

# The scoring of chromosomal aberrations following telomere and centromere FISH painting using PNA probes: needs and perspectives

Radhia M'kacher, Bruno Colicchio, Claire Borie, Noufissa Oudrhiri, Nadège Wilhelm, Catherine Ferrapie, Micheline Arnoux, Leonhard Heidingsfelder, Alain Dieterlen, Annelise Bennaceur-Griscelli, Theodore Girinsky, Patrice Carde, Nathalie Auger, Eric Jeandidier



GHR  
Mouvements Sud-Alsace

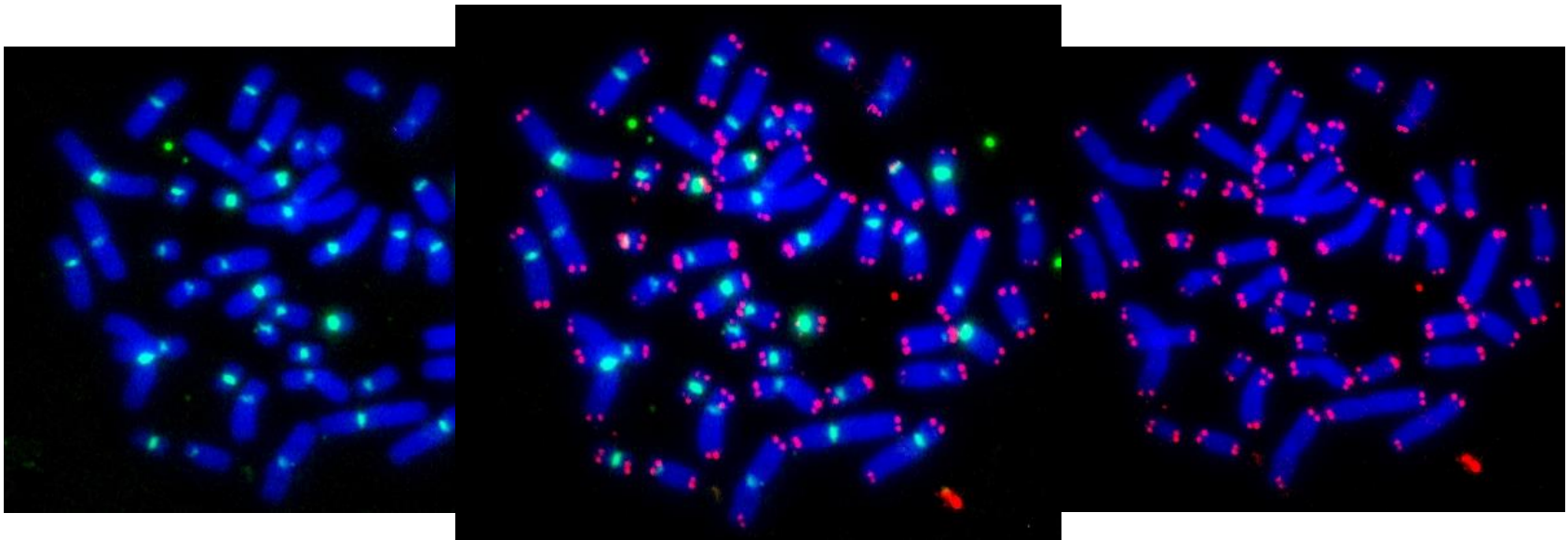


Hôpitaux  
universitaires  
Paris-Sud  
Fondation de la Recherche Médicale  
ASSISTANCE  
PUBLIQUE HÔPITAUX  
DE PARIS

GUSTAVE  
ROUSSY  
CANCER CAMPUS  
GRAND PARIS



# Amélioration de la détection chromosomique après marquage des centromères et des télomères



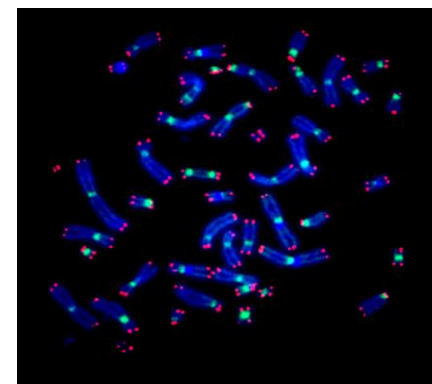
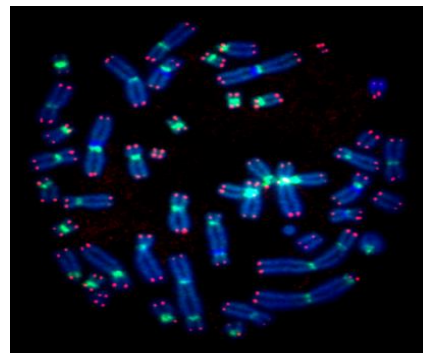
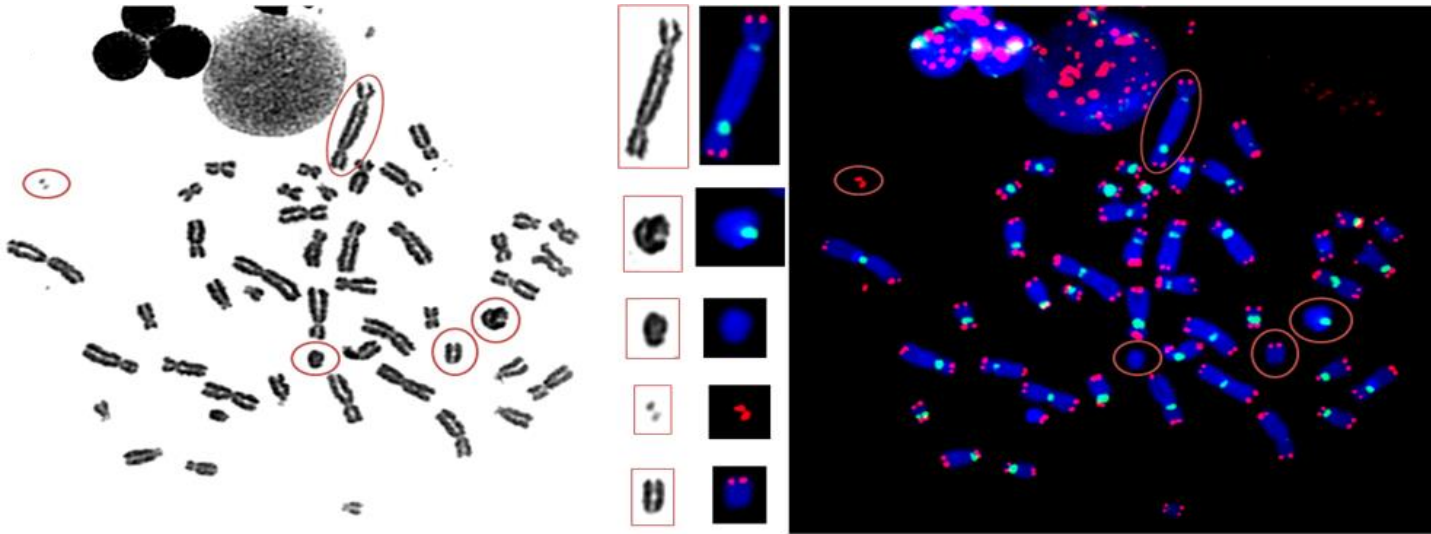
**Centromères** : ségrégation  
des chromosomes

