

I.Introduction

La cytogénétique est la discipline médicale qui étudie les anomalies chromosomiques observées au cours des maladies génétiques constitutionnelles et des cancers. Le dénombrement correct des chromosomes humains établi seulement en 1956 a marqué son départ. L'introduction des techniques de bandes chromosomiques, puis des techniques d'hybridation in situ et maintenant des micro-puces génomiques a permis un développement considérable de la cytogénétique qui est devenue un élément important dans l'approche diagnostique, dans l'évaluation du pronostic et du risque de récurrence de ces différentes pathologies.

II. Définition

Le terme caryotype désigne l'analyse numérique et structurale de l'ensemble des chromosomes d'une cellule ou d'un individu. Il est spécifique d'une espèce donnée.

III. Réalisation du caryotype

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

a-Prélevement ; dépend de l'indication du caryotype.

1-En prénatal ; on préleve selon l'âge de la grossesse ;

- Des villosités chorales (choriocentèse) ; entre la 8^{ème} et la 10^{ème} semaine d'amenorrhée (SA).
- Du liquide amniotique (amniocentèse) entre la 15^{ème} et 17^{ème} SA.
- Du sang foetal (cordocentèse) vers la 20^{ème} SA

2-En post natal ;

Le caryotype est déterminé sur des lymphocytes sanguins prélevés par ponction veineuse. Il peut être pratiqué sur toute cellule capable de se diviser in vitro telle que les fibroblastes (cellules cutanées), les cellules tumorales, ganglionnaires, de la moelle osseuse.....

b-La technique :

Le caryotype se réalise sur des cellules nucléées capables de se diviser in vitro : "principe des techniques de culture cellulaire"

La technique classique est la suivante :

- Prélevement de sang veineux (des lymphocytes).
- Mise en culture dans un milieu contenant un agent mitogène la phytohémagglutinine. cette étape nécessite une asepsie rigoureuse car certains micro-organismes peuvent altérer la culture cellulaire. Il faut tenir également compte du milieu de culture, du pH, de la T°,..... afin d'obtenir une culture optimale.

- Incubation 48 à 72 heures (temps nécessaire pour avoir assez de cellules en cours de division).
- Blocage des divisions en métaphase (stade où les chromosomes sont condensés au maximum) par la colchicine qui empêche la formation du fuseau achromatique et le blocage des centromères.
- Réalisation d'un choc hypotonique à l'aide d'une solution diluée qui provoque le gonflement et la lyse des lymphocytes libérant ainsi les chromosomes métaphasiques
- Fixation des chromosomes -Etalement sur lame.
- Marquage des chromosomes (banding) et leur coloration (coloration standard et les marquages G, R, Q, T,...)
- Lecture des lames au microscope. -Classement des chromosomes .

IV. Classification des chromosomes

Le caryotype humain comporte 46 chromosomes repartis en 23 paires, 22 paires sont identiques chez l'homme et chez la femme et sont nommées autosomes, la paire restante est représentée par les chromosomes sexuels 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 longueur relative des chromosomes qui permet de les classer en trois groupes :
 - * petit
 - * moyen
 - * grand
- L'indice centromérique qu'on note I_c

$$I_c = \frac{P \text{ (longueur du bras court)}}{P+q \text{ (longueur totale du chromosome)}}$$

En fonction de cet indice on a :

I_c environ égal à 0,5 : on parlera de chromosome métacentrique

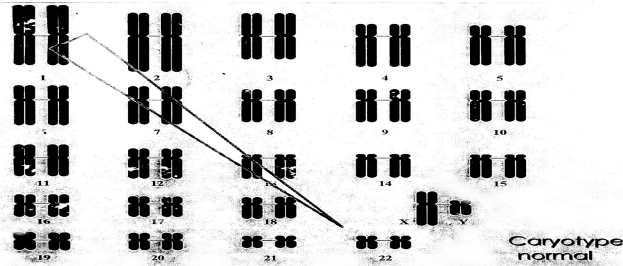
$0,25 < I_c < 0,5$: on parlera de submetacentrique.

$I_c < 0,10$: on parlera d'acrocentrique.

