

LE CARYOTYPE

I. DEFINITION :

- Les 46 chromosomes des cellules somatiques humaines sont répartis en 23 paires. De ces 23 paires, 22 sont identiques chez l'homme et la femme et sont appelées **autosomes**. La paire restante comprend les chromosomes sexuels : **gonosomes** (XX chez la femme et XY chez l'homme).
- Les cellules somatiques ont un complément chromosomique **diploïde** (diploos: double) c'est-à-dire 2n chromosomes ou 46 chromosomes tandis que les gamètes ont un complément chromosomique **haploïde** (haploos: simple) c'est-à-dire 23 chromosomes.
- Le **caryotype** désigne l'analyse numérique et structurale de l'ensemble des chromosomes d'une cellule d'un individu.
- L'établissement du caryotype permet de définir la **formule chromosomique d'un individu et de détecter d'éventuelles anomalies.**
- Il est **spécifique d'une espèce** donnée.

II. LES TECHNIQUES D'ETABLISSEMENT DU CARYOTYPE:

Le caryotype humain se réalise dans des laboratoires de cytogénétique à partir de différents tissus.

A. Prélèvement : dépend de l'indication du caryotype

1) en prénatal: on prélève selon l'âge de la grossesse:

- des **villosités choriales** (choriocentèse): entre 8^{ème} et la 10^{ème} semaine d'aménorrhée(SA)
- du **liquide amniotique** (amniocentèse): entre 15^{ème} et 17^{ème} SA.
- du **sang foetal** (cordocentèse): vers la 20^{ème} SA.

2) en postnatal :

- Les cellules utilisées en vue d'une analyse chromosomique doivent être capables de de croissance de **division cellulaire rapide** en culture. Les cellules les plus facilement accessibles et qui rencontrent ces conditions sont les **cellules blanches du sang** , en particulier **les lymphocytes T**.
- A fin d'obtenir pour l'analyse une culture à court terme de ces cellules, un **échantillon de sang** périphérique est obtenu,

habituellement par **ponction veineuse**, et mélangé avec de l'héparine pour empêcher la coagulation.

- Les cultures à long terme peuvent être obtenues à partir d'autres tissus. **La biopsie cutanée** peut fournir des échantillons de tissu qui en culture produit des **fibroblastes** qui sont **capables de se maintenir en culture une croissance continue pendant plusieurs générations**.
- **La moelle osseuse** peut être obtenue seulement au moyen d'une ponction **médullaire**. Elle a l'avantage de contenir une grande proportion de cellules en division, de telle sorte qu'une culture cellulaire ne s'avère que peu ou pas nécessaire. Son utilité majeure réside dans l'établissement du diagnostic d'hémopathie maligne.

B. Les étapes de réalisation du caryotype :

Il se réalise sur des cellules nucléées capables de se **diviser in vitro**, comme suit :

- **Prélèvement** du sang veineux (lymphocyte).
- Mise en culture dans un **milieu contenant RPMI** (Roswell Park Memorial Institute medium) + sérum de veau + un agent mitogène : phytohémagglutinine + ATB, dans une asepsie rigoureuse, de même il faut tenir compte du milieu de culture (T° 37°C, le PH).
- Incubation de 48 à 72 heures.
- **Blocage des divisions** en métaphase (les chromosomes sont condensés au maximum) par la **colchicine**.
- Réalisation d'un **choc hypotonique** par une solution diluée de KCL qui provoque le gonflement et la lyse des lymphocytes induisant la **libération** des chromosomes métaphasiques.
- **Fixation** des chromosomes.
- **Etalement** sur lame et coloration par Giemsa.
- Marquage des chromosomes (**banding**)
- **Lecture des lames au microscope**.

C. Classification des chromosomes :

- Le caryotype humain comporte 46 chromosomes répartis en 23 paires, 22 paires sont identiques chez l'homme et chez la femme et sont nommés autosomes, la paire restante est représentée par les chromosomes sexuelles nommés gonosomes qui sont

- les chromosomes XX chez la femme.
- les chromosomes XY chez l'homme.
- La classification de ces chromosomes repose sur deux critères qui sont :
 - La taille des chromosomes.
 - L'indice centromérique $IC=P/P+q$.
- De ce fait on classe les chromosomes en sept groupes par ordre de taille décroissante de 1 à 22:
 - Groupe A : grands **métacentriques** (1, 3) et **submétacentrique** (2).
 - Groupe B: **grands submétacentriques** (4, 5)
 - Groupe C : moyens métacentriques et submétacentriques (6,7, 8, 9, 10, 11, 12, X)
 - Groupe D : grands acrocentriques (13, 14, 15)
 - Groupe E : petits métacentriques ou submétacentriques (16, 17 , 18)
 - Groupe F : tous petits métacentriques (19, 20).
 - Groupe G : petits acrocentriques (21, 22, Y).

