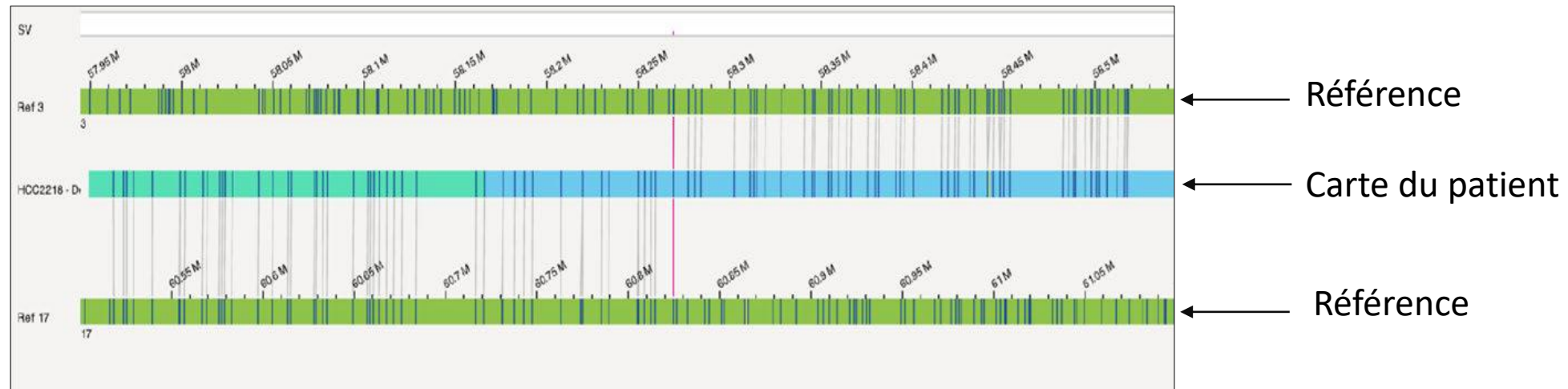
3-Délétion



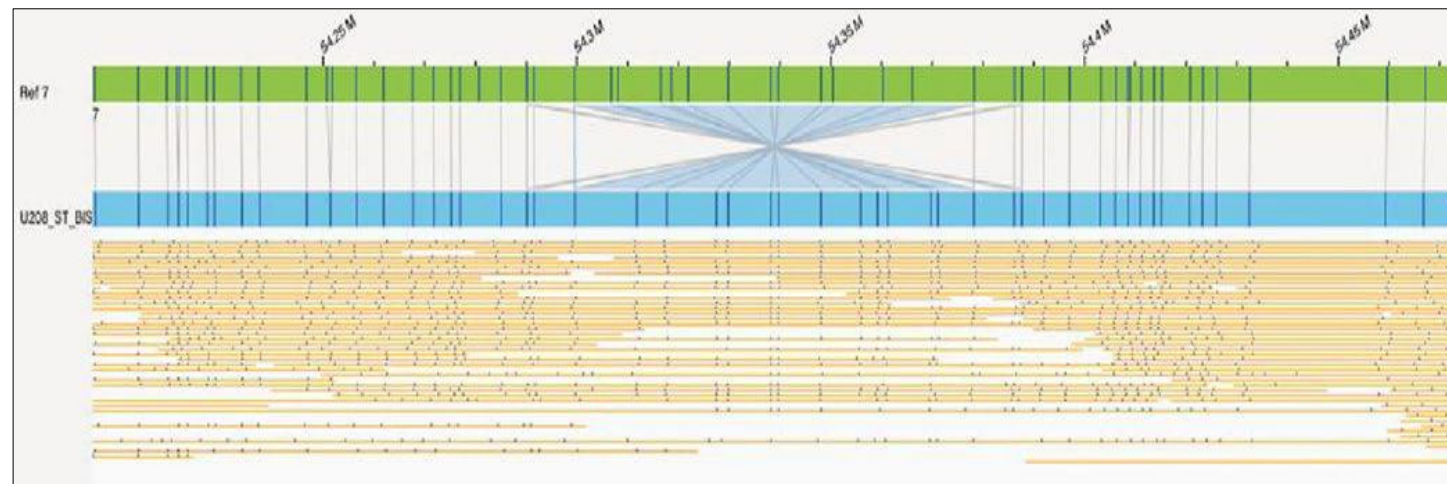
Visualisation des résultats : 2- Genome Browser

Anomalies équilibrées

Translocation



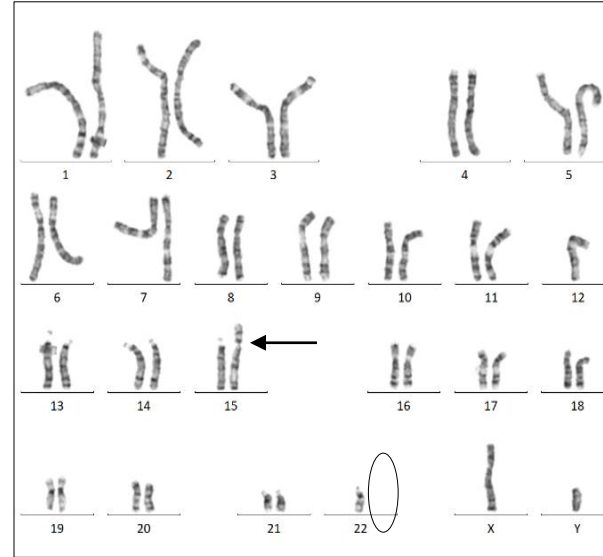
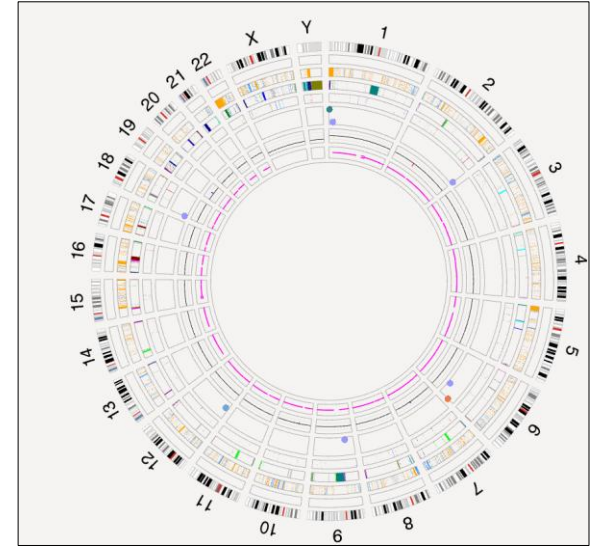
Inversion



