

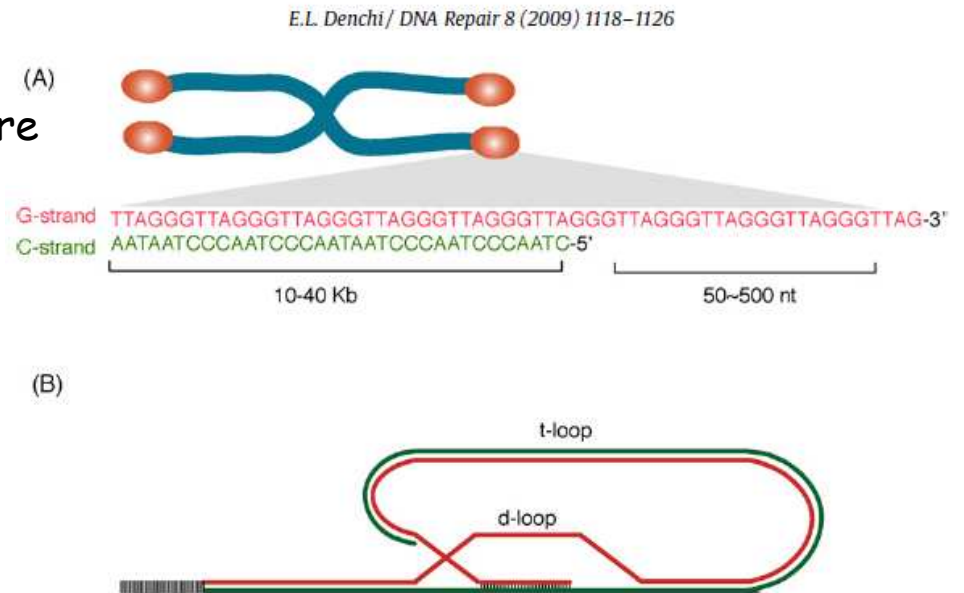
Etude de l'instabilité génomique et du statut des télomères dans le cancer du sein triple négatif

M. GAY-BELLILE
15 Février 2013

Pr A. TCHIRKOV
Pr P. VAGO
Cytogénétique médicale

Téломères

- Séquences répétées TTAGGG
- Rôles :
 - Régulation de la réplication cellulaire
 - Maintien intégrité du génome

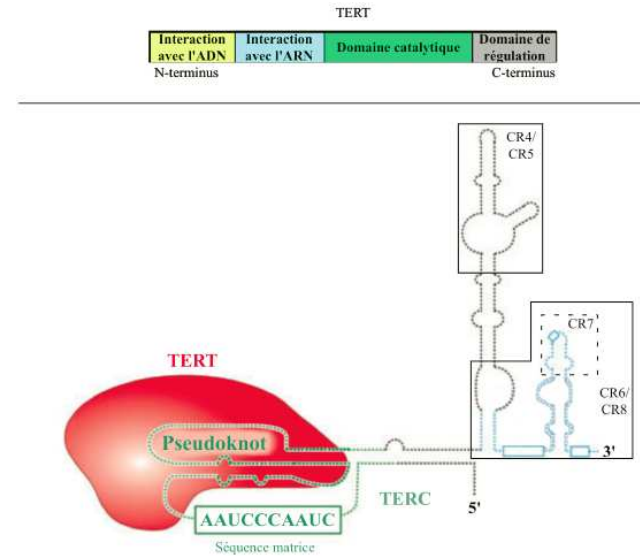
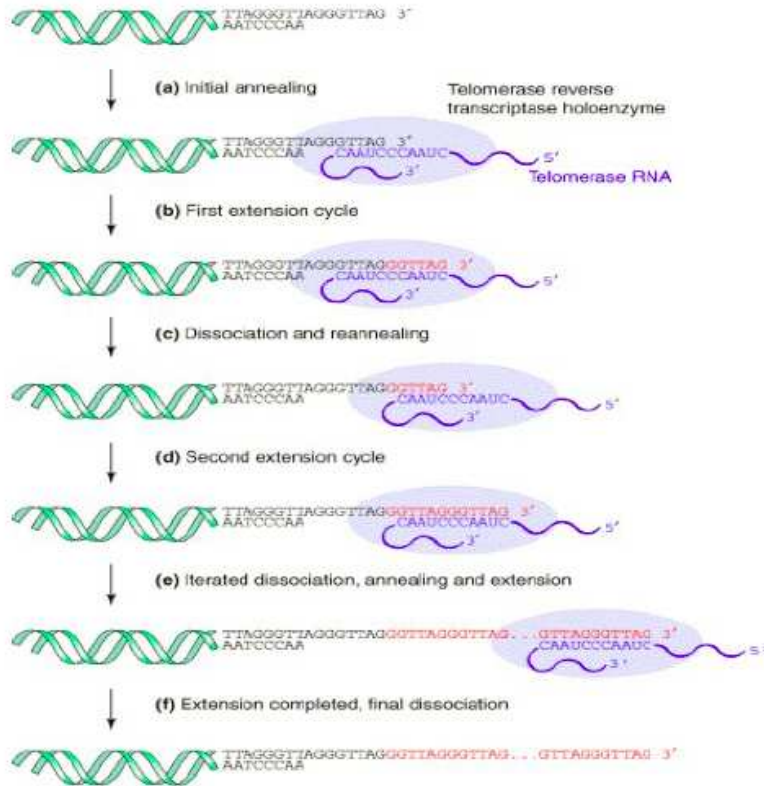