**Télomères** : l'intégrité et  
la stabilité du génome

Indétectable par les techniques de cytogénétiques  
conventionnelles et moléculaires

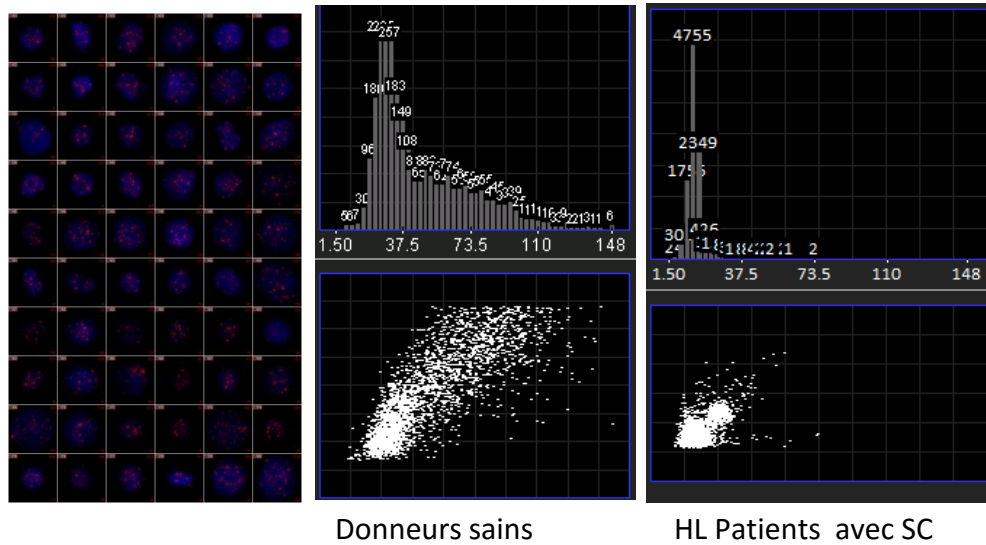
Vers une analyse cytogénétique plus précise et complémentaire des autres approches

# Optimisation du dénombrement des aberrations chromosomiques

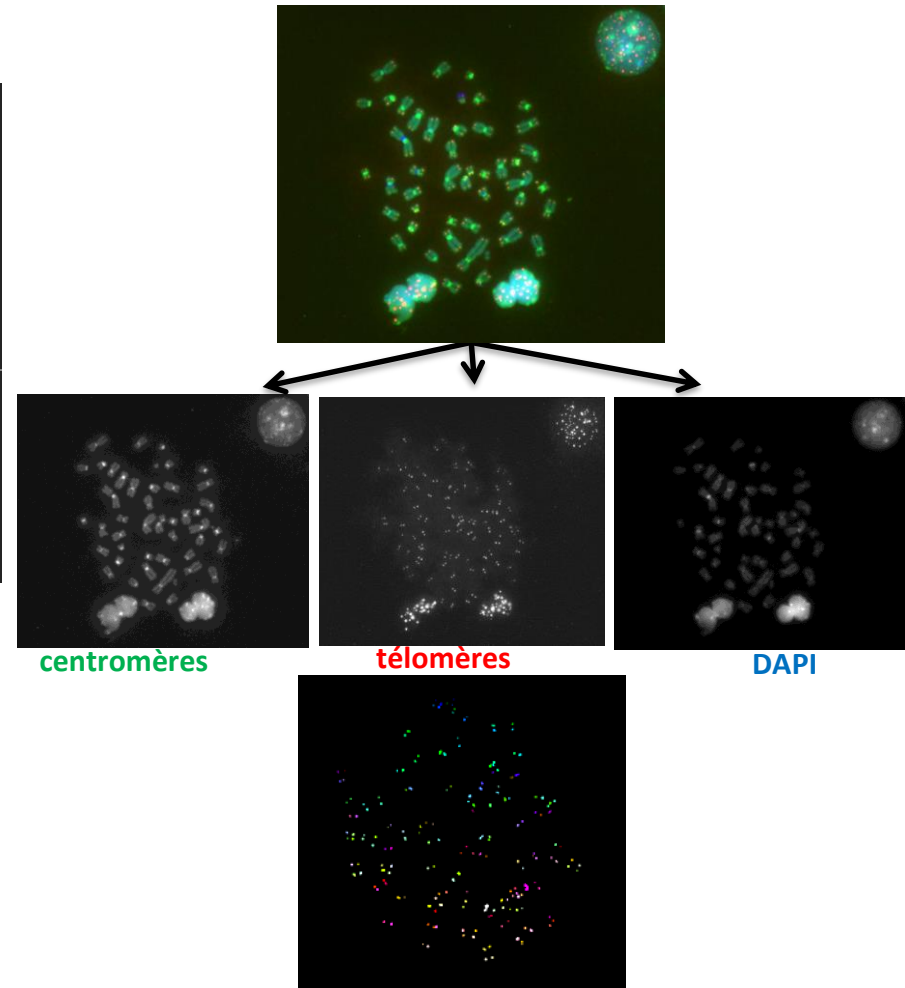


# Optimisation de la quantification des télomères

A- Analyse quantitative de la longueur des télomères sur noyaux par analyse d'images en flux