Limites de l'OGM : les régions répétées

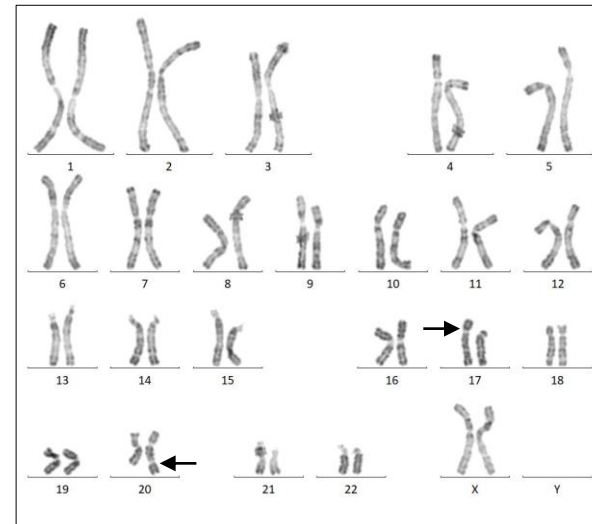
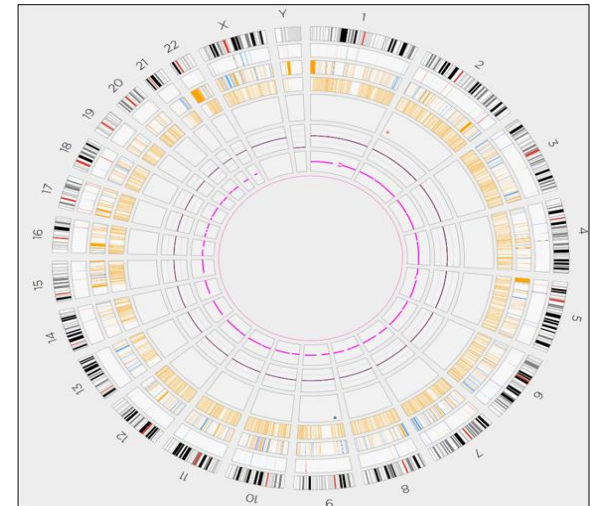
1-Translocations robertsoniennes

45,XY,der(15;22)(q10;q10)



2-Remaniement chromosomique dont le point de cassure est centromérique ou télomérique

46,XX,t(17;20)(p10;q13.3)



→ Non détecté par l'OGM

Validation clinique

► Am J Hum Genet. 2021 Jul 7;108(8):1409–1422. doi: [10.1016/j.ajhg.2021.05.012](https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.05.012) 

Optical genome mapping enables constitutional chromosomal aberration detection

[Tuomo Mantere](#)^{1,2,3,12}, [Kornelia Neveling](#)^{1,4,12}, [Céline Pebrel-Richard](#)⁵, [Marion Benoist](#)⁶, [Guillaume van der Zande](#)¹, [Ellen Kater-Baats](#)¹, [Imane Baatout](#)⁶, [Ronald van Beek](#)¹, [Tony Yammine](#)^{7,8}, [Michiel Oorsprong](#)¹, [Faten Hsoumi](#)⁶, [Daniel Olde-Weghuis](#)¹, [Wed Majdali](#)⁶, [Susan Vermeulen](#)¹, [Marc Pauper](#)¹, [Aziza Lebbar](#)⁶, [Marian Stevens-Kroef](#)¹, [Damien Sanlaville](#)^{7,9}, [Jean Michel Dupont](#)^{6,10}, [Dominique Smeets](#)¹, [Alexander Hoischen](#)^{1,2,11,12,**}, [Caroline Schluth-Bolard](#)^{7,9,12}, [Laïla El Khattabi](#)^{6,10,12,*}

Étude multicentrique : Nimègue,
Paris (Hôpital Cochin), Lyon et
Clermont-Ferrand

85

échantillons

99

anomalies chromosomiques connues

100 %

de concordance

Les 99 anomalies analysées

7 aneuploïdies · 19 délétions · 20 duplications
34 translocations (27 équilibrées, 7 déséquilibrées)
6 inversions · 2 insertions · 6 isochromosomes
1 chromosome en anneau · 4 remaniements complexes

Comparaison aux techniques de référence

Caryotype, FISH et ACPA

- Les 99 anomalies ont toutes été retrouvées
- **9 anomalies avec des points de cassure péracentromériques ou bras courts des acrocentriques avaient été exclues d'emblée**

Évaluation prospective : projet CHROMAPS

11

centres d'inclusion

300

patients en prospectif

5

laboratoires en double aveugle

La cohorte

100 déficience intellectuelle / malformations

200 troubles de la reproduction (insuffisance ovarienne prématurée, azoo- ou oligospermie)

Tests en soin courant : caryotype si trouble de la fertilité, ACPA si DI / malformation

Les tests innovants, en double aveugle

Cartographie optique — 3 laboratoires

Séquençage de 3e génération — 2 laboratoires

Partage des données brutes entre centres

Comparaison des performances des deux technologies
À la levée de l'aveugle, en fin d'étude

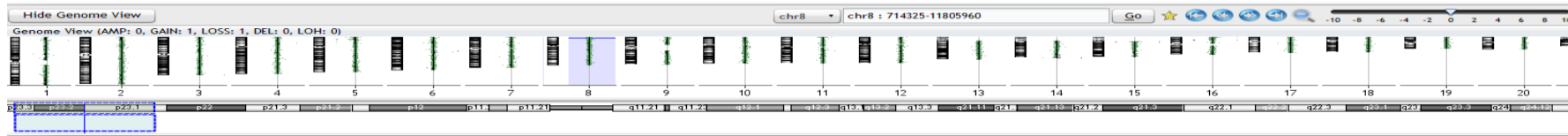


Nourrisson de 3 mois ; microcéphalie, dysmorphie faciale

1 Caryotype 46,XY,inv(8)(q21.3q23)

2 FISH Confirme l'inversion paracentrique
Révèle une délétion terminale 8p (sonde contrôle 8pter)

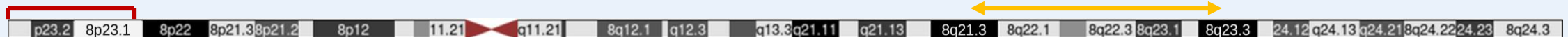
3 ACPA **Délétion terminale 8p** : 11,8 Mb ; 11 gènes OMIM Morbid