III. TECHNIQUES DE MARQUAGE EN BANDES (BANDING)

techniques de marquage récentes identifient par paire chromosomique par une alternance de bandes claires et sombres.

Plusieurs techniques de marquage sont utilisées :

- 1) **Bandes G** : Cette technique sont traités à l'aide de la **trypsine** pour **dénaturer les protéines** chromosomiques et sont ensuite **colorés au moyen du Giemsa**. Chaque paire chromosomique possède une distribution caractéristique de bandes **claires et sombres** (bandes G). Les bandes **sombres** correspondent aux séquences d'ADN riches en A –T pauvres en gènes actifs.
- 2) **Les bandes Q**: Cette méthode nécessite une coloration par la **moutarde de quinacrine ou ses dérivés**. Lors de l'examen au microscope en **fluorescence**, cette coloration fait apparaître une succession caractéristique de bandes sombres et brillantes (bandes Q).
- 3) **Bandes R (reverse)**: Lorsque les chromosomes sont prétraités par la **chaleur avant la coloration au Giemsa**, les bandes sombres et claires obtenues (bandes R) ont une distribution inverse de celle produite par les techniques de bandes G ou de bandes Q. Les bandes **sombres** correspondent aux séquences **d'ADN riches en G- C**.

4) **Bandes C:** Les chromosomes sont prétraités par l'**acide dilué** et suivi de l'**alcali fort et de la saline douce**, puis coloré au moyen de **Giemsa**. Cette méthode colore de façon spécifique les régions **centromériques** de chaque chromosome et d'autres régions contenant également l'**hétérochromatine**: notamment les régions des chromosomes **1q, 9q et 16q** adjacentes au centromère ainsi que la partie **distale du bras long du chromosome Y(Yq)**.

- Après dénaturation les chromosomes sont classés et analysés.
- Le classement des paires chromosomiques aboutit au caryotype de l'individu dont il est possible de déduire la formule chromosomique bien définies. On écrit :

Le nombre total de chromosome suivi de virgule; la paire du chromosome sexuel ; une autre virgule et l'anomalie chromosomique quand elle existe.

Exp :

- Caryotype masculin normal :46,XY
- Trisomie 21 : 47,XY,+21 càd :47 chromosomes dont un chromosome X et un chromosome Y ;plus un chromosome 21 surnuméraire.
- Translocation :46,XX,t(1 ; 18) càd :46 chromosomes dont deux chromosomes X et une translocation entre le chromosome 1 et le chromosome 18.

IV. IDENTIFICATION DES CHROMOSOMES :

- Les méthodes de coloration disponibles à l'origine ne **permettaient pas de reconnaître de façon individuelle** les 24 types de chromosome.
- En effet les chromosomes ne pouvaient être classifiés qu'en **7 groupes dénommés par les lettres A à G** sur la base de leur longueur totale ainsi que par la position du centromère.
- Avec les techniques maintenant à notre disposition, il est possible néanmoins de reconnaître chacun des chr.
- Avec les techniques de bandes qui sont maintenant utilisées en routine, tous les types chromosomiques peuvent être reconnu de façon individuelle.
- Les autosomes sont numérotés de 1 à 22 sur la base de leur longueur totale.
- Le chr 21 est une exception à la règle, puisqu'il est légèrement plus petit que le chr 22. En fait, avant que sa plus petite taille ne soit reconnue, il est déjà bien connu comme le chr 21, présent en 3 copies dans la plupart des cas de l'anomalie chr fréquente associée au syndrome de Down.
- Bien que les experts analysent souvent les préparations chromosomiques directement au microscope, une procédure habituelle est de découper les

chromosomes à partir d'une micrographie et de les aligner par paires suivant une classification standard.

- Les chercheurs ont mis au point des systèmes d'analyse informatique des du caryotype qui sont capables de sélectionner automatiquement les cellules à étudier, d'analyser les chromosomes colorés d'une cellule et de construire un caryotype.
- Un système uniforme de classification des chromosomes **ISCN** (International System for Human Cytogenetic Nomenclature) est accepté au niveau international. Ce système a été formulé à la conférence de Paris 1971. Plus tard des révisions de ce système sont devenus nécessaires afin de décrire les chromosomes tel quels peuvent être vus sur des préparation de chr en métaphase.

V. LES INDICATIONS:

A. En période prénatal :

- Age maternel élevé (>38 ans).
- Anomalie de structure de l'un des parents.
- Signes d'appel échographiques (clarté nucale).
- Antécédent pour le couple de grossesse avec caryotype anormal.

B. En période post – natale :

1- A la naissance :

- Un tableau clinique évocateur d'anomalie chromosomique connue.
- Un syndrome poly malformatif difficile à diagnostiquer.
- Ambigüité sexuelle.