B- Quantification des télomères sur métaphases

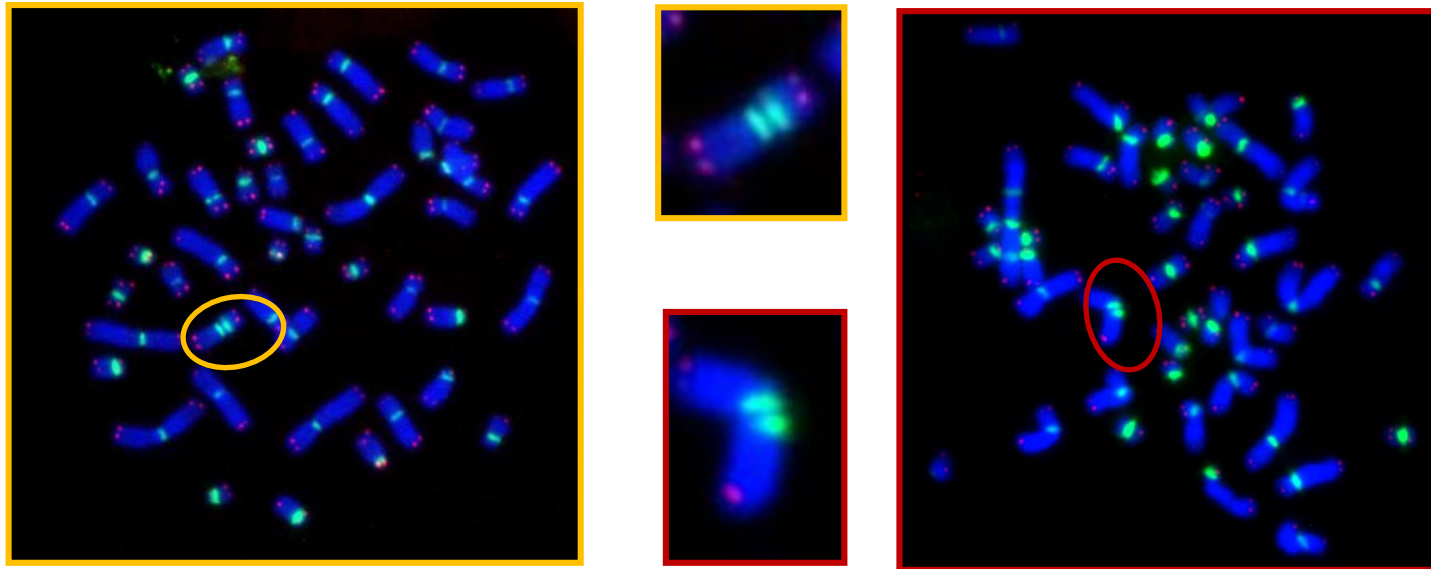


Etude de la variation intercellulaire

# **Application(1): hémopathies malignes**

# Detection de chromosome(s) dicentrique(s) dans les hémopathies malignes

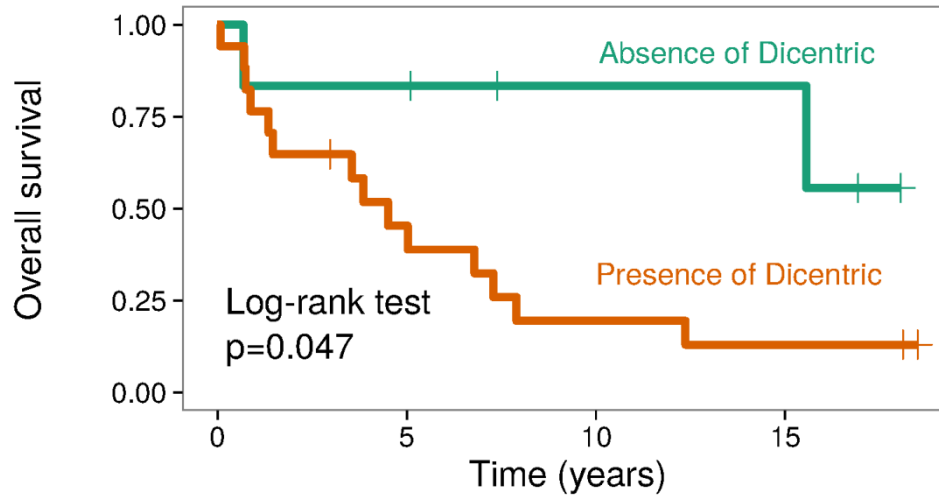
- Chromosome(s) dicentrique(s) → instabilité chromosomique
- Les chromosomes dicentriques retrouvés lors d'hémopathies malignes présentent des configurations spécifiques:
  - Leurs sequences sont très proches l'une de l'autre
  - Les sequences centromériques sont aussi très proches de celles des télomères



- Ces configurations sont inaccessibles aux techniques de cytogénétique conventionnelle ni au caryotype multi-couleurs



# Detection de chromosome(s) dicentrique(s) dans les hémopathies malignes: un marqueur pronostique

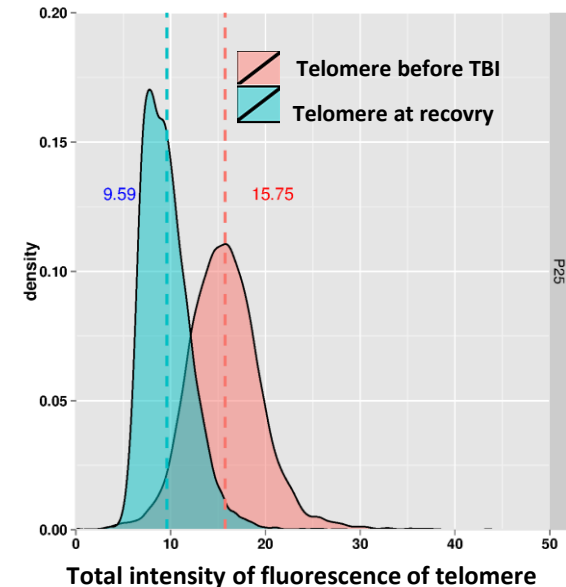
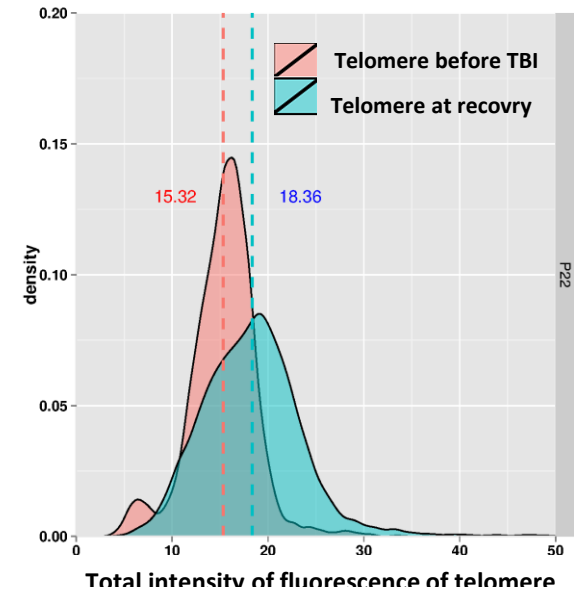