- Erosion naturelle : ↓ longueur télomères
 - Sénescence ou apoptose cellulaire
 - Instabilité génomique

Téломérase

Complexe ribonucléoprotéique

- Reverse transcriptase : hTERT
- Matrice ARN : hTERC



Enzyme nucléaire : ↑ longueur télomères

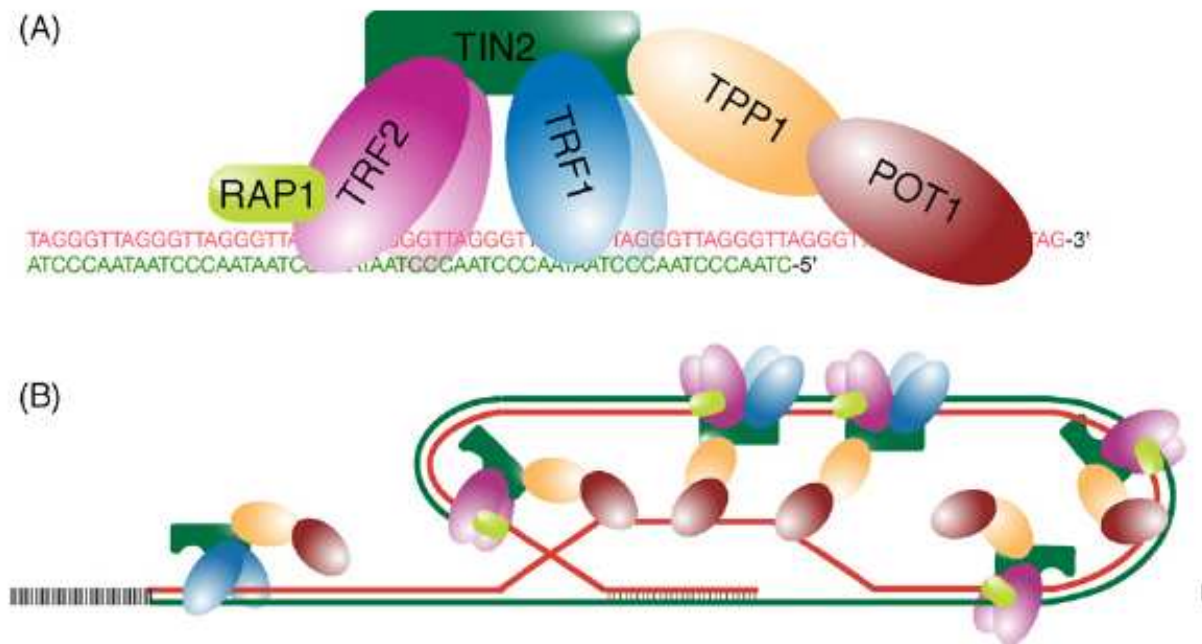
Absente dans les ϕ somatiques

Activée dans les ϕ tumorales

→ Immortalisation ϕ R

Complexe Shelterin

- 6 membres :



- Rôles :
 - Formation t-loop
 - Régulation de l'élongation par la télomérase

Objectifs

- Etude Télomère / Télomérase dans les TNBC
 - Longueur des télomères
 - Expression de la télomérase (hTERT)
 - Expression des protéines du complexe Shelterin (TRF1 et 2, POT1, RAP1, TPP1 et TIN2)
- Paramètres clinico-biologiques
 - Classifications pronostiques : TNM et SBR
 - Evaluation réponse thérapeutique : Classifications histopathologiques (Chevallier et Sataloff)
- 2^{ème} temps : Corrélation avec niveau d'instabilité génomique évalué par CGH array

Matériels et Méthodes

- Population :
 - 38 patientes
 - Carcinome canalaire infiltrant triple négatif
 - Protocole TVA : Chimiothérapie néoadjuvante (FEC puis Taxotère + Vectibix)