2- Chez l'enfant et l'adolescent:

- Des troubles de développement de la croissance et sexuel.
- Un retard mental et des troubles du comportement.

3- Chez l'adulte :

- Couple ayant des avortements précoces et à répétition.
- Antécédents personnels ou familiaux de mort fœtale ou de malformation récurrente.
- Bilan avant une procréation médicalement assistée.

4- en cancérologie : l'indication majeure du caryotype est le diagnostic de certaines pathologies cancéreuses en particulier dans les hémopathies malignes; il peut avoir également un intérêt pronostic et constitue un marqueur de l'évolution tumorale.

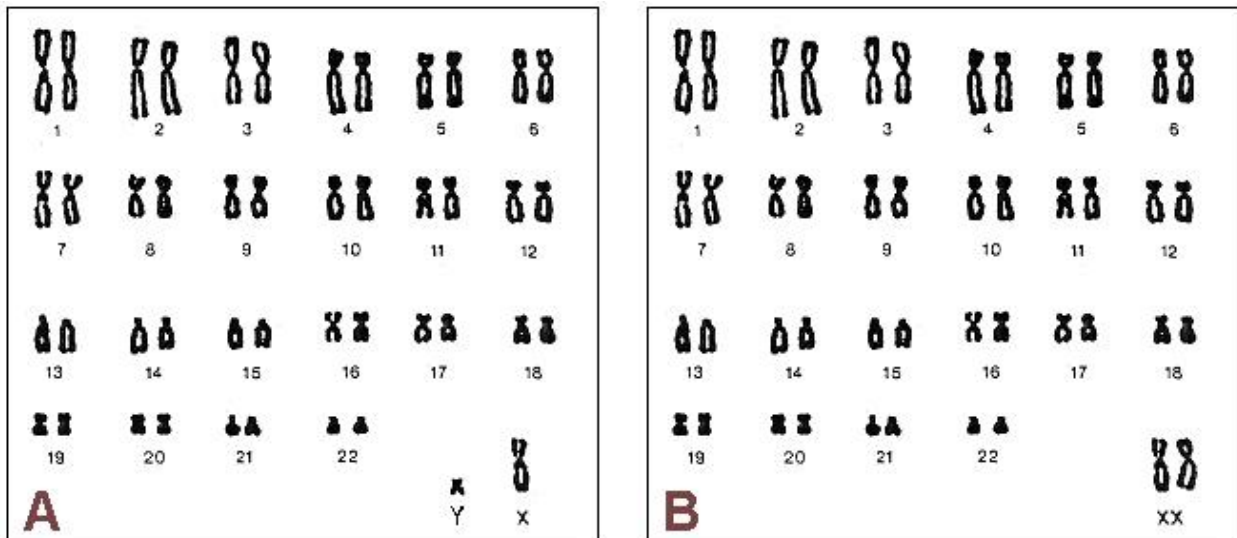


Fig 1 : Caryotype humain (coloration Giemsa)

A : Masculin.

B : Féminin.

