

Cytogénétique en hématologie biologique



*Vous avez quitté la plateforme de France Université Numérique.
Aucune donnée personnelle ne sera récupérée.*

Pour démarrer cette séquence, veuillez cliquer sur "Ecran suivant"



Certaines diapositives facultatives sont signalées par une croix orange : leur contenu est un peu plus complexe et ne sera pas au programme des évaluations.



USPC
Université Sorbonne
Paris Cité

université
**PARIS
DIDEROT**
PARIS 7

 UNIVERSITÉ
**PARIS
DESCARTES**

UNIVERSITÉ **PARIS 13**
NORD

UPEC
Connaissance - Action
UNIVERSITÉ
PARIS-EST CRÉTEIL
VAL DE MARNE



ASSISTANCE
PUBLIQUE  HÔPITAUX
DE PARIS

Hôpitaux Universitaires
**SAINT-LOUIS
LARIBOISIÈRE
FERNAND-WIDAL**

Hôpitaux
Universitaires
 Paris-Seine
Saint-Denis

 HÔPITAUX UNIVERSITAIRES
PARIS CENTRE
Cochin • Pitié-Salpêtrière • Tenon • Bichat
La Colbière • La Pitié-Salpêtrière • Hôtel-Dieu

 HÔPITAUX UNIVERSITAIRES
PARIS NORD VAL DE SEINE
Louis-Mourier

 **Necker**
ENFANTS MALADES

 **hm**
HENRI MONDOR
ALBERT CHENEBIERE - JEFFRE LUPATTELLA
PAUL MICHAEL - GREGOIRE CLAUDE

 Hôpital Universitaire
Robert Debré

 HÔPITAUX UNIVERSITAIRES
PARIS OUEST
Cochin • Pitié-Salpêtrière • Tenon • Bichat
La Colbière • La Pitié-Salpêtrière • Hôtel-Dieu

Cytogénétique en hématologie biologique



Bienvenue !



Cytogénétique en hématologie biologique

Docteur Alexis Talbot
Hématologue
Hôpital Saint Louis
Université Paris Diderot
Avec l'aide du Docteur Stéphanie Mathis
Hémato-biologiste
Hôpital Saint Louis
Université Paris Diderot

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytogénétique en hématologie biologique



Objectif du module

1

A l'issue de ce module, vous serez capable de comprendre comment la cytogénétique intervient dans l'hématologie biologique



La durée de votre formation est estimée à 10 minutes

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

L'étude cytogénétique



Définition de l'étude cytogénétique :



Étude morphologique du matériel chromosomique se présentant sous la forme de chromosomes dans les cellules.

L'étude du caryotype correspond au dénombrement et à l'identification de tous les chromosomes cellules en métaphase : identification des anomalies de **nombre** et anomalies de **structure**.

Technique de l'étude cytogénétique :

Technique de cytogénétique conventionnelle : réalisation du caryotype
(vision globale de l'ensemble des chromosomes)

Technique de cytogénétique moléculaire : techniques d'hybridation in situ en fluorescence
(technique ciblée) : analyse ciblée sur un gène donné