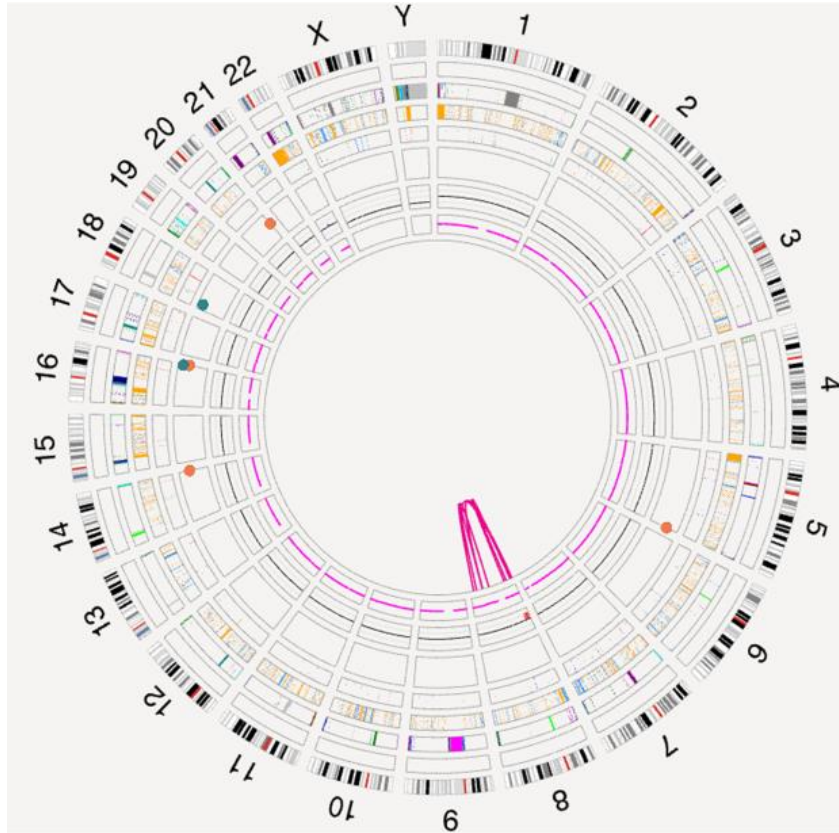
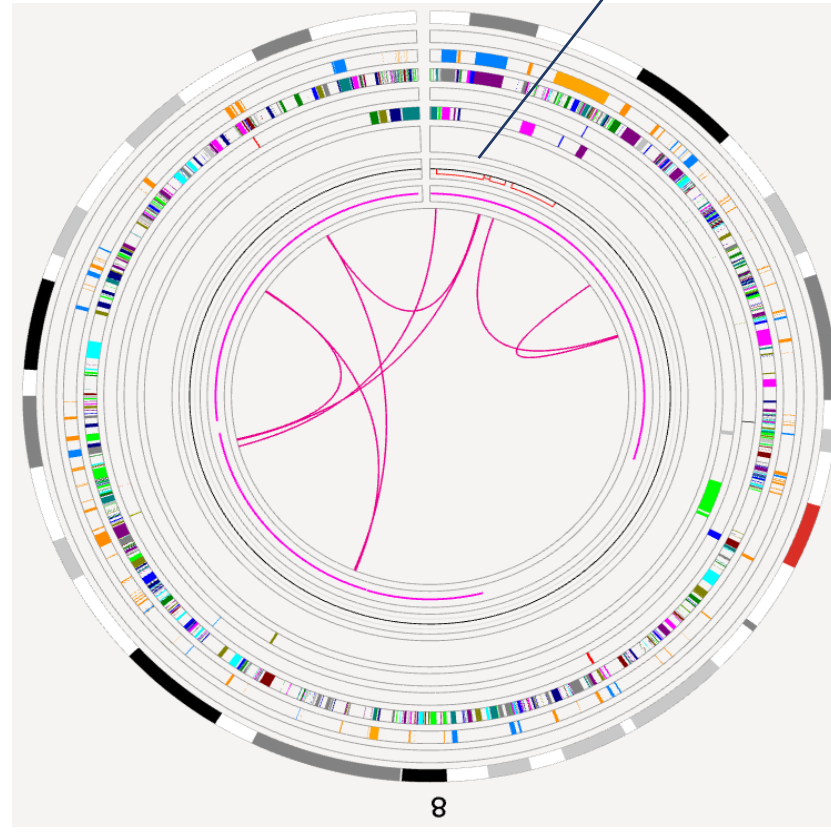
Synthèse : chromosome 8

Délétion terminale 8p (11,8 Mb)

Inversion paracentrique (q21.3q23)



Chromothripsis



Un chromosome brisé en éclats, puis recollé au hasard

Chromosome intact



Fragmentation (un seul événement)