De ces faits on classe les chromosomes en sept groupes par ordre de taille décroissante de 1 à 22 :

- groupe A : grands métacentriques (1,3) et submetacentrique(2)
- groupe B : grands submetacentriques (4, 5)
- groupe C : moyens métacentriques et submetacentriques (6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X)
- groupe D : grands acrocentriques (13, 14, 15)
- groupe E : petits métacentriques ou submetacentriques (16, 17, 18)
- groupe F : tous petits métacentriques (19, 20)
- groupe G : petits acrocentriques (21, 22, Y)

Les chromosomes sont numérotés et rangés par taille décroissante



Des techniques de marquage récentes identifient chaque paire chromosomique par une alternance de bandes claires et sombres ; ces bandes sont répertoriées dans une Nomenclature internationale. Chaque bras chromosomique est divisé selon sa taille en 1 à 4 régions, chaque région en bandes et sous bandes numérotées du centromère au télomère exp 6 p21.2;designe la deuxième sous bande de la première

-Plusieurs techniques de marquage sont utilisées:

1-Bandes G (dénaturation enzymatique)

Les lames sur lesquelles sont fixés les chromosomes sont trempées dans de la trypsine;il y'a dénaturation de certaines parties du chromosome qui deviennent presque blanches alors que les parties non dénaturées restent noires.les bandes sombres correspondent aux séquences d'ADN riches en A-T pauvre en gènes actifs.

La numérotation des bandes

Lorsque les chromosomes sont étalés en prométaphase, la résolution de la cytogénétique classique atteint son maximum avec la visualisation d'environ 850 bandes sur le caryotype.



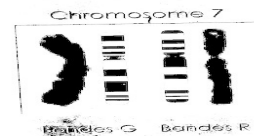
2-Bandes R (reverses):

Le marquage est obtenu par dénaturation thermique.Les bandes obtenues sont l'inverse de celles obtenues avec la trypsine.Les bandes sombres correspondent aux séquences d'ADN

Bandes G et R

Les bandes R sont globalement inversées par rapport aux bandes G.

Les bandes R marquent mieux la plupart des télomères



3- Bandes C (coloration au sulfate de baryum)

Permettent de visualiser l'hétérochromatine des régions centromériques et du chromosome y.

4- Bandes T(dénaturation thermique poussée) :

Permettent de visualiser les télomères.

V. Etablissement de la formule chromosomique

Après dénaturation, les chromosomes sont classés et analysés. Le classement des paires de chromosomes aboutit au caryotype de l'individu dont il est possible de déduire la formule chromosomique (la notation du résultat d'un caryotype), selon une nomenclature bien définie:

Il est indiqué successivement, le nombre total de chromosomes ; suivi d'une virgule, les chromosomes sexuels ; une autre virgule et l'anomalie chromosomique quand elle existe. Exemple:

- Caryotype masculin normal : 46,XY cad 46 chromosomes/cellule dont un chromosome X et un chromosome Y.

- Caryotype féminin normal : 46,XX cad 46 chromosomes/cellule dont deux chromosomes X.

- Trisomie 21 : 47,XY,+21 cad 47 chromosomes /cellule dont un chromosome X et un chromosome Y, plus un chromosome 21 surnuméraire.

- Translocation: 46,XX,t(1;18) cad 46 chromosomes /cellule dont deux chromosomes X et une translocation entre le chromosome 1 et le chromosome 18.

VI. Indications du caryotype

1- EN PERIODE PRENATALE

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

2- EN PERIODE POST-NATALE

a- A la naissance:

- Devant un tableau clinique évocateur d'anomalie chromosomique connue.
- En face d'un syndrome polymalformatif difficile à diagnostiquer.
- Lors d'une ambiguïté sexuelle.

b- Chez l'enfant et l'adolescent:

- devant: - des troubles du développement sexuel et de la croissance.
- un retard mental et des troubles du comportement.

c- Chez l'adulte

- Parents ou famille d'enfant porteur d'une anomalie de structure chromosomique.
- Couple ayant eu plusieurs fausses couches.
- Antécédents personnels ou familiaux de mort foetale ou de malformation récurrente.
- Bilan avant assistance médicale à la procréation.

3-LES INDICATIONS DU CARYOTYPE EN CANCEROLOGIE

L'indication majeure du caryotype est le diagnostic de certaines pathologies cancéreuses en particulier les hémopathies malignes. Il peut avoir également un intérêt pronostic et constituer un marqueur de l'évolution tumorale.

BIBLIOGRAPHIE

1. Collège National des Enseignants et Praticiens de génétique Médicale (CNEPGM). Génétique Médicale : formelle, chromosomique, moléculaire, clinique. Masson, 2004. ISBN : 2-294-00812-x
2. Damien Sanlaville. Génétique .Collection Inter. Med. ISBN : 2-84136-210-8.
3. Internet.