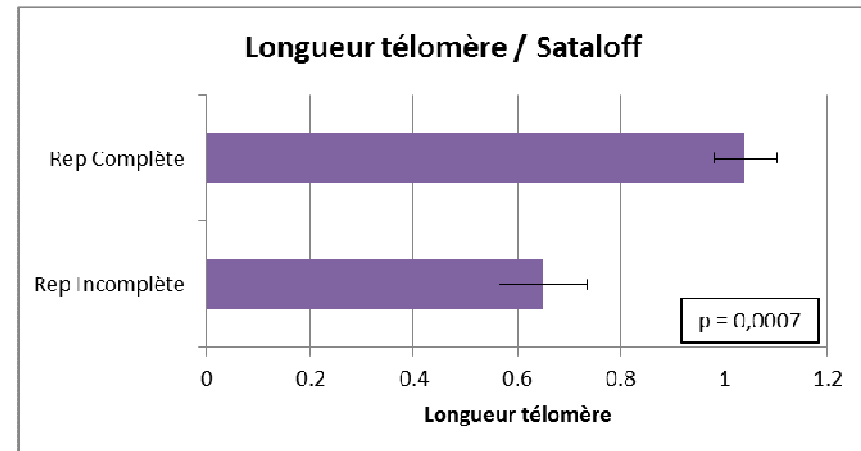
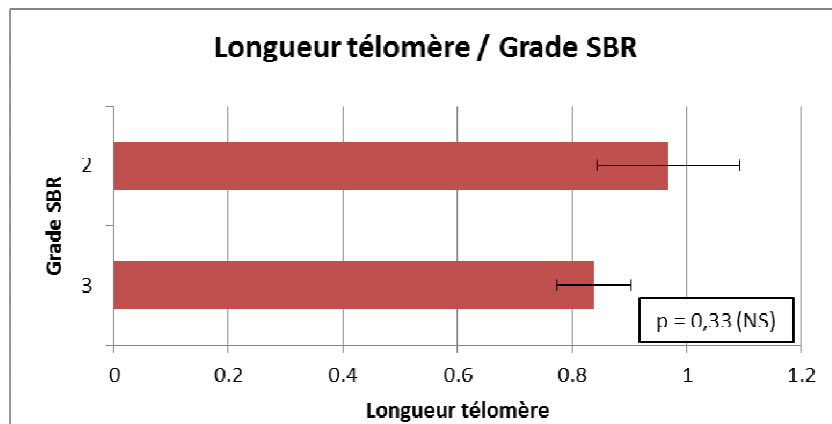
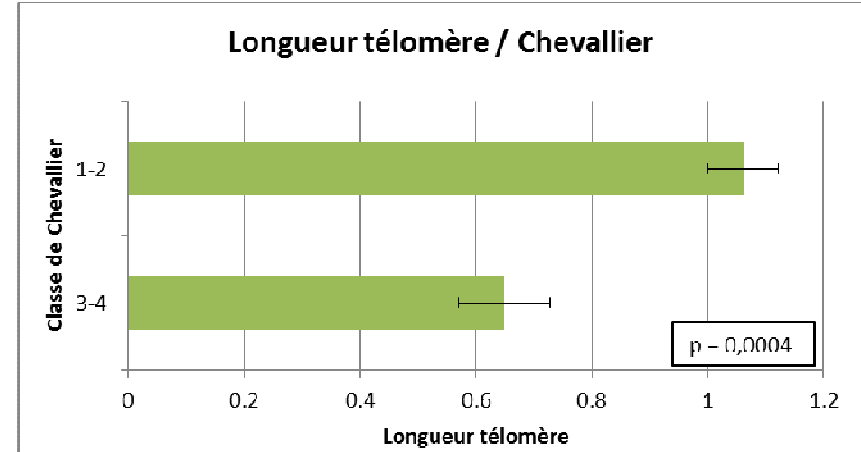
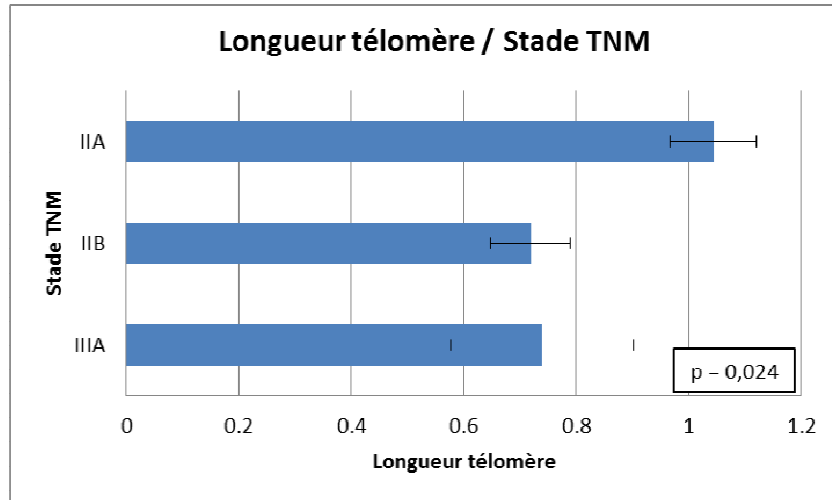
		Caractéristiques	Etude longueur télomère n = 38	Etudes d'expression (hTERT - Shelterin) n = 29
Valeur pronostique	[Stade TNM		
		IIA	18	14
		IIB	13	11
		IIIA	7	4
		Grade SBR		
2	11	8		
3	27	21		
Réponse thérapeutique	[Classification de Chevallier		
		RHC		
		Classe 1	21	16
		RHI		
		Classe 3	13	9
		Classe 4	4	4
		Classification de Sataloff		
RHC (TANA + TANB)	22	12		
RHI	16	17		