Réassemblage aléatoire



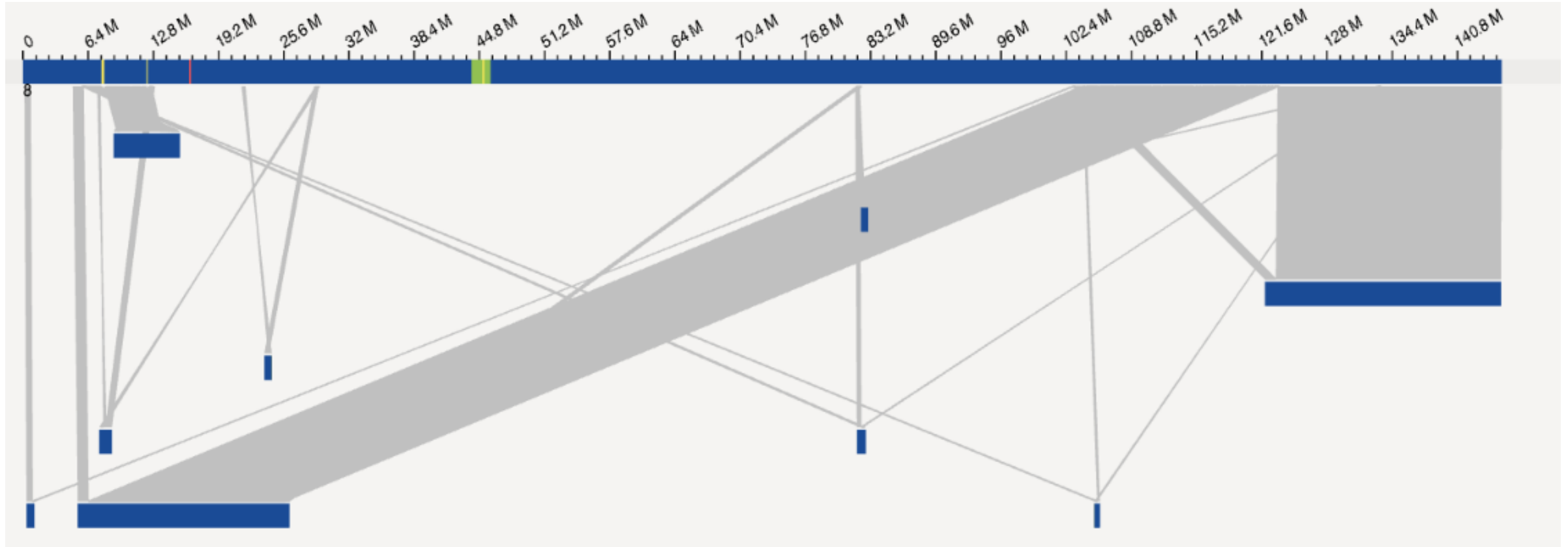
inversé

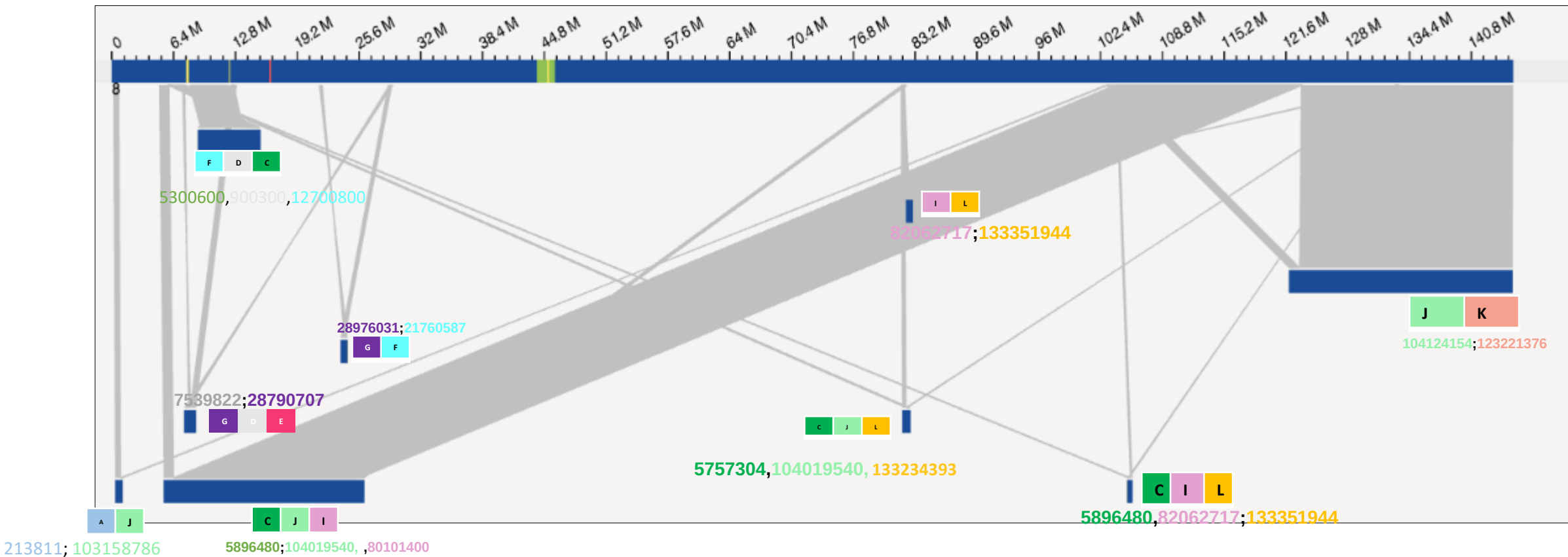


Chromothripsis. (du grec *thripsis*, « mise en pièces ») Décrit d'abord dans les cancers (Stephens *et al.*, *Cell* 2011), il existe aussi à l'état constitutionnel.

Ce que nous avons interprété comme deux anomalies indépendantes, une inversion paracentrique et une délétion terminale, correspond en réalité à un seul événement de **chromothripsis**.

chromothripsis





Deux indications où le caryotype reste l'examen de référence

INDICATIONS



Fausses couches
spontanées à
répétition



Échecs
d'implantation



EXAMEN DE RÉFÉRENCE



Caryotype du couple

5 à 10 Mb

de résolution



QUESTION



**Une technique
plus résolutive
augmenterait-elle
le rendement
diagnostique ?**

Les deux étiologies chromosomiques des Fausses couches spontanées à répétition et échecs d'implantation