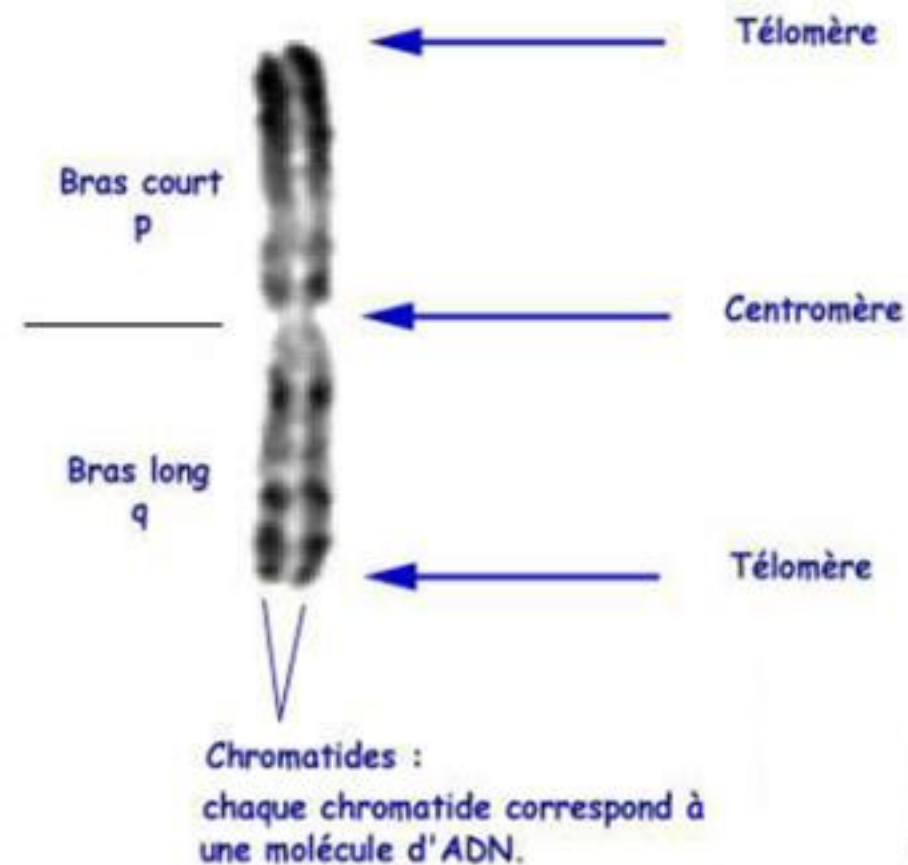
Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Qu'est ce qu'un chromosome?



- Chromosome constitué d'une **molécule d'ADN** associée à de nombreuses protéines
- Les chromosomes servent de support à l'**information génétique**
- Nombre de chromosomes par cellule caractéristique d'une espèce :
 - chez l'homme **46 chromosomes** (2 jeux **haploïdes** de 23 chromosomes)

Aspect morphologique d'un chromosome métaphasique





- Chromosomes visibles pendant une courte période du cycle cellulaire : **division en métaphase**
- Toutes les techniques visent à obtenir un maximum de cellules bloquées à ce stade de métaphase



Prélèvements en hématologie

- Moelle osseuse
- Sang
- Tissu tumoral ou ganglionnaire

Cultures cellulaires



- Stérilité +++ (hotte)
- **Milieu de culture stérile** : milieu synthétique enrichi en sels minéraux, glucose et acides aminés, des antibiotiques, auquel on additionne du sérum de veau foetal
- Temps de culture variable en fonction du type cellulaire et de la quantité de matériel biologique



Sources : Hôpital Saint-Louis

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Sang et moelle : hémopathies malignes



Numérisation cellulaire



Mise en culture en Falcon
+/- mitogènes en fonction
des différentes
pathologies plus
prolifératives
spontanément



