Laboratoire de biologie / module de génétique

Dr Boudiaf Benaferi R.

CARYOTYPE

1-INTRODUCTION :

Le matériel génétique des eucaryotes est réparti en plusieurs chromosomes dont le nombre est caractéristique de l'espèce.
La majorité des eucaryotes possèdent deux copies de chaque chromosome. Les cellules sont dites diploïdes.
Les deux chromosomes d'une même paire sont dits homologues. Les chromosomes appartenant à des paires différentes sont non homologues.
Le caryotype indique la totalité du matériel chromosomique.
La cytogénétique s'intéresse à l'étude des chromosomes normaux et anormaux.

Le nombre exacte des chromosomes humains a été établit en 1956.
La cytogénétique se base sur l'observation du noyau cellulaire, en microscopie optique, en métaphase(chromosomes) et en interphase (chromatine).

2-ETUDE DU CARYOTYPE HUMAIN :

♦Définition :

Le caryotype décrit le nombre et l'aspect des chromosomes (taille, forme, disposition du centromère et bandes).
Les chromosomes sont classés en plusieurs groupes et numérotés selon la nomenclature internationale: ISCN : International System for human Cytogenetic Nomenclature.

♦Description :

►Le nombre :

La cellule humain a 46 chromosomes (23 paires : 22paires d'autosomes et une paire de gonosomes : XX pour la femme et XY pour l'homme).

► Morphologie du chromosome métaphasique :

Le chromosome métaphasique est constitué de deux chromatides identiques attachées par le centromère (constriction primaire).
Les chromosomes diffèrent par la taille, la disposition du centromère et la présence de satellite (constrictions secondaires).
Le centromère divise le chromosome en bras long (q) et en bras court (p).
Il existe trois types de chromosomes dans l'espèce humaine :

• Médiocentrique ou métacentrique : quand le centromère est central, les bras p et q sont égaux (p=q). C'est le cas des chromosomes 1, 3, 16,19 et 20.
• Acrocentrique : quand le centromère se trouve près de l'une des extrémités. C'est le cas des chromosomes : 13, 14, 15, 21,22 et Y.
• Submétacentrique : quand le bras p est légèrement plus petit que le bras q. C'est le cas du chromosome 2.
Il existe un autre type de chromosome qu'on ne retrouve pas dans l'espèce humaine ; c'est les chromosomes télocentriques : le centromère est tout à fait à l'extrémité ;le chromosome est constitué que d'un seul type de bras (forme de v renversé).

Dans le caryotype, les chromosomes sont classés en 7 groupes du plus grand au plus petit :
• Groupe A : 1, 2, 3.
• Groupe B : 4, 5.
• Groupe C : 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X.
• Groupe D : 13, 14, 15.
• Groupe E : 16, 17, 18.
• Groupe F : 19, 20.
• Groupe G : 21, 22, Y.

♦Techniques d'obtention du caryotype

On peut faire un caryotype à partir de plusieurs types de cellules qui ont la capacité de se multiplier facilement : fibroblastes, cellules amniotiques, cellules de la moelle osseuse rouge hématogène et enfin les cellules les plus utilisées :les lymphocytes.

• On cultive des lymphocytes, à partir de quelques gouttes de sang, dans un milieu nutritif auquel on ajoute une substance qui déclenche la division cellulaire (agent mitogène) : la phytohémagglutinine(PHA).
• Après 72 heures à 37°C, lorsque les mitoses sont déclenchées, on ajoute à la culture une substance antimitotique : la colchicine qui détruit les microtubules achromatiques du fuseau mitotique donc empêche les chromosomes de migrer. Les cellules restent ainsi bloquées en métaphase.
• On fait gonfler les cellules (choc hypotonique) pour que les chromosomes se dispersent.
• On fixe les chromosomes avec un mélange acide-alcool.
• On les étale sur les lames.
• On colore ; au Giemsa pour la technique la plus simple, puis on observe au microscope optique :

On choisit une mitose ou les chromosomes sont bien individualisés, on prend une photo. Après agrandissement, on découpe les chromosomes et on les classe enfin selon la nomenclature internationale.
Il existe des logiciels qui permettent le classement sur ordinateur.

♦Les techniques de marquage des chromosomes

La classification des chromosomes selon la position des centromères et la longueur des bras a été rapidement dépassée depuis l'apparition des techniques de marquage en 1970.
Ces techniques de bandes permettent d'individualiser chaque chromosome par des bandes caractéristiques et permet une classification précise.

Ces méthodes permettent de visualiser 300 à 500 bandes par lot haploïde de chromosomes

→ **Les bandes Q**
Ce sont les bandes fluorescentes à la quinacrine, l'observation se fait avec un microscope à rayons UV.
Il apparaît une alternance de bandes fluorescentes et de bandes non fluorescentes.
Le banding Q colore les régions riches en Adenine et Thymine.