Aneuploïdie embryonnaire

Erreurs de ségrégation méiotique, surtout

Fréquence croissante avec l'âge

Événement sporadique

On ne peut pas explorer ça par le
caryotype du couple

Déséquilibre d'un remaniement équilibré

Recherche d'une anomalie équilibrée

2 à 5 %

Chez les couples avec FCS ou échecs
d'implantation

Soit un risque 5 à 10 fois
supérieur à celui de la
population générale

VS

0,5 %

en population générale

Application en routine

Pour chaque couple

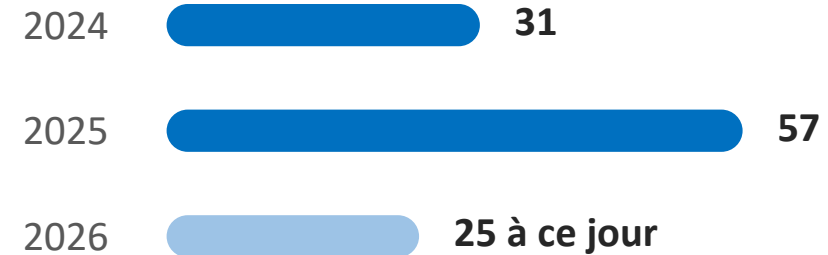
Cartographie optique
du génome

+

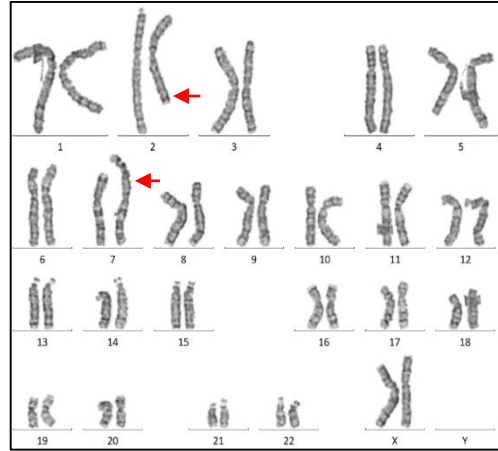
2 métaphases
caryotypées

113

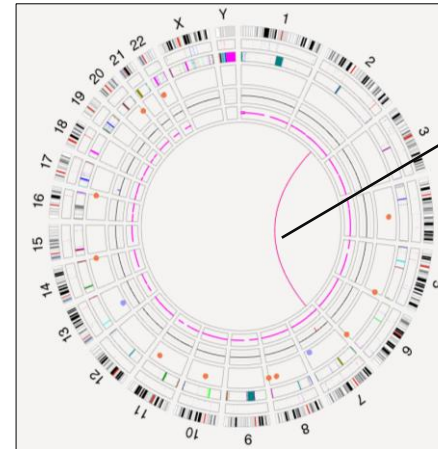
couples inclus depuis avril 2024



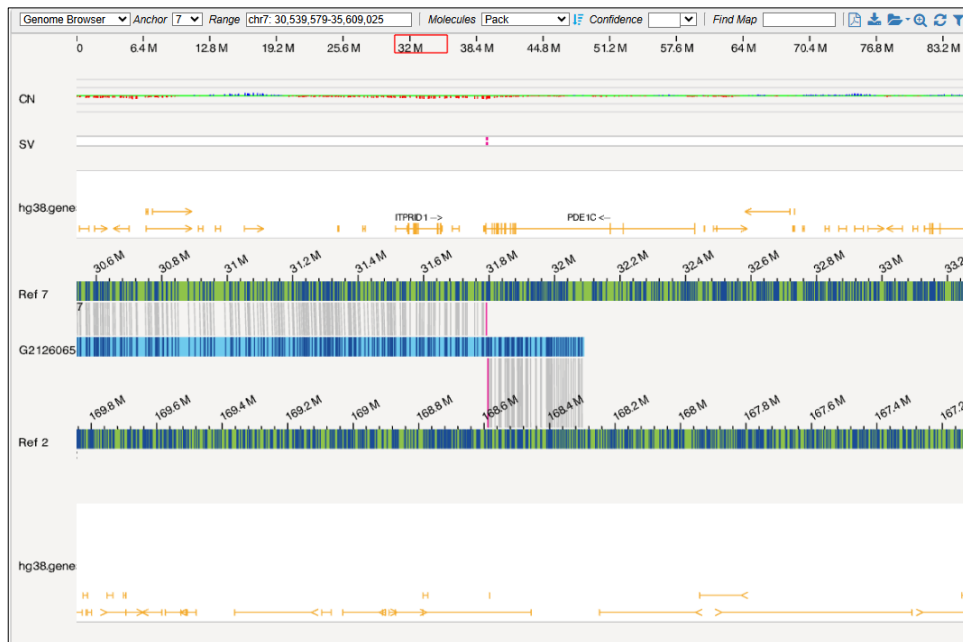
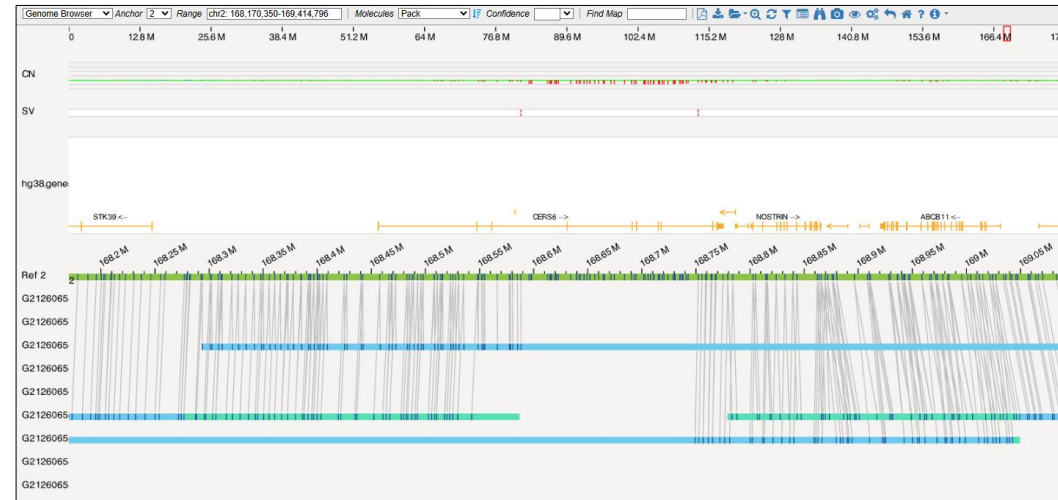
Echec d'implantation



46,XX,t(2;7)(q24;p14)



Type:	translocations
Position (bp):	chr2:168 752 139 chr7:31 795 036
Orientation:	+/-
Confidence:	0.78
Map Id:	371
Smap Id:	1364
Zygosity:	heterozygous
AOH/LOH:	-1.000
VAF:	0.45
Self Molecule Count:	32
% Control Sample:	0
Overlap Genes:	CERS6,PDE1C
Nearest NonOverlap Genes:	CERS6-AS1



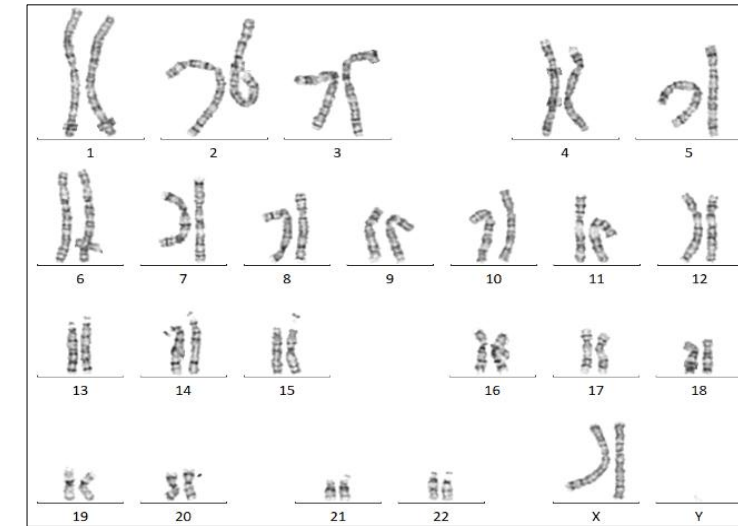
Délétion d'environ 300 kb emportant les exons 4 à 8 du gène *CERS6*
confirmée par PCR quantitative

Ce gène est largement exprimé, mais aucune pathologie ne lui est associée à ce jour, et aucun rôle dans l'implantation n'a été décrit.