Matériels et Méthodes

- Etude longueur des télomères :
 - 38 ADN
 - PCR quantitative en temps réel (Cawthon, 2009)
 - Gène de référence : *GAPDH*
 - Quantification : ratio Télomères/*GAPDH* ($2^{-\Delta\Delta C_p}$)

- Etude d'expression génique :
 - *hTERT*, *TRF1*, *TRF2*, *POT1*, *TPP1*, *RAP1* et *TIN2*
 - 29 ARN
 - RT-PCR quantitative en temps réel (Véronèse et al., 2012)
 - Gène de référence : *B2M*
 - Quantification : ratio (Gène Cible / *B2M*) x 100

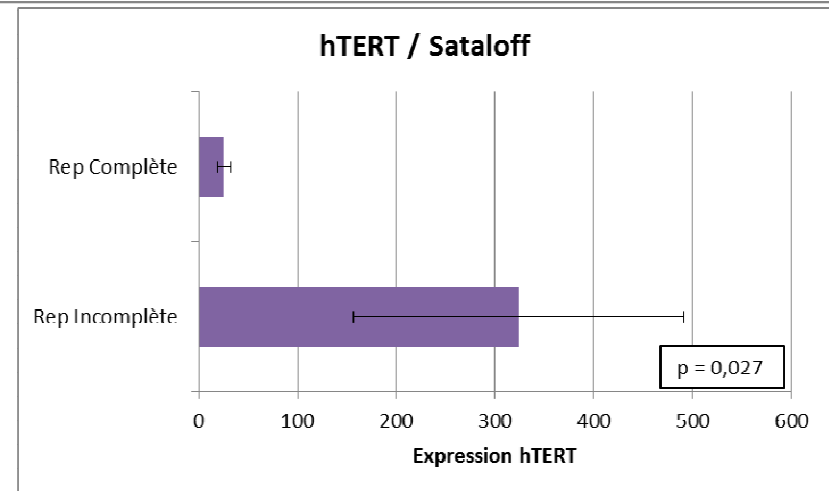
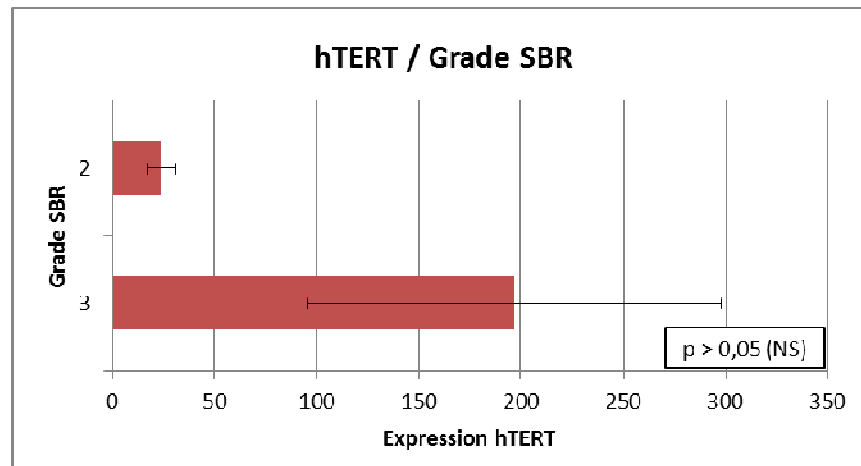
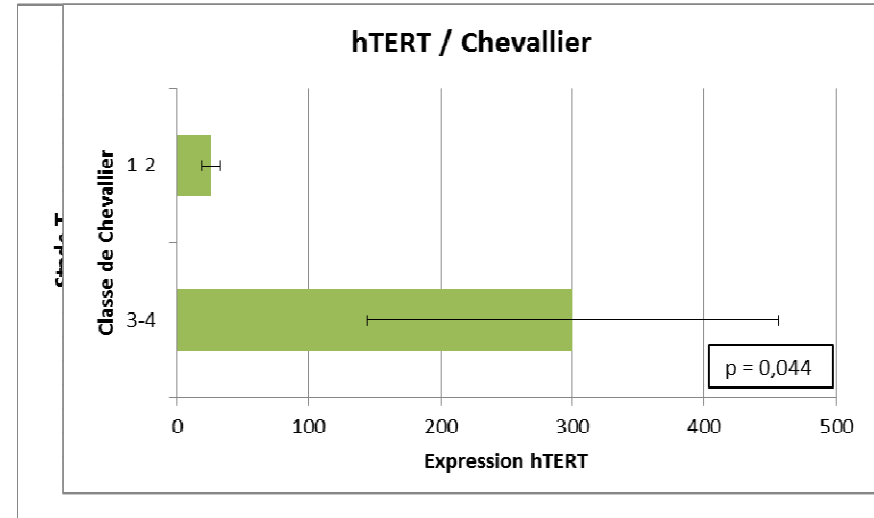
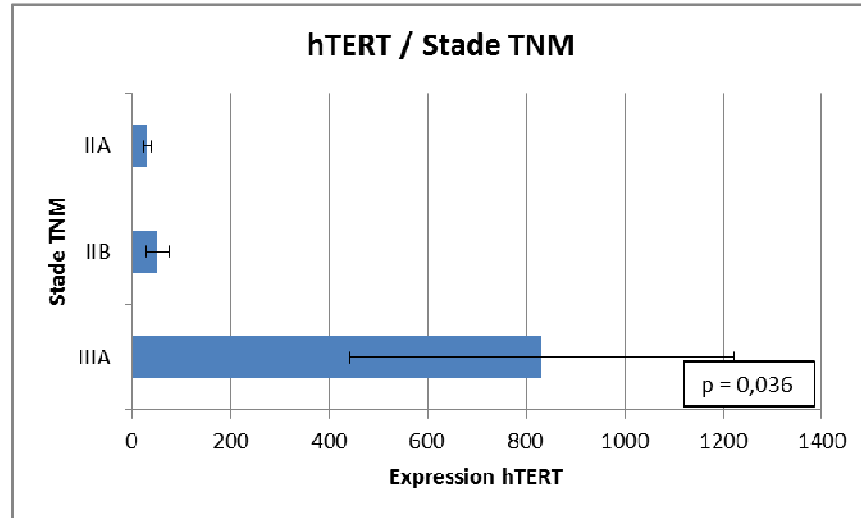
Résultats : longueur télomère