Number at risk by time

	0	5	10	15
Absence of Dicentric	6	5	3	3
Presence of Dicentric	17	7	3	2

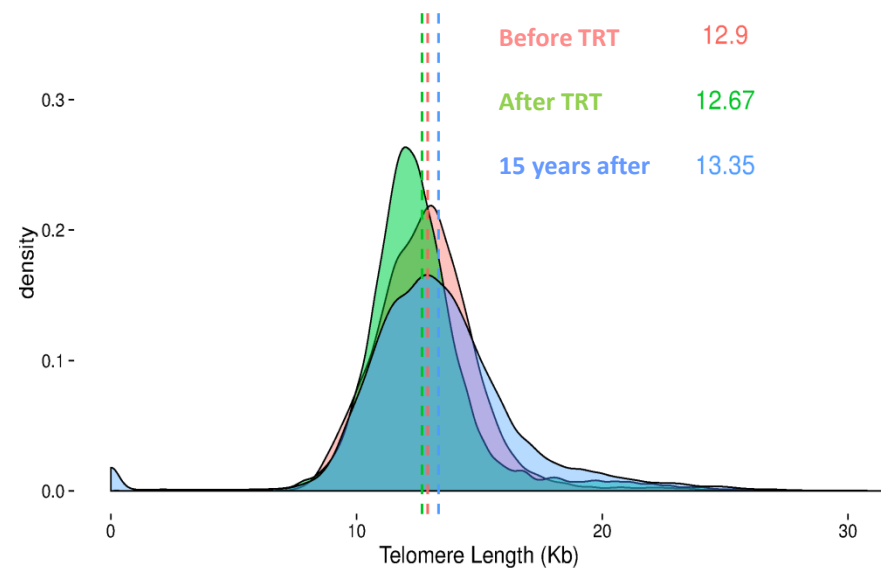
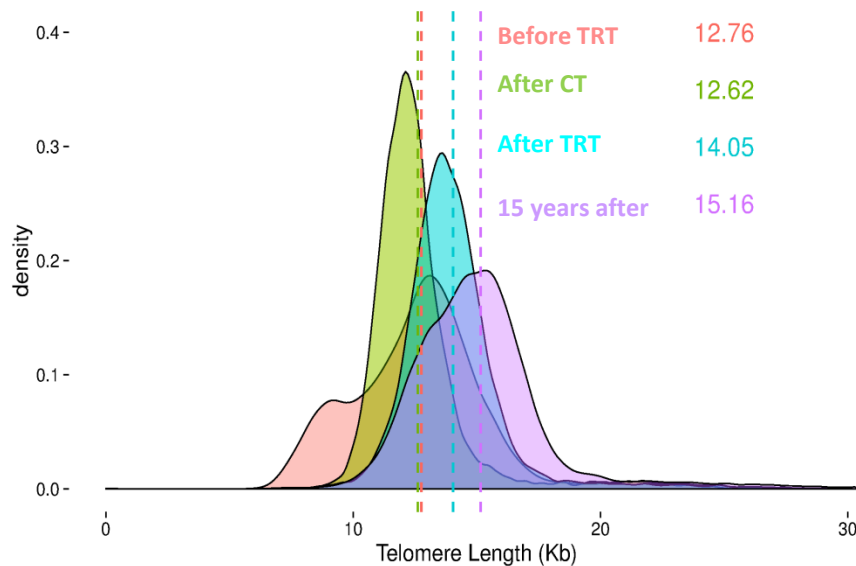
La présence de chromosome(s) dicentrique(s) est associée à

- une survie globale plus courte
- un profil spécifique d'évolution de la longueur des télomères



# Variation de la longueur des télomères et apparition de neoplasmes secondaires chez des patients présentant une de maladie de Hodgkin (MDH)

- Dans une série prospective de 220 patients MDH
- Analyse séquentielle des télomères avant et après traitement

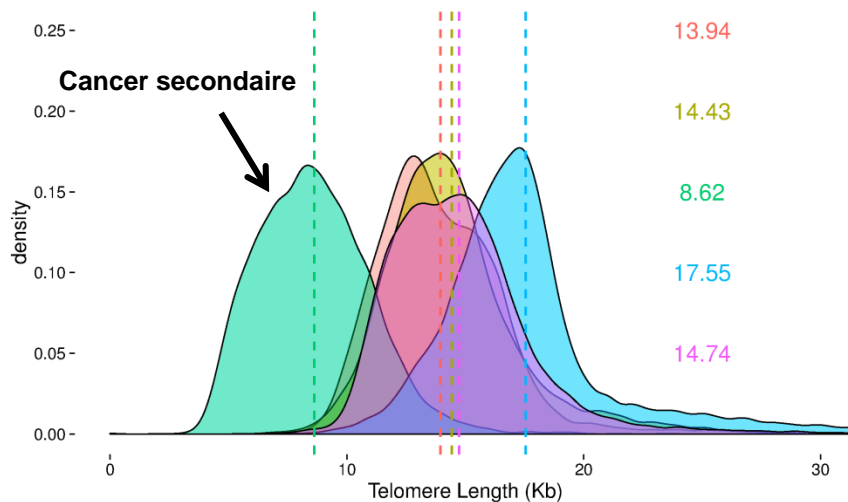


**Le changement (variation) de la longueur des télomères chez les patients indemnes de toute pathologie est très peu important**