1-faux positif de la cartographie optique

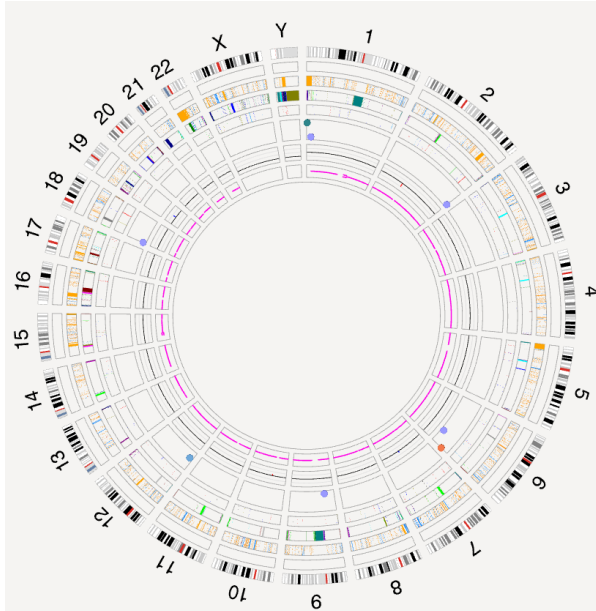


Cartographie optique : **ogm[GRCh38] t(2;9)(q14.1;p24.3)**

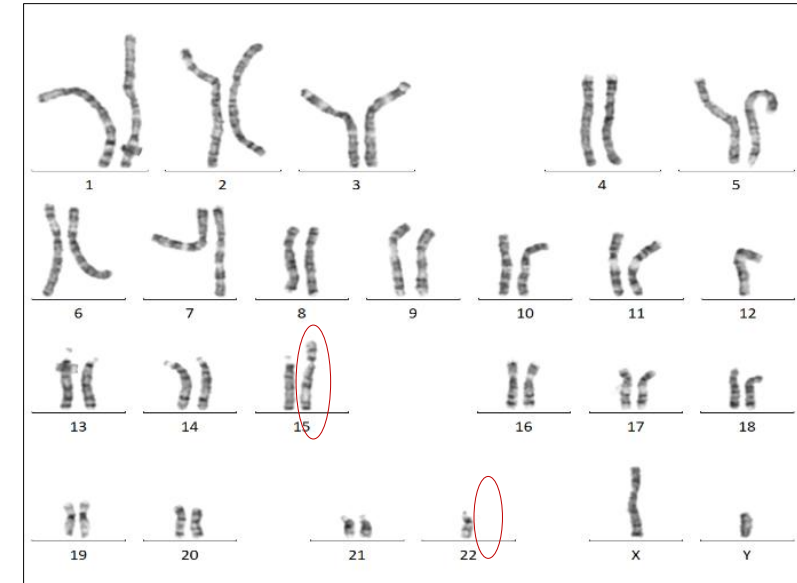


Caryotype : 46,XX

1-faux négatif de la cartographie optique



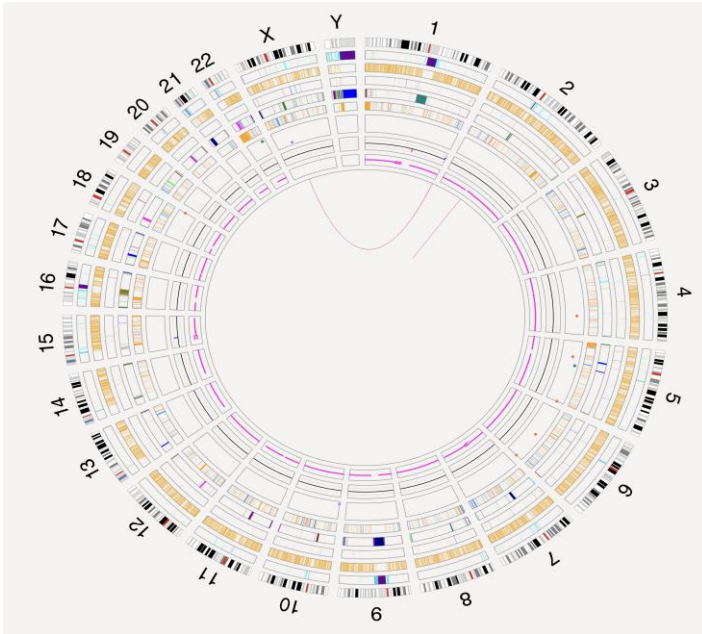
Cartographie optique :
ogm[GRCh38] (X,Y)x1



Caryotype :
45,XY,der(15;22)(q10;q10)

→ L'importance de garder l'analyse de deux métaphases !

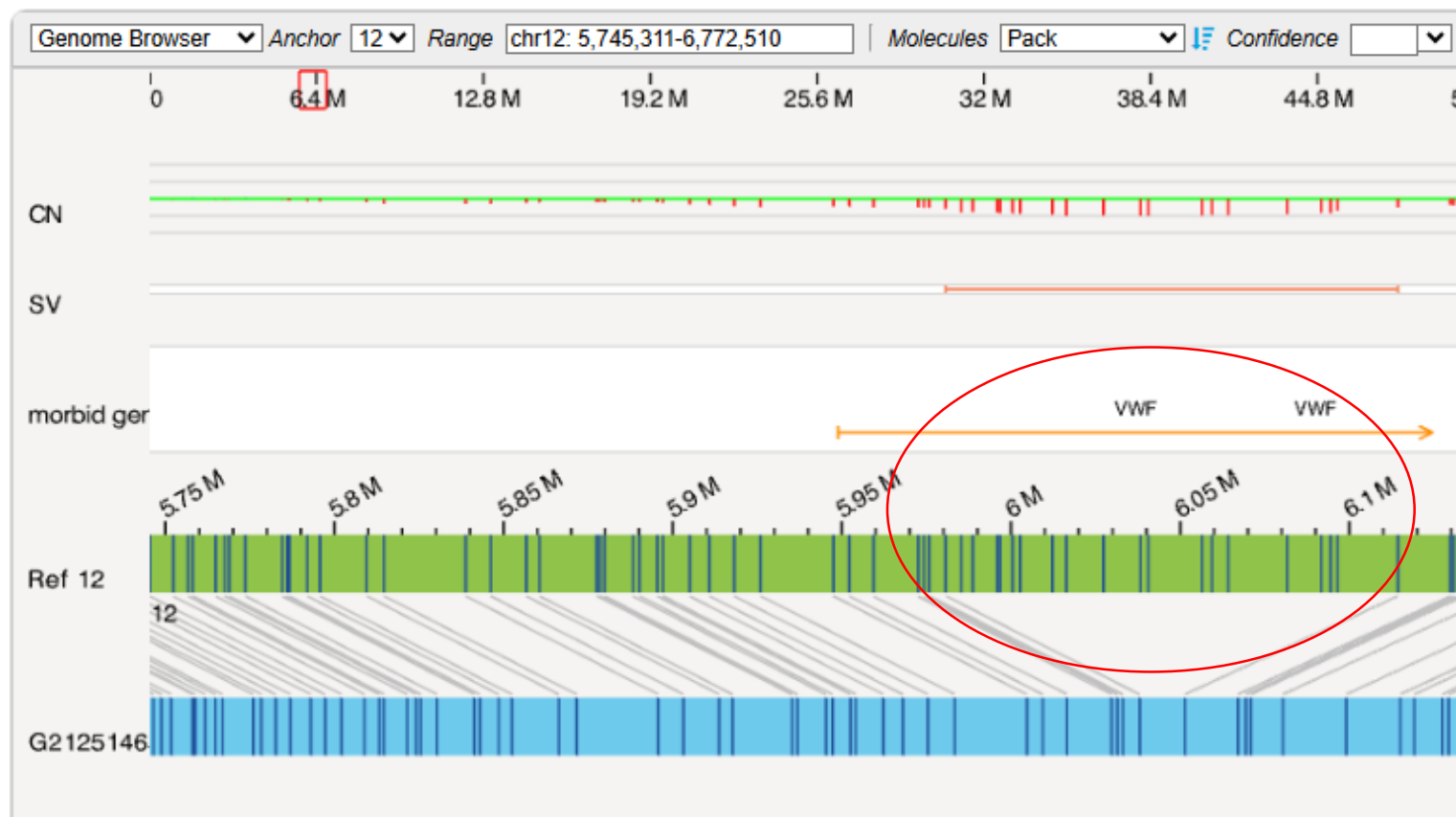
Données additionnelles : Micro-remaniements < résolution du caryotype