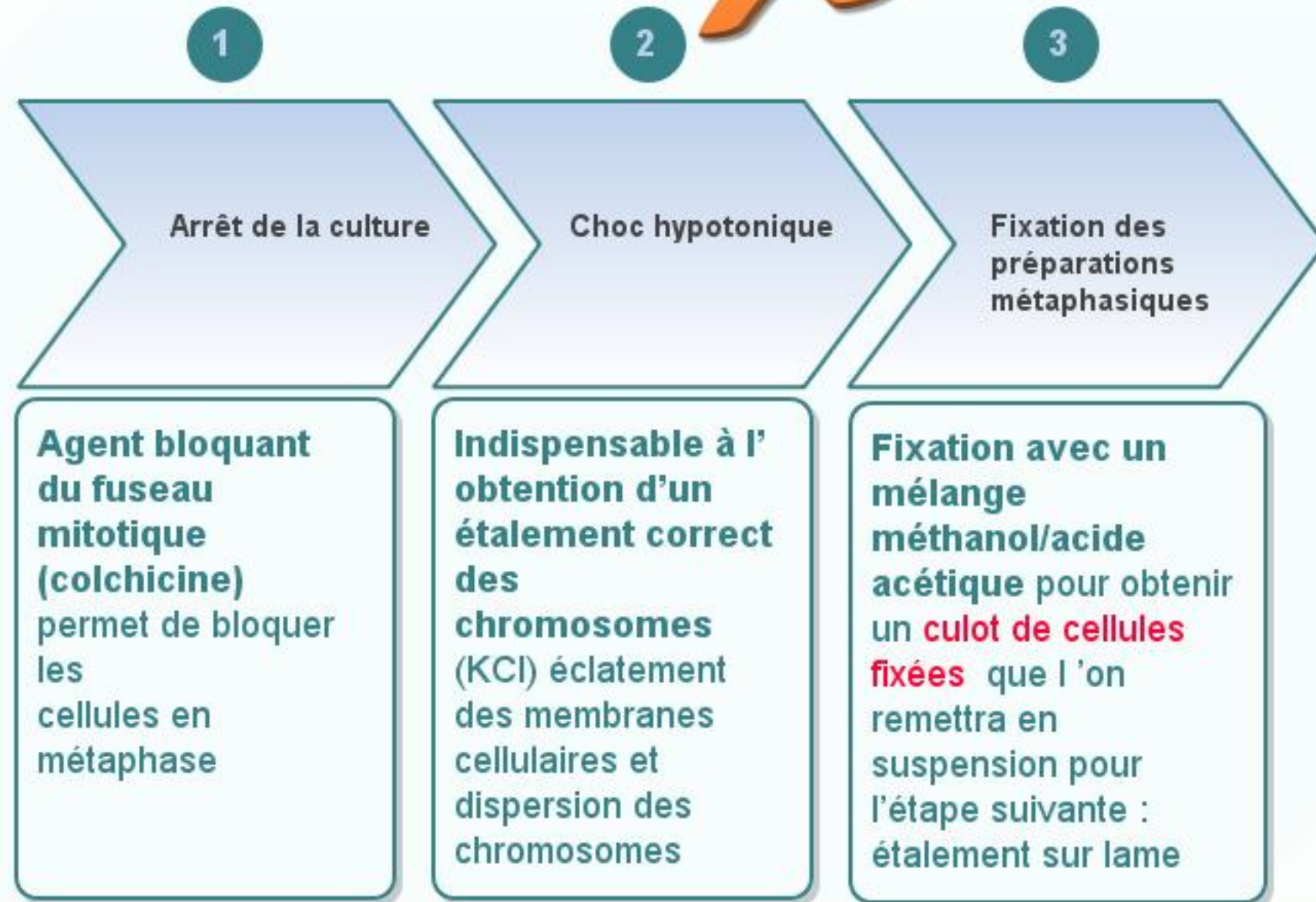
Mise en étuve à 37°C

Cliquez sur le bouton "Suite" pour continuer cet écran.

Comment obtenir les chromosomes à partir de cette culture ?