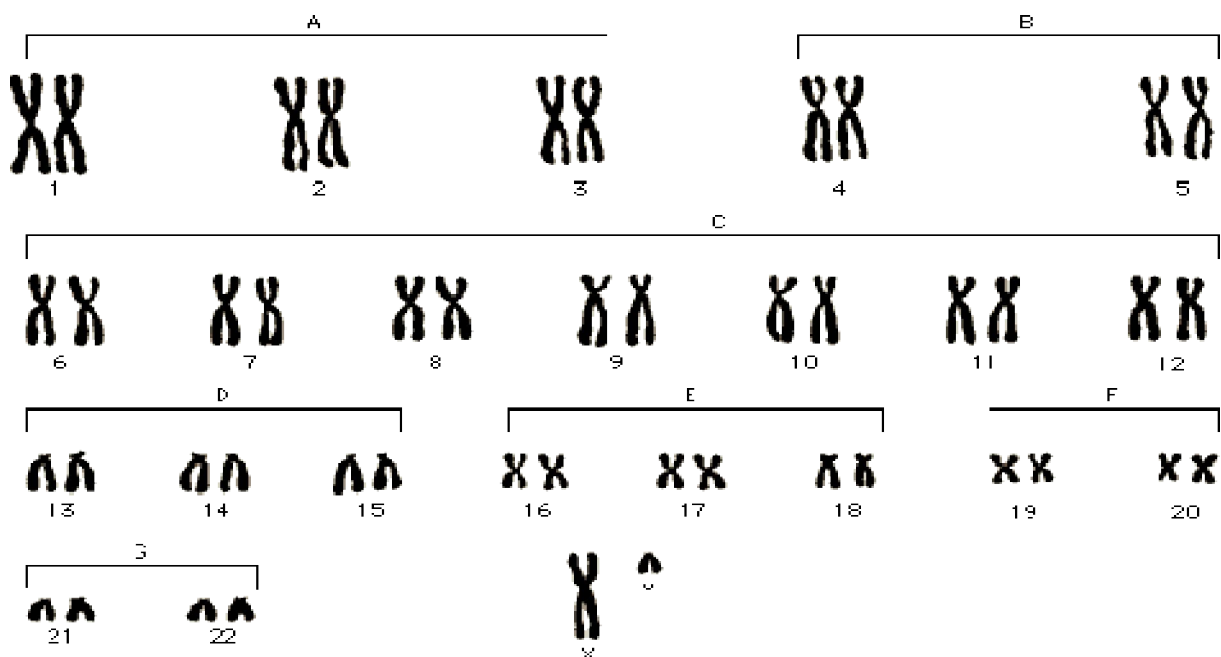


Fig 2 : Classification des chromosomes.

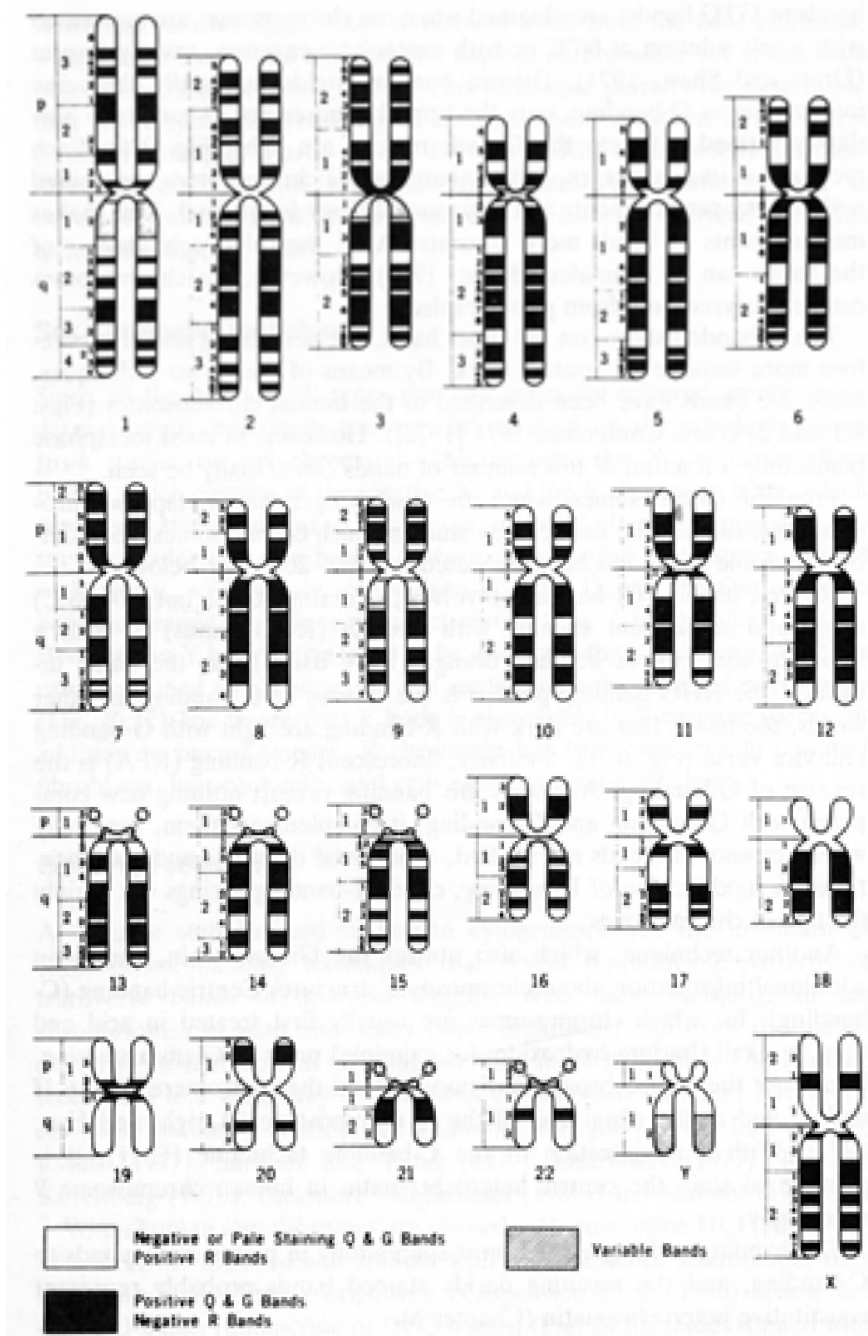


Fig 3 : Caryotype humain avec bandes (ISCN Conférence de Paris 1971)