- Insertion d'un segment de 200 Kb du 1q44 en Xp11.23 qui interromp le gène **CLCN5**
 - Ce gène code pour un échangeur chlorure/proton exprimé essentiellement dans le tubule proximal rénal. Ses variants perte de fonction sont responsables d'une tubulopathie.
 - À ce jour, aucun rôle de **CLCN5** dans l'implantation embryonnaire n'est décrit.
 - Par ailleurs, le déséquilibre possible dans les gamètes, un gain ou une perte de 200 kb de 1q44, paraît trop limité pour expliquer à lui seul ces EI.
- un variant de signification inconnue 'VOUS'

Données additionnelles : Micro-remaniements < résolution du caryotype

Données incidentes



délétion de 120 kilobases en 12p13.31
les exons 4 à 42 du gène *VWF*
impliqué dans la maladie de Willebrand

Résultats

Variants additionnels détectés par l'OGM

Anomalies rendues

2024

31 couples

1. Insertion en 16p13.3 interrompant le gène *PKD1* : **VOUS**

- **45,XY,der(15;22)(q10;q10)** : détectée uniquement par les deux métaphases
- **46,XY,t(6;16)(p23;q23.1)** : détectée par les deux méthodes, mieux caractérisée par l'OGM

2025

57 couples

1. Délétion de l'exon 34 du gène *ULK4* en 3p22.1 : **VOUS**
2. Délétion hétérozygote du gène *DPY19L2* : **VOUS**
3. Délétion hétérozygote du gène *EPCAM* : **VOUS**
4. Duplication inversée dans le gène *GGA1* (gène non morbide dans OMIM) : **VOUS**
5. Délétion partielle du gène *RBMV1A* : **VOUS**
6. Délétion intragénique de *STK3* (impliqué dans la dynamique de l'endothélium utérin) : **VOUS**
7. Délétion de l'exon 2 du gène *SOX6* : **VOUS**
8. Duplication de 560 kb en 19q : **VOUS**
9. Délétion de 125 kb en 5q emportant *SLCO4C1* : **VOUS**
10. Gène *PSEN1* : **donnée incidente**
11. Délétion de 34 kb en 10q21 important les premiers exons du gène *CTNNA3* : **VOUS**

- **Délétion de 120 kb en 12p13.31 emportant les exons 4 à 42 de *VWF*** : maladie de Willebrand ; détectée uniquement par l'OGM

2026

25 couples
(en cours)

1. Délétion des exons 2 à 19 du gène *MERTK* (rétinite pigmentaire) : **VOUS**
2. Inversion de 1,6 Mb en 11q12.2 : **VOUS**

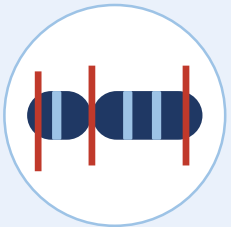
- **46,XX,t(2;7)(q24.3;p14.3)** : l'OGM montre l'interruption d'un gène impliqué dans la surdité en 7p14.3 et une délétion d'environ 300 kb emportant les exons 4 à 8 de *CERS6* (2q24.3)

Aucun lien établi avec les FCS/EI

Conclusion et Perspective

Cartographie optique du génome dans les fausses couches à répétition et les échecs d'implantation