Source : Hôpital Saint-Louis



Cliquez sur suite pour découvrir l'étape suivante



Etalement des préparations chromosomiques sur lame



L'étalement a pour but d'obtenir des métaphases avec

des chromosomes **bien séparés et non réfringents**

→ Faire tomber une ou 2 gouttes de suspension cellulaire sur une lame



→ Etape dépendantes des conditions atmosphériques
enceinte thermostable



Sources : Hôpital Saint-Louis

Technique de coloration des chromosomes métaphasiques



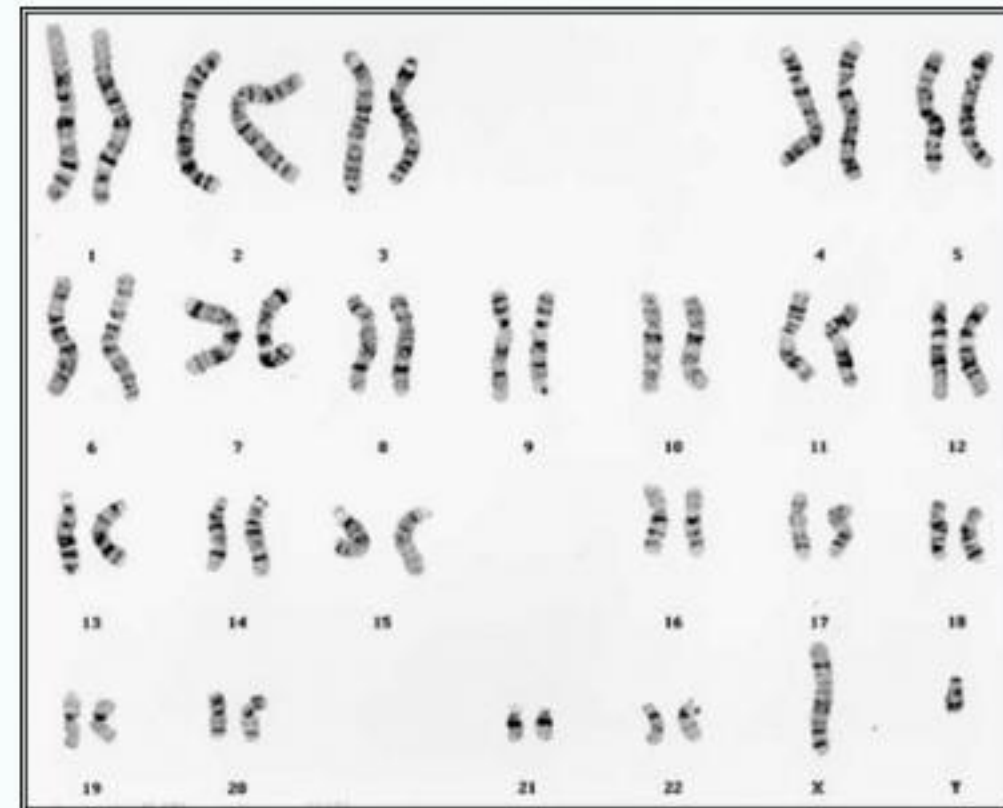
Bandes R ou G

R : Coloration au Giemsa des lames après **dénaturation thermique** en milieu salin à pH déterminé

G : Coloration au Giemsa après **dénaturation à la trypsine**



Bandes R



Bandes G

Sources : Hôpital Saint-Louis

Observation au microscope



- Visualisation des lames au microscope optique
- 20 métaphases au moins sont saisies et analysées dans un logiciel d'analyse de caryotype



Sources : Hôpital Saint-Louis

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Classement du caryotype



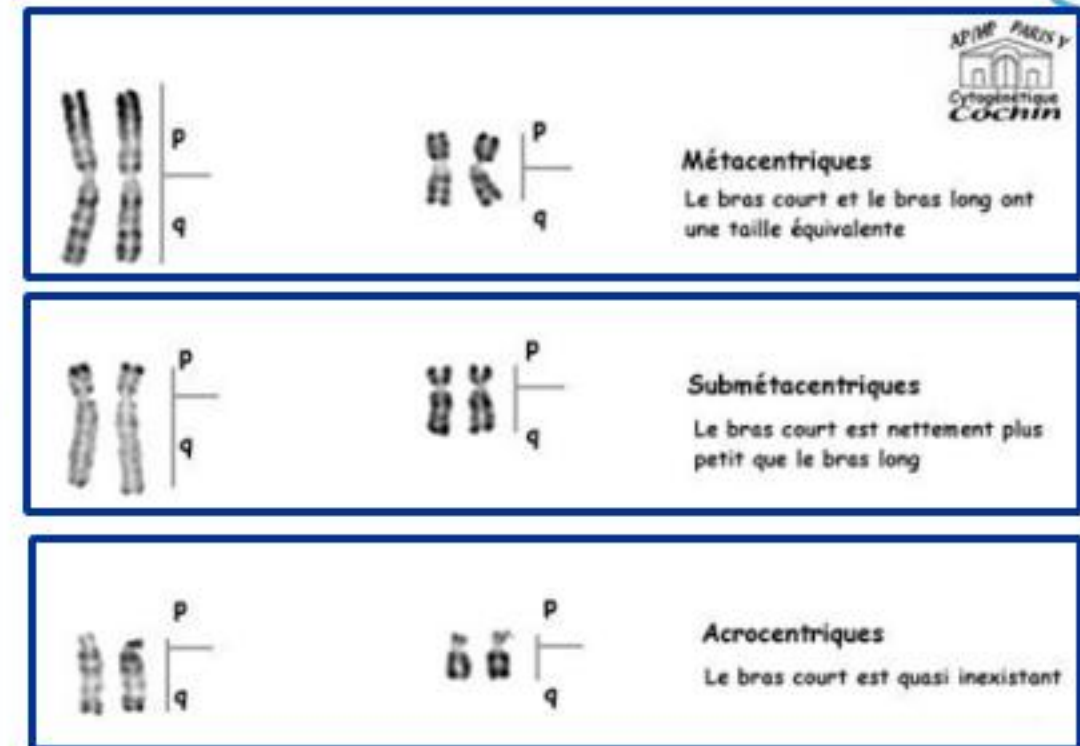
Caryotype humain : 46 chromosomes

- Autosomes : 1 au 22
- Gonosomes : X et Y

- femme : 46,XX
- homme : 46,XY

- Index centromérique rapport $p/(p+q)$ →

- Reconnaissance après marquage de chaque chromosome dont le nombre et la répartition des bandes sont spécifiques à chaque paire chromosomique