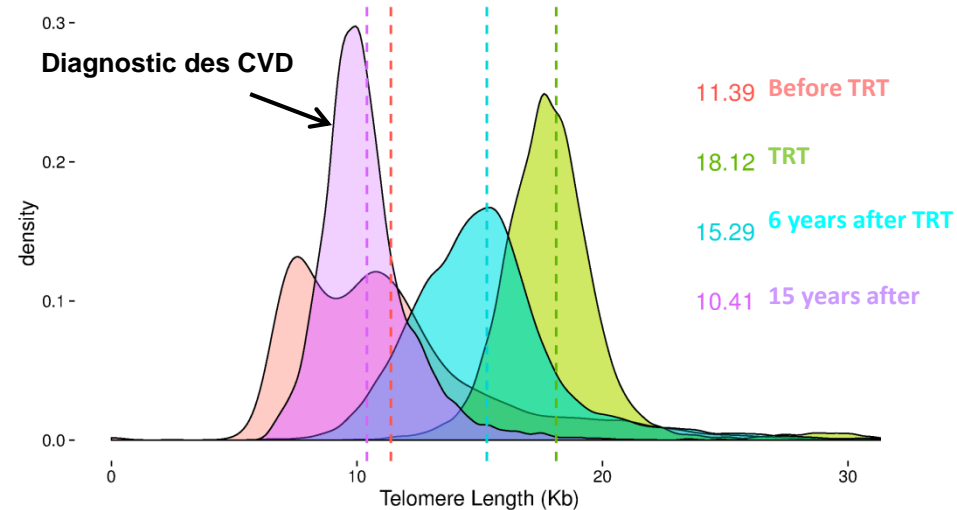
# Quantification séquentielle de la longueur des télomères

## Cancer secondaire



- La présence d'une sous-population avec une réduction drastique de la longueur des télomères avant l'apparition d'un cancer secondaire.

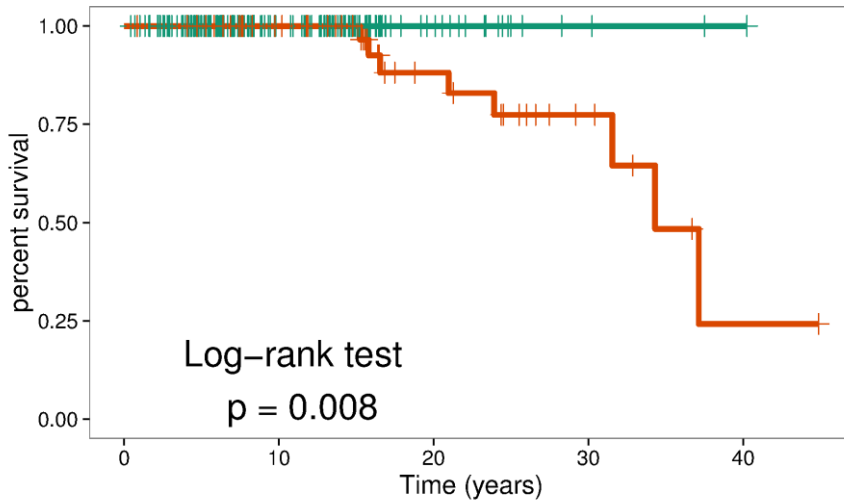
## Patient CVD



- Accélération du raccourcissement télomérique chez les patients présentant des complications cardiovasculaires (CVD) après traitement

# Variation de la longueur des télomères et evolution clinique de patients MDH

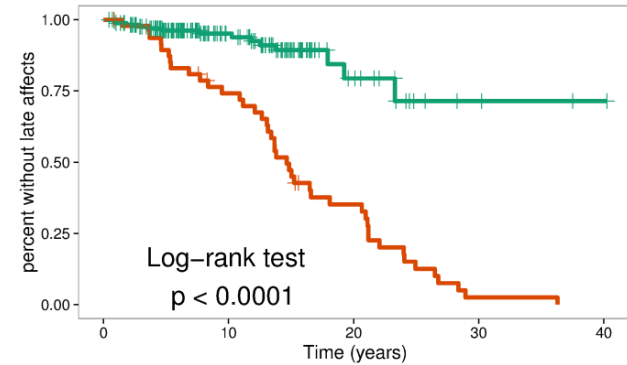
## Survie globale



Number at risk by time

	0	10	20	30	40
1	48	36	17	7	1
0	172	75	16	3	1
	0	10	20	30	40
			Time (years)		

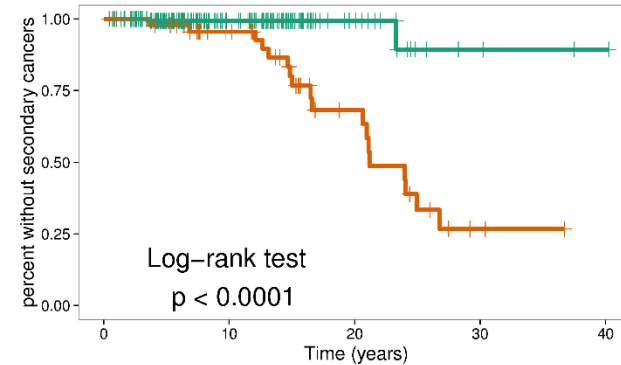
## Complications tardives



Number at risk by time

	0	10	20	30	40
1	48	33	14	1	0
0	172	74	15	3	1
	0	10	20	30	40
			Time (years)		

## Cancer secondaire



Number at risk by time

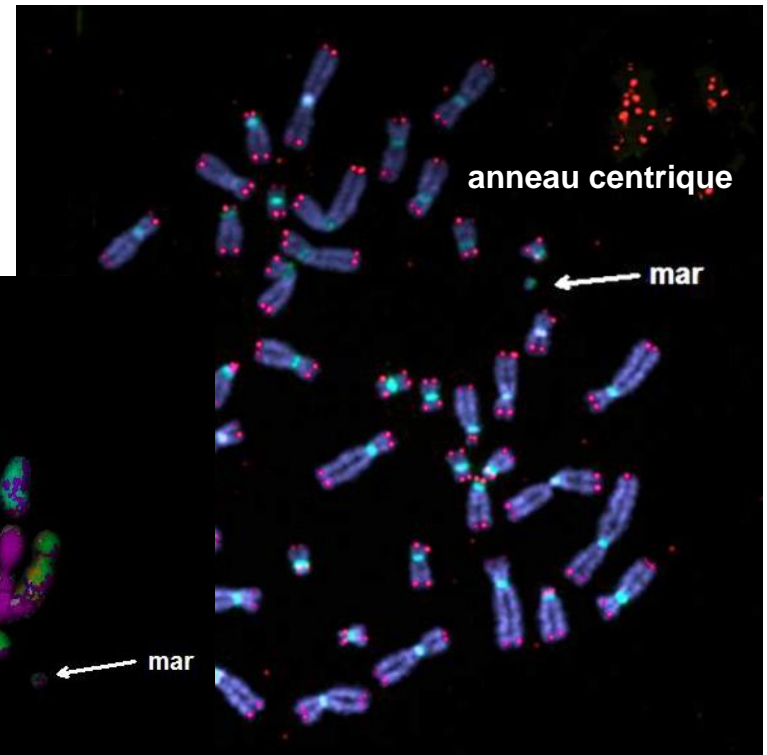
	0	10	20	30	40
1	48	35	14	2	0
0	172	74	16	3	1
	0	10	20	30	40
			Time (years)		