Association entre longueur des télomères et agressivité de la tumeur

Association significative entre longueur des télomères et réponse thérapeutique

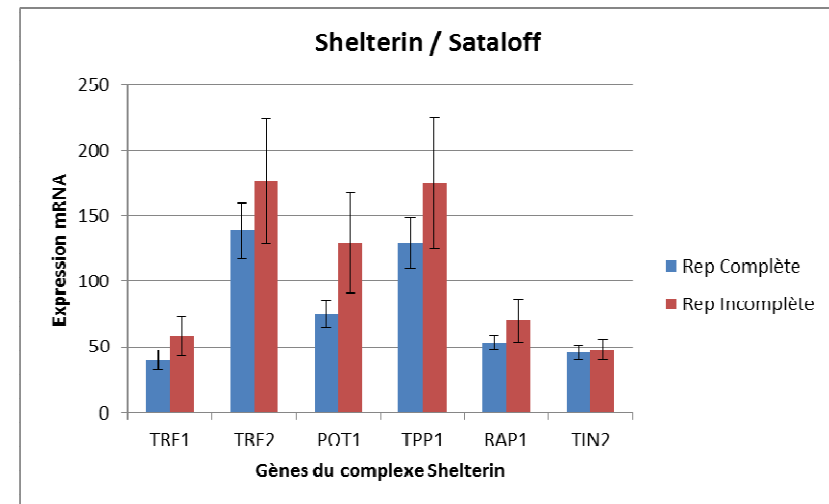
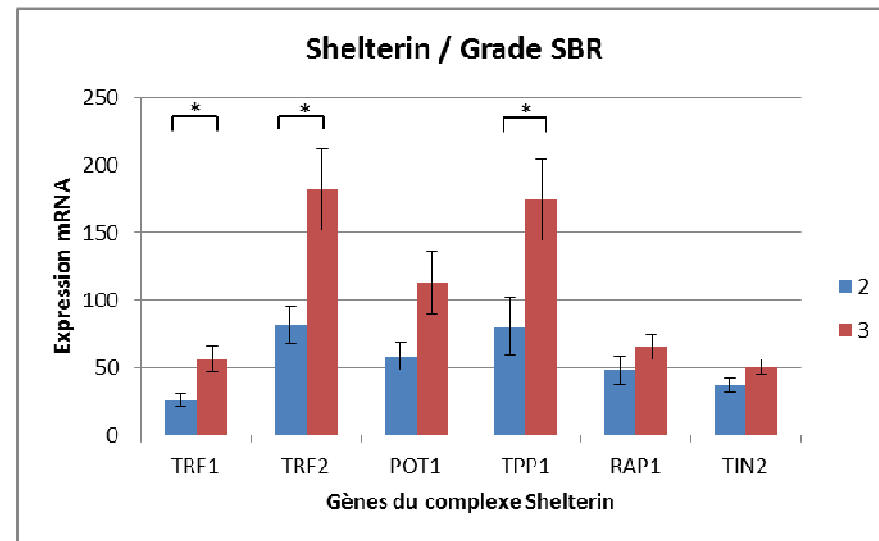
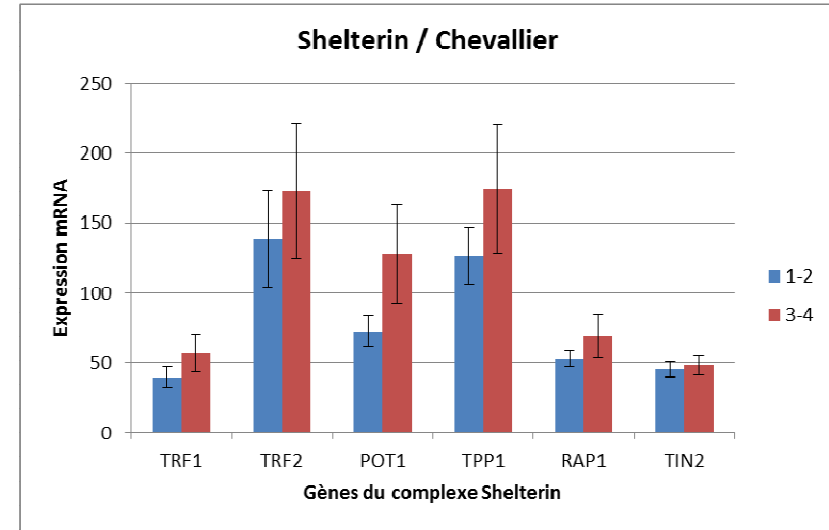
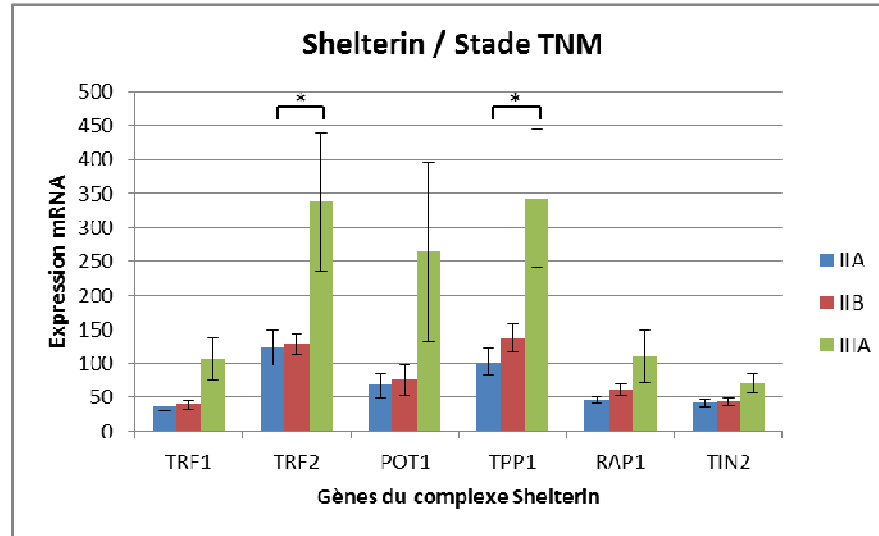
Résultats : hTERT