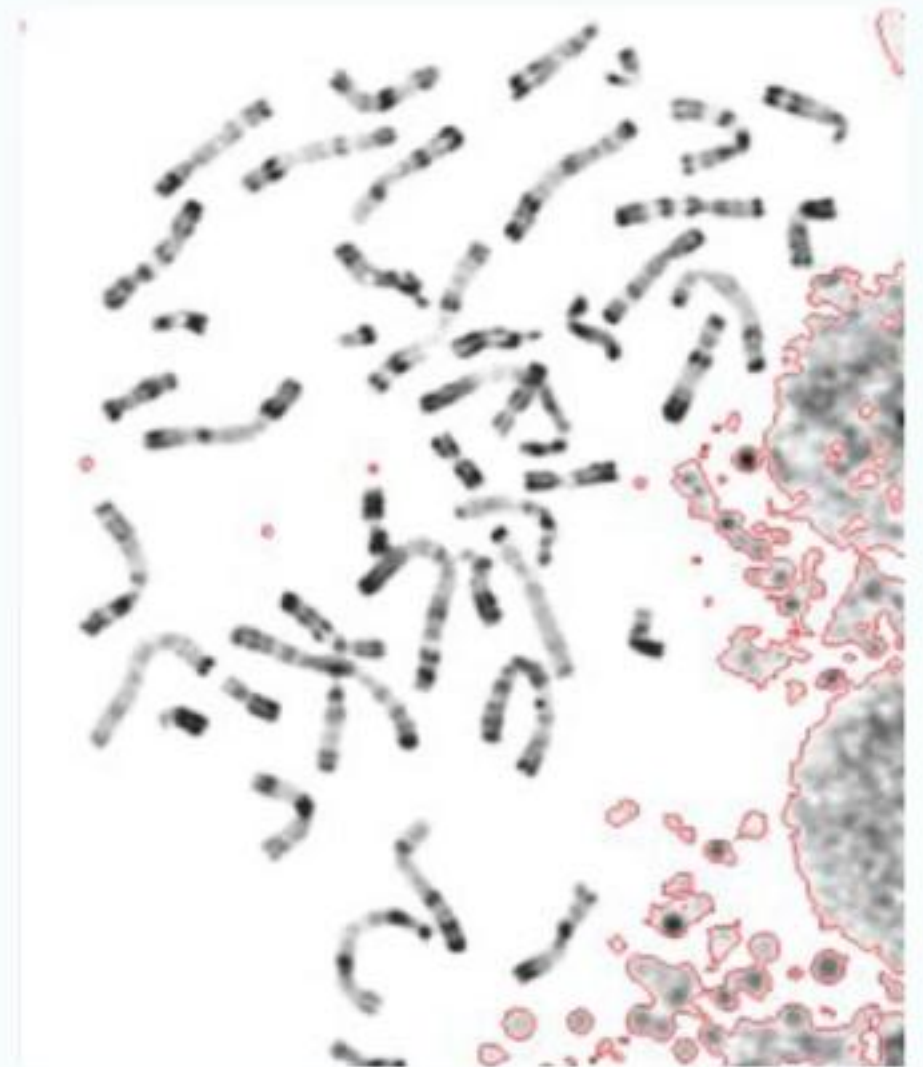
Aspects morphologiques des chromosomes en fonction de l'indice centromérique

Nomenclature internationale (ISCN) définit pour chaque chromosome des régions chromosomiques qui comporte des bandes et des sous-bandes

CARYOTYPE = analyse pan-génomique



Moyen simple et efficace d'avoir en **un seul temps** une **vue d'ensemble du génome** : les anomalies de nombre et de structure



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytogénétique conventionnelle : CARYOTYPE



AVANTAGES :

- + Analyse globale du génome
- + Détecte la majorité des anomalies
 - anomalies de nombre** (trisomies, monosomies ...)
 - anomalies de structure** (translocations, délétions ...)