Le caryotype reste indispensable



Points de cassure centromériques et
télomériques

ex. : translocations robertsoniennes



Mosaïques de faible taux

En première intention, dans ces indications

**la cartographie optique ne
remplace pas le caryotype**

et n'apporte pas de gain diagnostique
significatif

Reste à évaluer sa pertinence dans d'autres indications

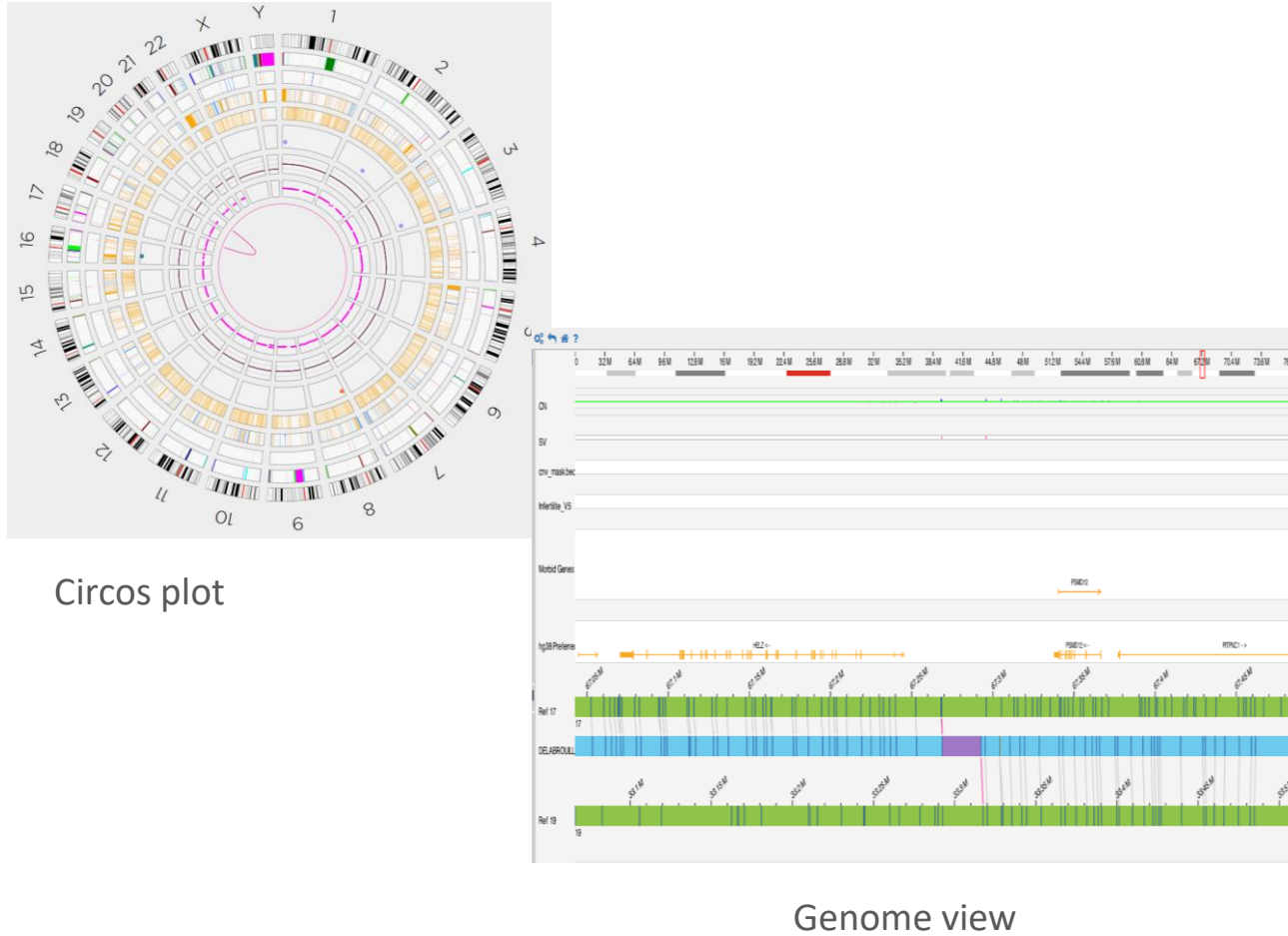


Merci

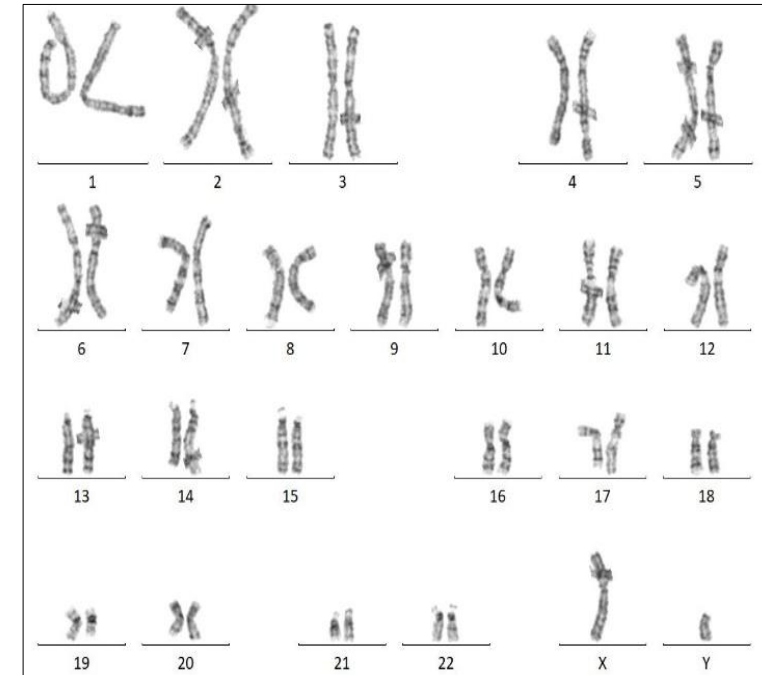
L'ensemble de l'équipe de cytogénétique de l'hôpital Cochin

L'équipe technique de cartographie optique (HEUZE Virginie, CASADEI Severine, QUEST Virginie)

Application en routine

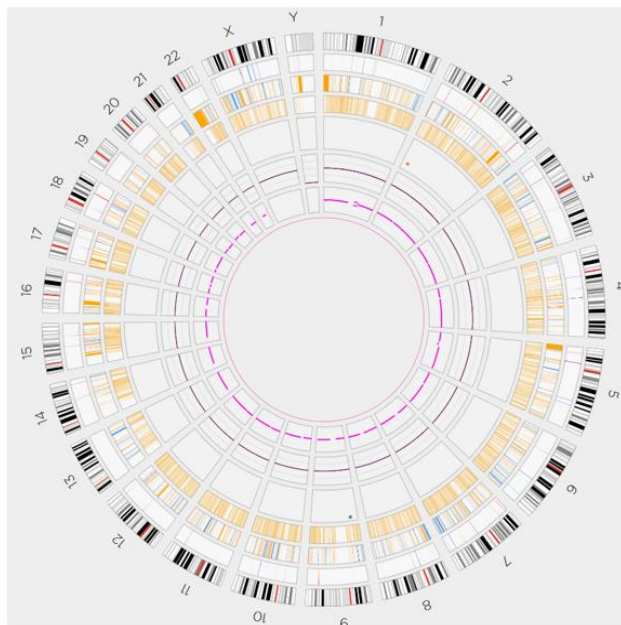


Cartographie optique : **ogm[GRCh38] t(17;19)(q24.2;q13.11)**

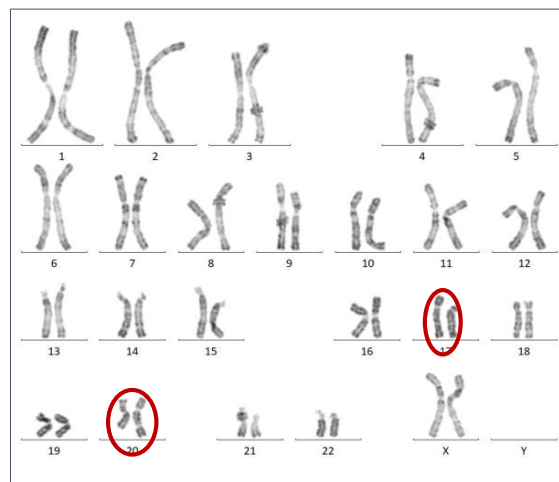


Caryotype : **t(17;19)(q24;q13)**

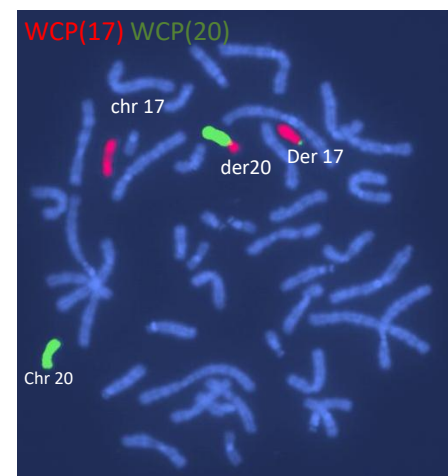
2-faux négatif de la cartographie optique



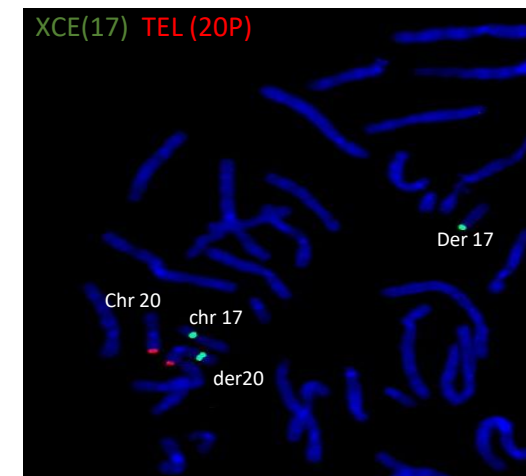
Cartographie optique :
normal



Caryotype
46,XX,t(17;20)(p10;q13.3)



FISH de peinture



*FISH avec sonde centromérique
du chromosome 17*