Association entre hTERT et agressivité de la tumeur

Association significative entre hTERT et réponse thérapeutique

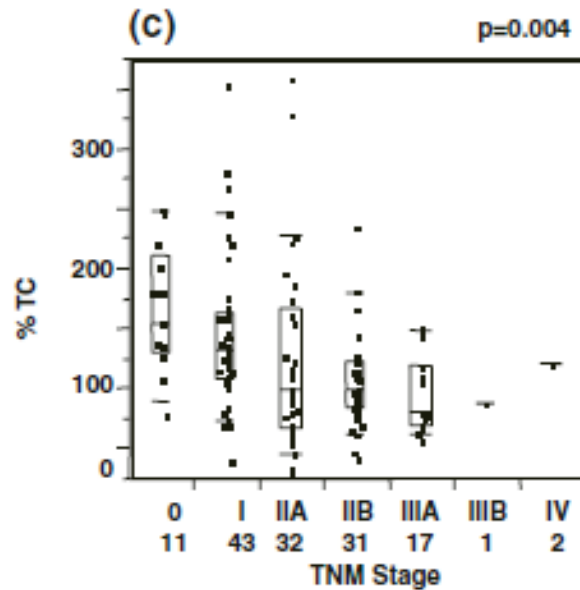
Résultats : Gènes du complexe Shelterin



Discussion - Marqueurs pronostiques

Téломères et Stade TNM

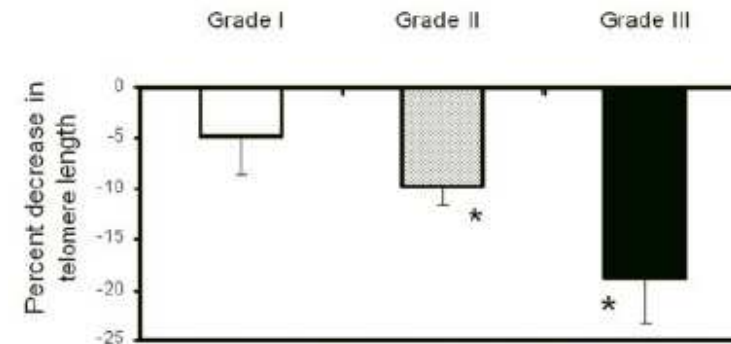
Fordyce et al., 2006 (n = 140 - BC)