**Application(2): constitutionnel**

# Caractérisation d'un chromosome marqueur surnuméraire

47,XX,+mar

Caryotype multi-couleurs



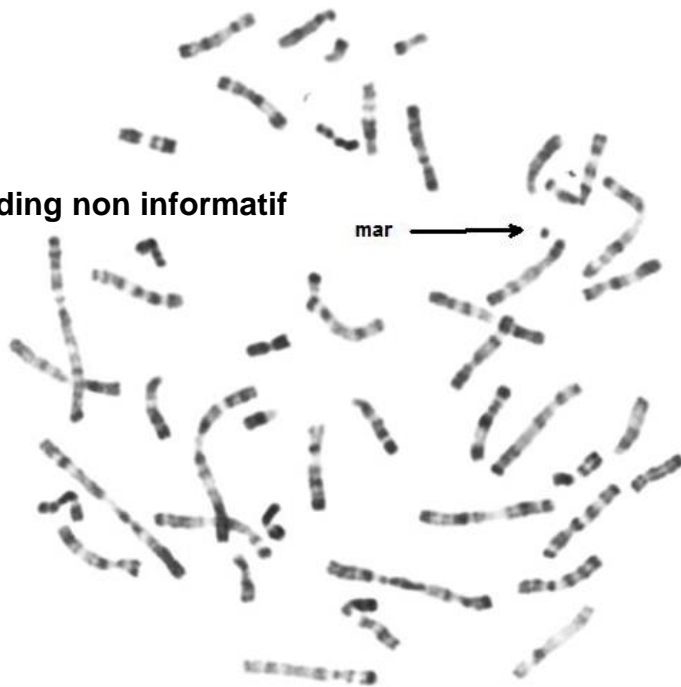
absence de marquage spécifique



Téломères  
Centromères

Cytogénétique conventionnelle  
RBG

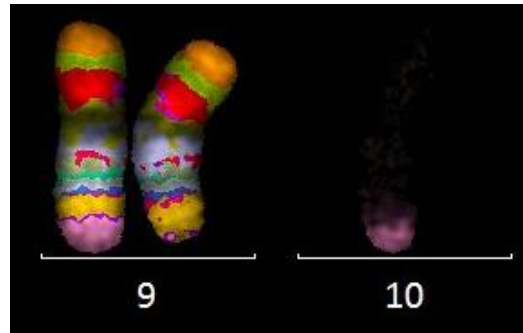
banding non informatif



Le chromosome marqueur surnuméraire correspond à un anneau centrique, essentiellement constitué de séquences centromériques.  
Le phénotype est une infertilité.  
ACPA proposée.

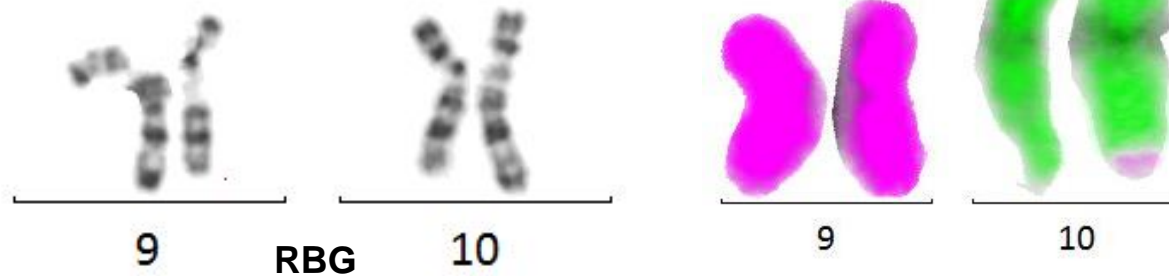
# Exploration d'une translocation réciproque équilibrée détectée en prénatal

t(9;10)(q34;q26.3)



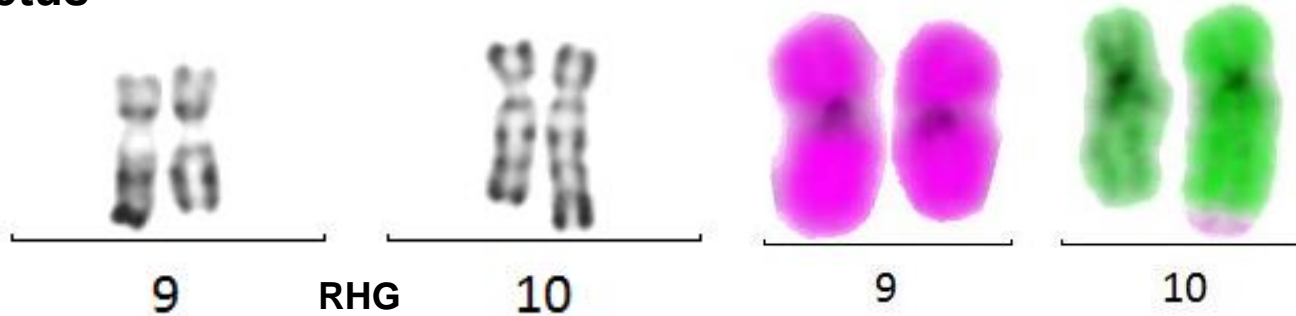
Banding multi-couleurs spécifique du chromosome 9