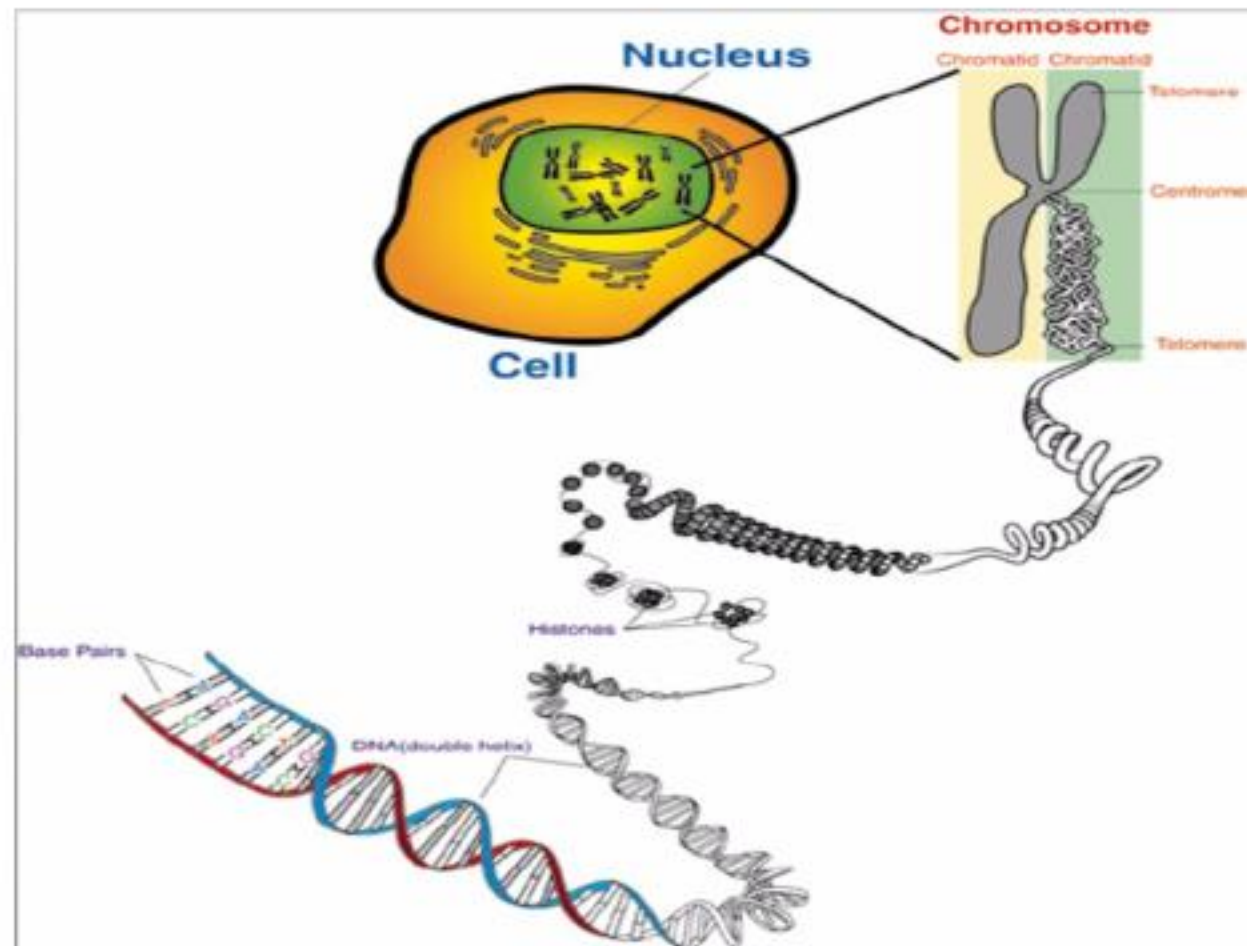
INCONVENIENTS :

- Métaphases seulement
- Ne détecte pas les remaniements cryptiques
 - Limite de résolution : 5 -10 mégabases (Mb)