Corrélation significative ($p = 0.004$)

Téломères et Grade SBR

Poonepalli et al., 2008 (n = 38 - CCI)



Corrélation significative ($p < 0.05$)

Discussion - Marqueurs pronostiques

Téломérase et Stade TNM

Lu et al., 2011 (n = 348 - BC)

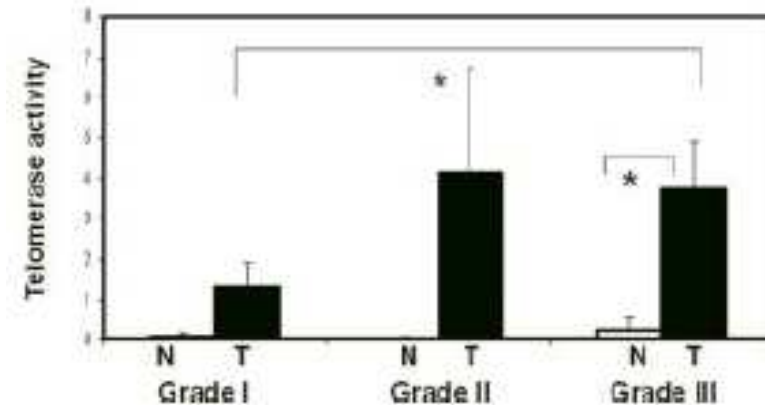
Salhab et al., 2008 (n = 127 - BC)

Parameter		hTERTCK19 Mean \pm SD
Tumour staging	TNM1	0.0874 \pm 0.1567
	TNM2	0.304 \pm 1.196
	TNM3	0.248 \pm 0.485
	TNM4	0.214 \pm 0.319

Tendance non significative

Téломérase et Grade SBR

Poonepalli et al., 2008 (n = 38 - CCI)

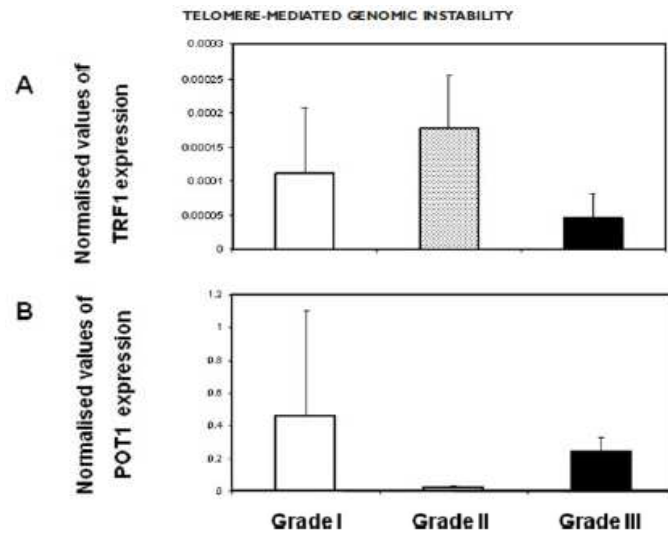


Corrélation significative ($p < 0.05$)

Discussion - Marqueurs pronostiques

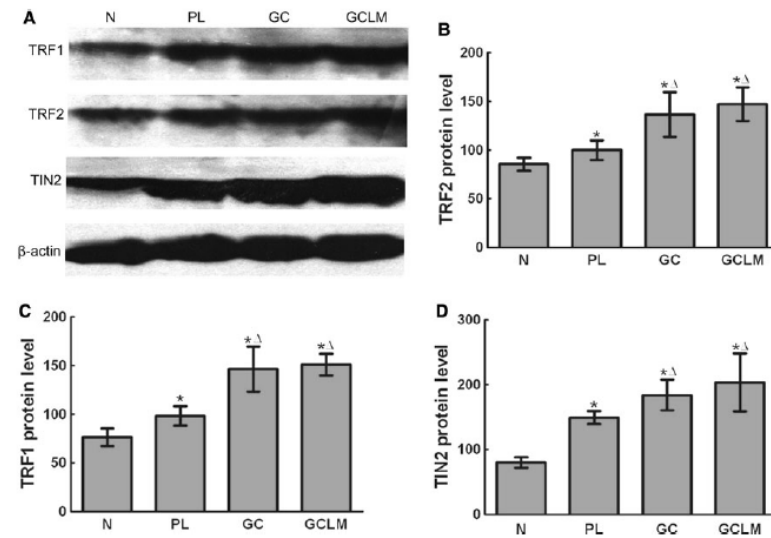
Gènes du complexe Shelterin et Marqueurs pronostiques