→ **Les bandes G :**
Les chromosomes sont traités à la trypsine(enzyme) puis colorés au Giemsa. Ils sont ensuite observés au microscope optique ordinaire.
Les résultats sont les mêmes que le banding Q (bandes sombres correspondant aux bandes fluorescentes et bandes claires aux bandes non fluorescentes).

→ **Les bandes R (Reverse) :**
Les chromosomes sont traités par la chaleur puis colorés au giemsa.
Les bandes obtenues sont inverses par rapport aux deux techniques précédentes, elle colore ainsi les régions riches en Cytosine et Guanine.

→**Les bandes C (Centromère) :**

C'est une technique qui colore surtout les centromères et la partie distale du chromosome Y.

→**Les bandes T (Télomère) :**

C'est une technique qui colore surtout les télomères (extrémités des chromosomes).

♦Les techniques spéciales

Technique de bandes en haute résolution :

Analyse fine du caryotype par l'étude, après coloration en bandes G ou R, des cellules en prométaphase (fin de prophase ou début de métaphase) ce qui permet le passage d'un système de 300 bandes à un système de plus de 1000 bandes par lot haploïde.
Le chromosome est moins condensé qu'en métaphase donc on peut détecter des anomalies qui n'apparaissent pas sur un caryotype classique(les microdélétions).

Cytogénétique moléculaire :

Utilise des sondes d'ADN marquées spécifiques, complémentaires à des régions du chromosome qu'on veut explorer exp:

- FISH : hybridation in situ en fluorescence : utilisation de sondes d'ADN fluorescentes pour idantifier de manière ciblée les microremaniements chromosomiques non détectable par le caryotype classique.

3-INDICATIONS DU CARYOTYPES :

- MALFORMATIONS CONGENITALES (multiples++)
- RETARD DE CROISSANCE exp: syndrome de Turner
- RETARD MENTAL
- AVORTEMENTS A REPETITION+++
- STERILITE exp : syndrome de klinefelter
- Antécédents DE MALADIES CHROMOSOMIQUES DANS LA FAMILLE
- AMBIGUITE SEXUELLE
- CERTAINS CANCERS

4-Etude cytogénétique du noyau en interphase

C'est l'étude de la répartition de la chromatine dans le noyau interphasique.

Exemples:

- **corpuscule de Barr**: c'est une petite masse d'hétérochromatine triangulaire plaquée contre la face interne de la membrane nucléaire. On le recherche dans le syndrome de turner, klinefelter, ambiguité sexuelle.

-La coloration de cellules masculines à la quinacrine permet de révéler un point brillant au sein du noyau, ce qui correspond à une partie du chromosome Y.

La cytogénétique moléculaire peut s'appliquer également sur des noyaux interphasiques pour detecter des anomalies de nombre et de structure.

FACULTE DE MEDECINE D'ALGER

Dr BOUDIAF BENAFERI .R

LES ANOMALIES DU CARYOTYPE

I / INTRODUCTION :

Chez l'Homme, un caryotype normal sous entend 23 paires de chromosomes de structure normale dans toutes ses cellules.

Il arrive que le caryotype présente des anomalies qui concernent soit le nombre des chromosomes soit leur structure.

Les anomalies chromosomiques peuvent être :

***constitutionnelles** : l'accident chromosomique s'est produit dans l'un des gamètes ou lors de la fécondation.

Si toutes les cellules ont la même anomalie on parle **d'anomalie homogène** (exp:syndrome de Turner….).

***acquises :** l'accident chromosomique s'est produit pendant la vie de l'individu. Un seul organe ou un seul tissu est atteint. Le sujet est porteur d'un processus cancéreux.

***en mosaïque** : si l'anomalie concerne que quelques organes ou quelques tissus d'un individu alors que le reste a un caryotype normal. L'accident chromosomique s'est produit après plusieurs divisions du zygote (premiers stades du développement embryonnaire).

***les chimères** : parfois un embryon peut résulter de l'agrégation de deux zygotes (phénomène inverse de la gémellité), ou bien de la colonisation limitée de l'un des jumeaux par les cellules de l'autre jumeau dizygote. Donc l'embryon porte deux populations cellulaires différentes avec deux caryotypes totalement différents.

II / ANOMALIE DE NOMBRE DES CHROMOSOMES :

On les subdivise en deux :

1-LES EUPLOÏDIES :

Le nombre des chromosomes est un multiple de **n , n** étant le nombre de chromosomes dans un gamète haploïde normal(23). Au lieu de 2 x n chromosomes (nombre diploïde normal dans la cellule somatique) on aura soit 3 x n : 69 chromosomes, c'est les **TRIPLOÏDIES.** Ou 4 x n : 92 chromosomes qui correspond aux **TETRAPLOÏDIES**…….