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytogénétique moléculaire

FISH technique complémentaire du caryotype

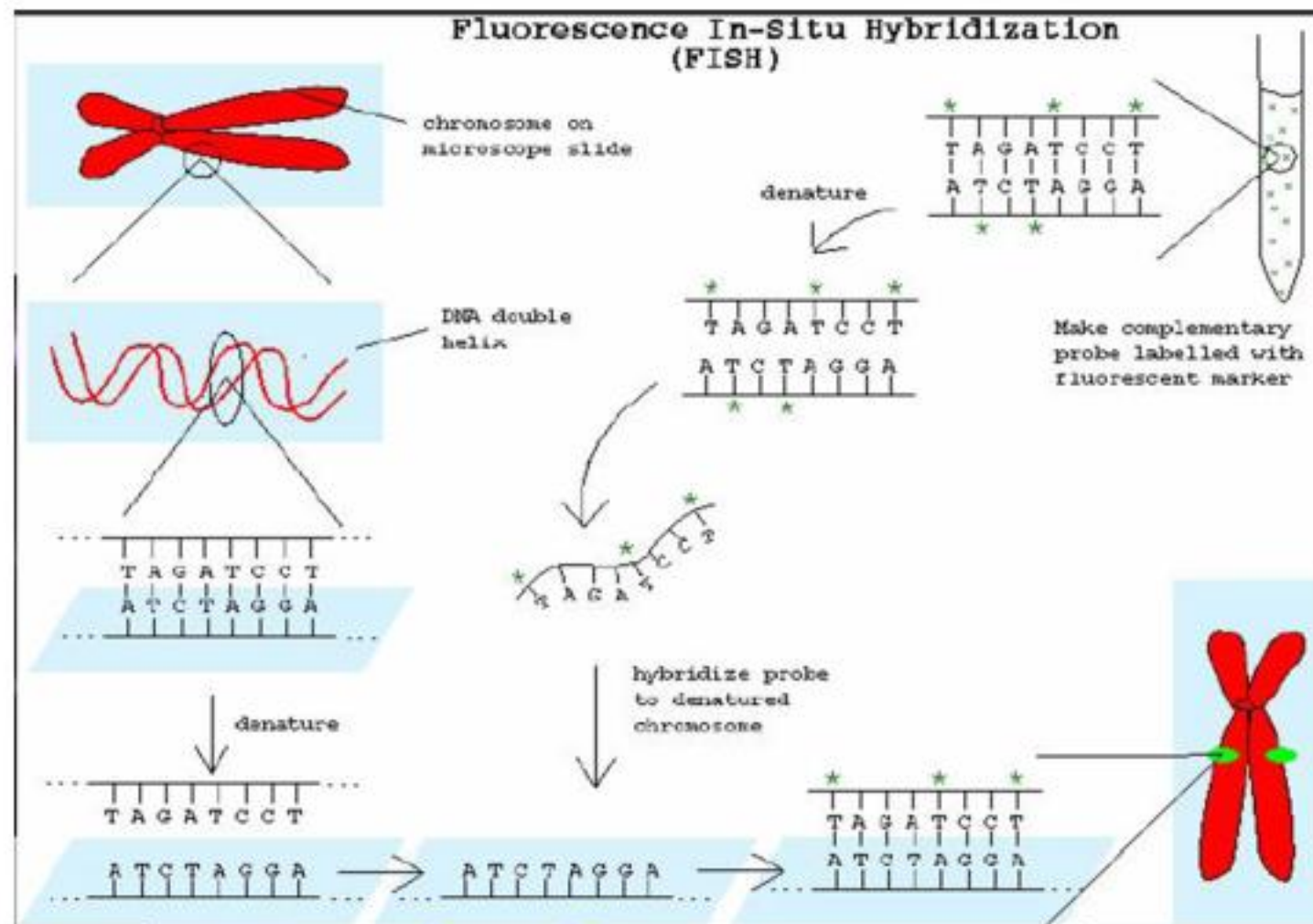


Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

FISH principe

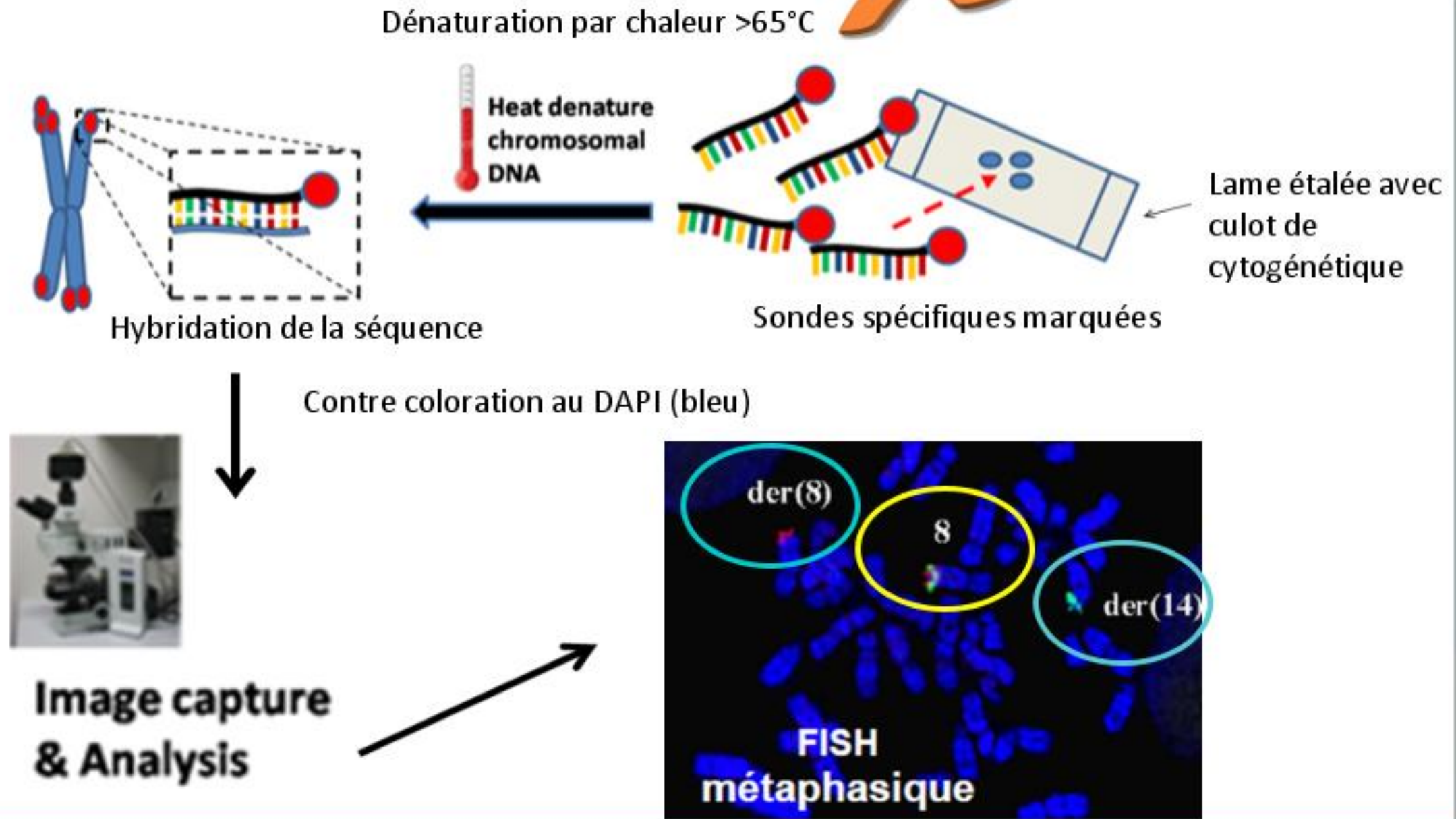


Hybridation in situ en fluorescence (FISH) est une technique de biologie moléculaire d'hybridation in situ utilisant des sondes marquées à l'aide d'un marqueur fluorescent, spécifique d'un locus donné, et utilisées sur lames étalées de culot de cytogénétique



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

FISH technique



Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Anomalies chromosomiques en hématologie



Anomalies Acquises = anomalies chromosomiques apparues au cours de la vie et ne touchant qu'un seul organe



Intérêt du caryotype en hématologie oncologique

- . Diagnostique
- . Pronostique
- . Prise en charge thérapeutique

Cliquez sur le bouton "Ecran suivant" pour continuer votre formation

Cytogénétique en hématologie biologique



Merci d'avoir suivi cette séquence !
Maintenant rendez-vous pour la séquence **"Vers la semaine 3"**
pour un résumé des éléments essentiels de cette semaine et un
descriptif de ce que vous allez voir la semaine prochaine.

*Et n'oubliez pas de remplir le questionnaire "Votre avis" qui ne vous
prendra que 5 minutes.*