Poonepalli et al., 2008 (n = 38 - CCI)



Sous-expression TRF1 et POT1 dans grade III

Hu et al., 2010 (n = 50 - Gastric Cancer)



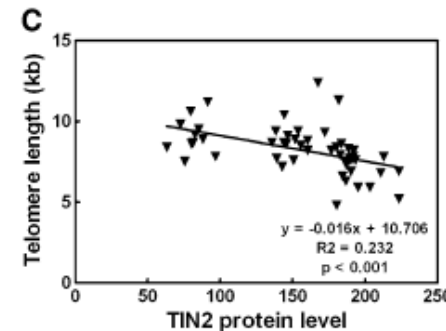
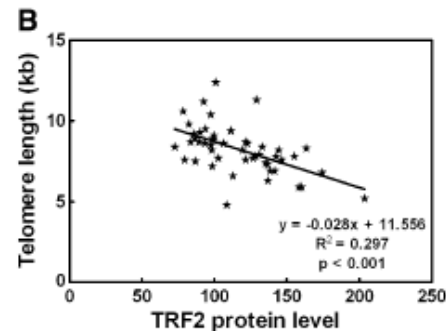
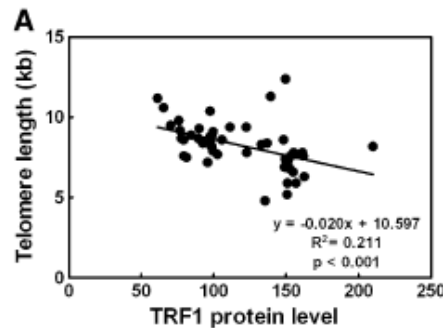
Sur-expression TRF1, TRF2 et TIN2 associé aux grades les plus élevés

* vs N - Δ vs PL

Discussion - Marqueurs pronostiques

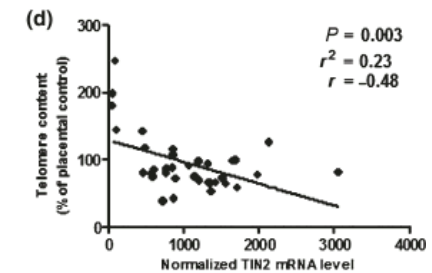
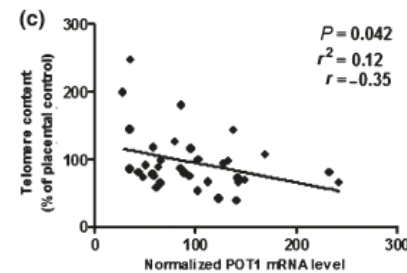
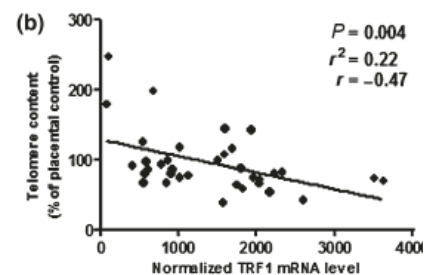
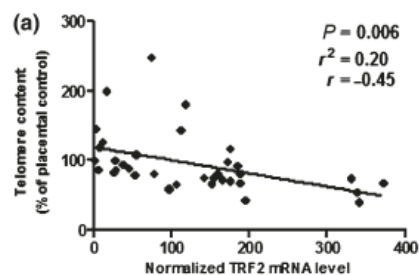
Corrélation complexe Shelterin et longueur télomère

Hu et al., 2010 (n = 50 - Gastric Cancer)



Corrélation inverse significative : TRF1, TRF2 et TIN2

Butler et al., 2012 (n = 36 - Breast Cancer)



Corrélation inverse significative : TRF1, TRF2, POT1 et TIN2

Discussion - Réponse thérapeutique

- Télomères, télomérase et réponse thérapeutique [Lu et al., 2011 (n = 348 - BC)]
- Pas de relation avec longueur des télomères
- Surexpression hTERT :
 - ↓ survie sans rechute si ttt par chimiothérapie adjuvante seule (n = 119)
 - ↑ survie sans rechute si ttt par hormonothérapie seule (n = 77)

————→ hTERT peut influencer la décision thérapeutique
- ∅ Etude sur réponse thérapeutique aux chimiothérapie néo-adjuvante

Conclusion

- Notre étude :
 - Population homogène (TNBC)
 - Associations significatives :
 - ↓ télomères, ↑ hTERT et tumeurs de plus mauvais pronostiques (Stade TNM ↑, Réponse cytologique incomplète aux chimiothérapies néo-adjuvantes)
 - Surexpression des protéines du complexe Shelterin et tumeurs plus agressives (Stade TNM et Grade SBR)
- Perspectives :
 - Etude instabilité génomique par CGH array
 - Corrélation : Paramètres télomériques et clinico-biologiques