Les euploïdies sont appelées aussi **POLYPLOÏDIES**.

On les trouve, en général, dans certains produits d'avortements. Il y a même quelques cas (surtout les triploïdies) de fœtus qui sont arrivés à terme.

Les modifications numériques sont dues à des anomalies de la fécondation, surtout :

- non expulsion du deuxième globule polaire (ovule).

- fécondation d'un ovule par deux spermatozoïdes ou plus.

On peut aussi trouver des euploïdies dans certains types de cancers.

2-LES ANEUPLOÏDIES :

C'est le type le plus important du point de vu clinique.

Bien que la définition exacte d'aneuploïdie correspond au nombre de chromosomes qui n'est pas le multiple de **n,** on retrouve en pratique, soit un chromosome en plus (2n+1) : on a donc 47chromosomes,on parle de **TRISOMIE.** Soit un chromosome en moins (2n-1) : on a donc 45 chromosomes et on parle de **MONOSOMIE.**

Ceci peut concerner soit les autosomes soit les gonosomes.

L'aneuploïdie résulte d'une non disjonction méiotique soit lors de la première ou la deuxième division.

III / ANOMALIES DE STRUCTURE DES CHROMOSOMES :

Ces anomalies sont la conséquence de cassures chromosomiques suivies par un recollement anormal.

Ces anomalies peuvent affecter un chromosome ou deux qui peuvent être homologues ou non, parfois plusieurs chromosomes sont impliqués.

- Ces aberrations peuvent être **EQUILIBREES :** il n'y a ni perte ni gain de matériel génétique, donc elle n'a pas d'effets sur le phénotype de celui qui la porte mais elle aura des conséquences sur la descendance.

- Elles peuvent être **DESEQUILIBREES :** il y a soit perte ou gain de matériel génétique, donc elles ont un effet sur le phénotype de la personne qui porte ce type d'anomalie.

1- LES DELETIONS (del) :c'est une perte d'un segment chromosomique (qui épargne le centromère).
Ce sont des anomalies déséquilibrées, on les subdivise en deux :

-La délétion terminale : dans ce cas il y a une seule cassure chromosomique.

-La délétion interstitielle : dans ce cas il y a deux cassures.

2- CHROMOSOME EN ANNEAU (r) « ring » : il résulte d'une double délétion (perte des deux télomères) d'un chromosome suivi d'un recollement de ses deux extrémités.

L'anneau est dit **centrique** si le centromère est présent ou **acentrique** s'il ne comporte pas de centromère. Dans ce dernier cas, le chromosome sera perdu lors des divisions cellulaires (peut être équilibré ou déséquilibré)

3- DUPLICATION (dup) : c'est une anomalie déséquilibrée (matériel génétique en plus) se traduisant par une répétition d'un fragment chromosomique sur un même chromosome. Elle est due parfois à un crossing over inégal entre deux chromosomes homologues.

4- INSERTION (ins) : c'est l'ajout d'un fragment chromosomique à un chromosome non homologue (anomalie déséquilibrée ou non).

5- INVERSION (inv) : c'est une anomalie équilibrée. Elle survient lorsque un chromosome subit deux cassures puis une rotation de 180° et recollement du segment cassé.

Selon que le centromère est impliqué ou non dans l'inversion, on distingue :

- L'inversion paracentrique : si le centromère n'est pas impliqué
- L'inversion péricentrique : si le centromère est impliqué

6- ISOCHROMOSOME (i) : c'est une anomalie déséquilibrée. Elle résulte d'une cassure transversale du centromère donc il y aura duplication d'un bras entier et une délétion de l'autre bras

7- LES TRANSLOCATIONS (t) : c'est un échange de matériel génétique entre deux chromosomes (anomalie équilibrée)

- **La translocation réciproque :** c'est un échange de segments entre deux chromosomes non homologues qui ont subi, chacun une cassure en un point plus ou moins proche de leurs extrémités.
  Dans la plupart des cas, il y a formation de deux chromosomes avec chacun un centromère

  Beaucoup plus rarement, il y a formation d'un chromosome acentrique et un chromosome dicentrique, ce dernier type d'anomalie n'est pas viable.

- **Translocation Robertsonienne** (fusion centrique) : cette translocation survient lorsque des points de cassure se produisent au niveau ou près du centromère de deux chromosomes acrocentriques (21,22,14…..) soit homologues ou non, et que les bras longs des deux chromosomes fusionnent (on peur avoir soit un centromère ou deux centromères accolés). Les bras courts sont perdus.
  Malgré une perte du matériel génétique, ce type d'anomalie est considéré comme équilibré car il n'entraîne pas de troubles phénotypiques.