Père



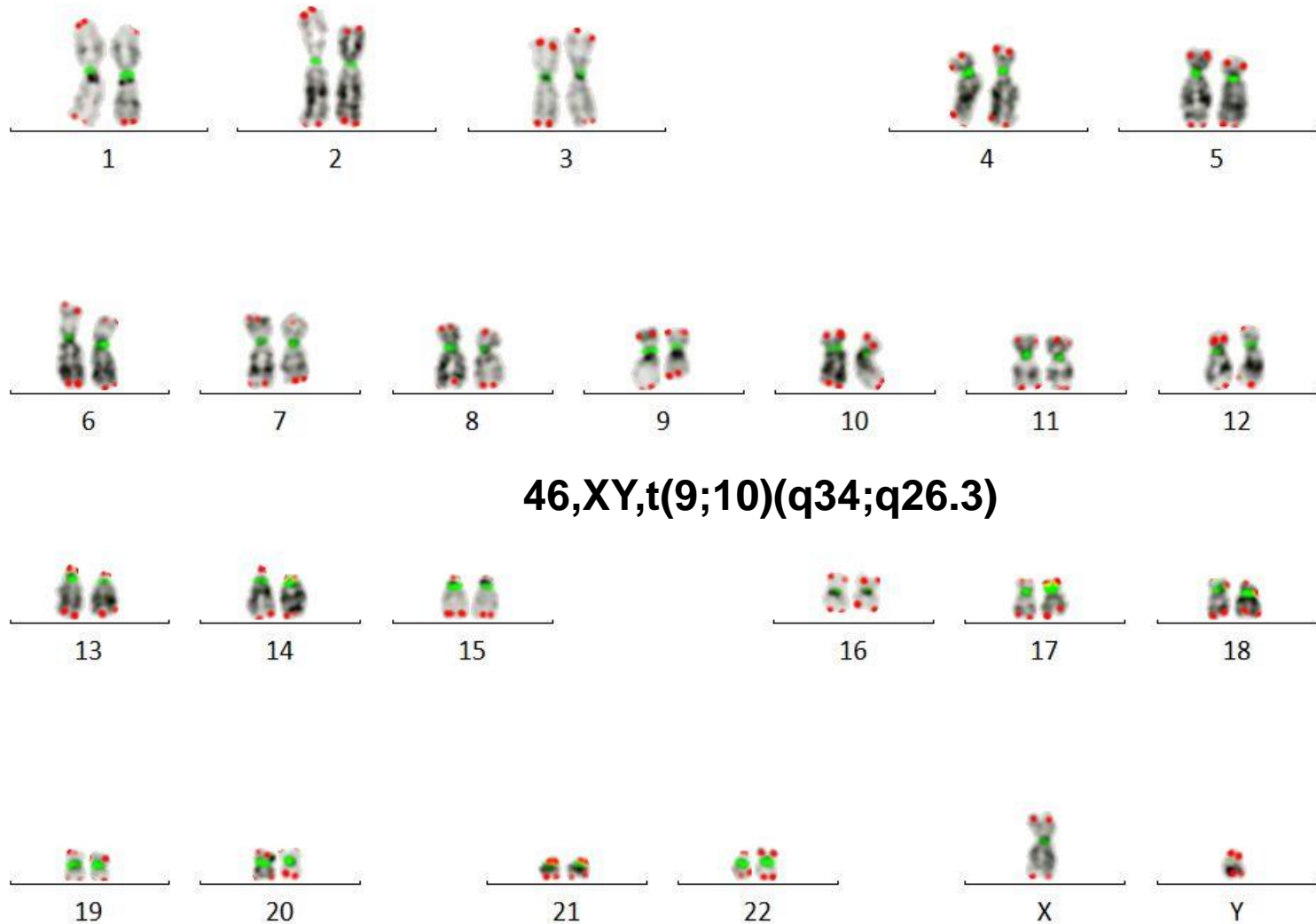
Co-hybridation de sondes de peintures spécifiques des chromosomes 9 et des chromosomes 10

Foetus



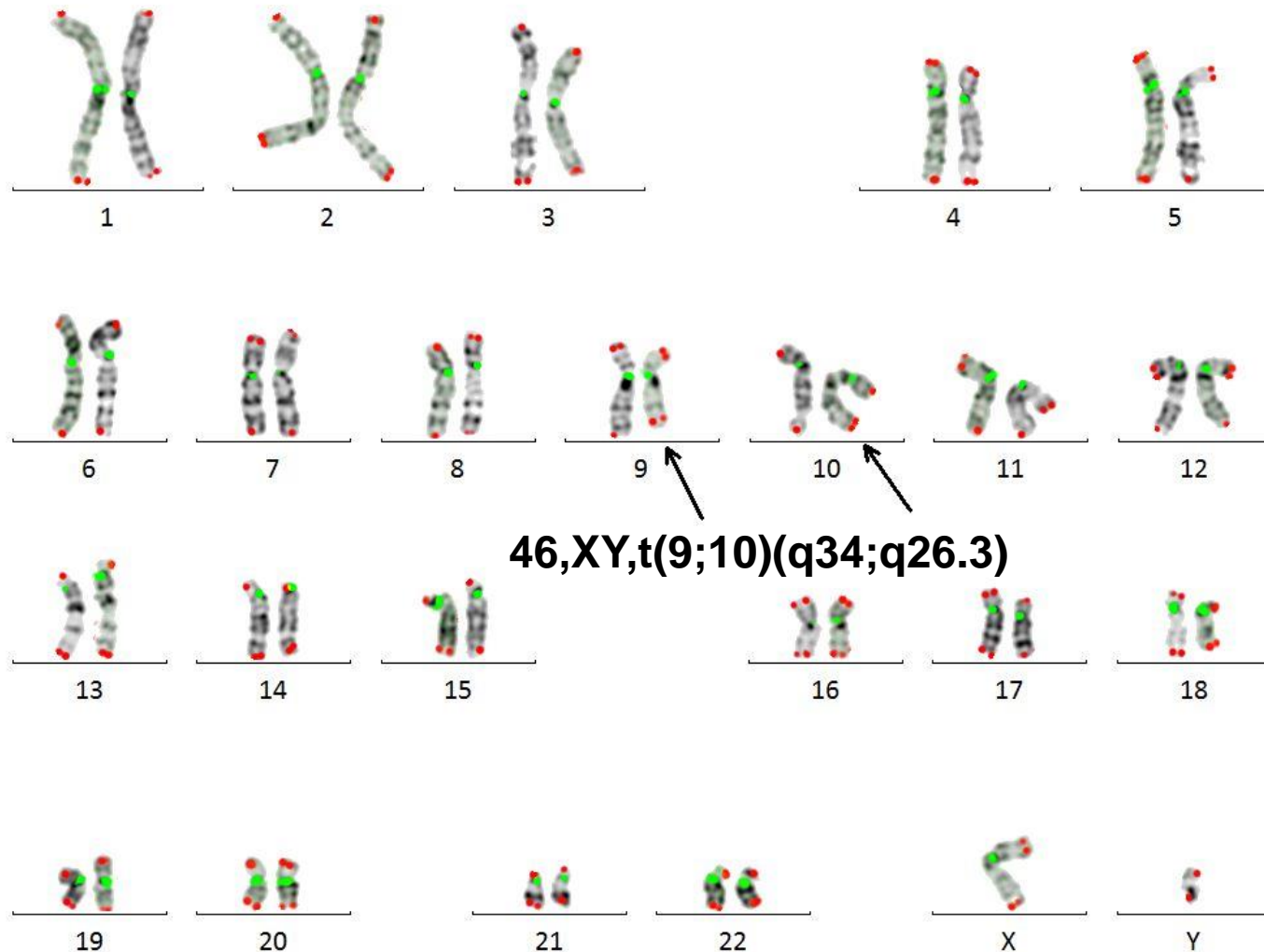
Point de cassure au niveau de la région subtélomérique du 10

# DAPI banding sans aucune étape technique supplémentaire





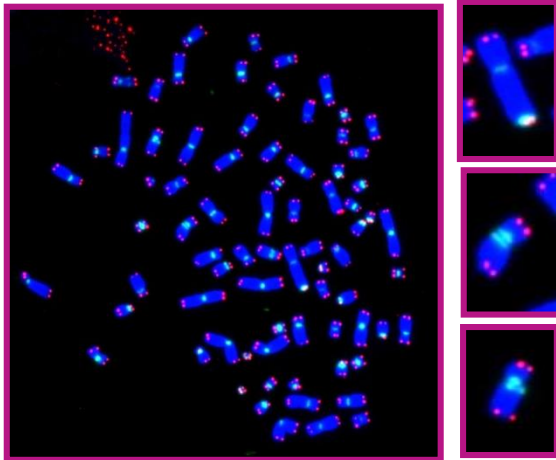
# Dénaturation chromosomique en bandes après marquage des télomères et des centromères (protocole modifié)



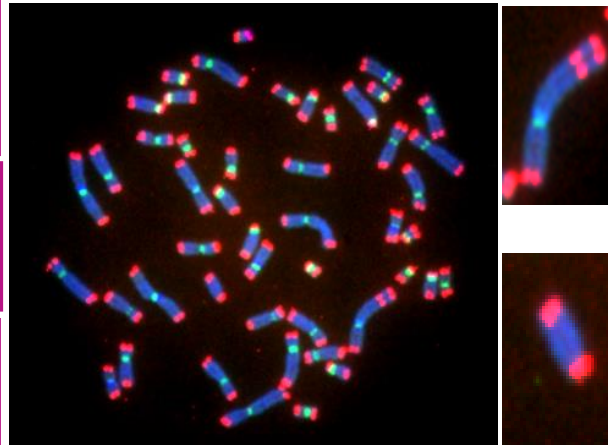
# **Application(3): recherche et validation de méthode**

# Réévaluation du caryotype des lignées cellulaires hématoïétiques

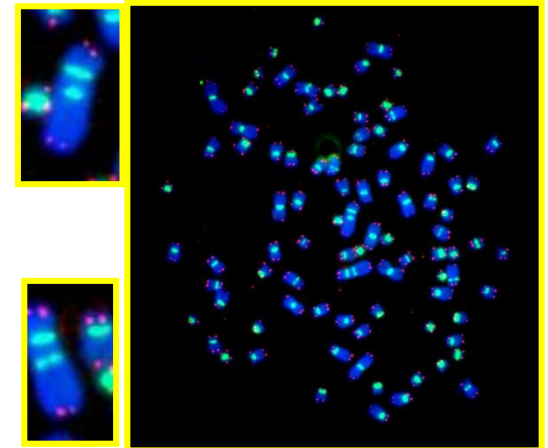
L428 Hodgkin cell line



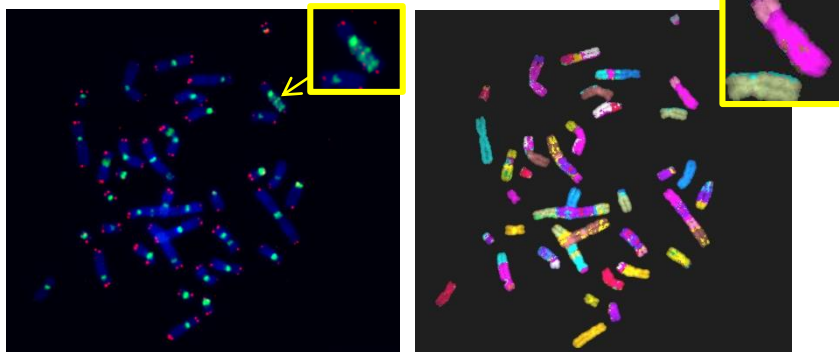
DAUDI-LMP1



BJAB-LPM1 cell line

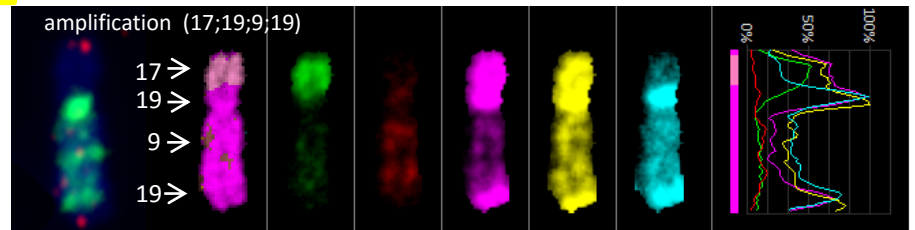


HDLM2-Hodgkin cell line



amplification (17;19;9;19)

17 →  
19 →  
9 →  
19 →



# **Conclusions et perspectives**

**Dénombrement des aberrations chromosomiques somatiques ou constitutionnelles plus simples et plus précises**

**Détection du chromosome dicentrique et sa valeur pronostique**

**Rôle de dysfonctionnement des télomères dans la prise en charge et la surveillance des patients**

**Validation sur une cohorte importante de la valeur de:**

- **dicentrique comme marqueur d'instabilité chromosomique**
- **le dysfonctionnement télomérique dans la surveillance des patients**

# Remerciements



**Laboratoire MIPS**  
**Université de Haute-Alsace Mulhouse**



**GHR**  
Mulhouse Sud-Alsace

**Service de génétique**

