

Les surprises du caryotype foetal sur villosités choriales : à propos de 2 cas de discordance foetoplacentaire

Christine VALEX
Service de Cytogénétique
CHU de Lyon

ATC Nantes 2008

**NOUS AVONS CONSTRUIT CET EXPOSE SUR LES DFP A PARTIR DE 2
OBSERVATIONS**

**LEUR ETUDE EST REALISEE A PARTIR DE PVC ET JE VAIS VOUS
RESUMER LES TECHNIQUES UTILISEES AU LABO POUR ETABLIR LE
CARYOTYPE FOETAL**

Technique PVC

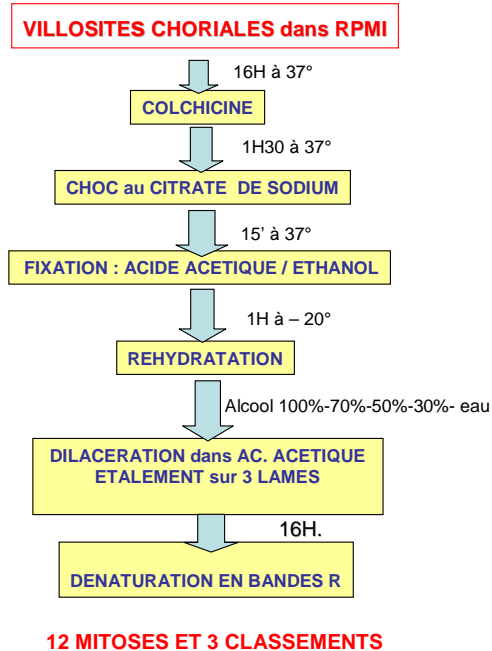
- Comprend toujours examen direct et culture cellulaire
- PVC adressée dans du RPMI
- Technique le jour même
 - Tri
 - Une partie pour l'examen direct
 - Une partie pour la culture cellulaire

**A PARTIR DE LA PVC, NOUS REALISONS TOUJOURS EN PARALLELE
EXAMEN DIRECT ET CULTURE CELLULAIRE**

ELLE NOUS EST ADRESSEE DANS DU MILIEU RPMI

**APRES TRI , UNE PARTIE EST DESTINEE à L'ED ET L'AUTRE A LA
CULTURE CELLULAIRE**

TECHNIQUE: EXAMEN DIRECT en 48h.



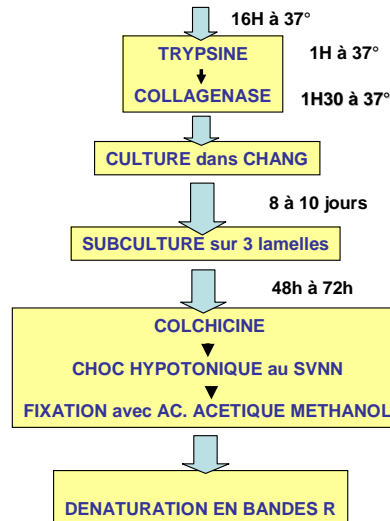
Examen direct (48 heures)

L'ED est réalisé en 48H.

- les VC sont déposées dans du milieu RPMI additionné de SVF (5%) et incubées une nuit à 37
- Le lendemain, il y a ajout d'une solution de colchicine (20mg/ml dilué au 1/5) pendant 1h30 à 37°;
- Puis choc au citrate de sodium (1%) pendant 15 min. à 37°;
- Fixation avec le mélange acide acétique + alcool absolu (1/4-3/4) pendant 1 h. au moins et à froid.
- Et après réhydratation dans des bains successifs d'éthanol de +en+ dilué, les VC sont dilacérées dans une solution d'acide acétique à 70 % et étalées sur 3 lames.
- • Le lendemain, 2 lames sont dénaturés en bandes R dans une solution de Earle (pH 5,6) au BM à 87°; puis colorées au Giemsa (2%)
- Nous photographions 12 mitoses dont 3 sont classées ;

TECHNIQUE: CULTURE CELLULAIRE.

VILLOSITES CHORIALES dans CHANG



16 MITOSES sur au moins 2 lamelles et 3 CLASSEMENTS

Pour la Culture cellulaire les VC sont incubées 1 nuit dans du milieu Chang

Le lendemain matin, le milieu de culture est décanté et remplacé par une solution de trypsine (1%) pendant 1h à 37°; remplacée par une solution de collagénase (1 mg/ml) pendant 1h30 à 37°;

Après centrifugation le culot cellulaire est remis en suspension dans du milieu de Chang, déposé dans un flacon de culture et placé à l'étuve jusqu'au moment de la subculture

Elle est faite dans 3 petites boîtes de Petri contenant des lamelles ;

Après 3 à 5 jours de culture, quand le nombre de cellules est suffisant, la culture est stoppée par blocage mitotique à la colchicine, puis choc hypotonique au sérum de veau nouveau né, fixation au mélange méthanol-acide acétique ;

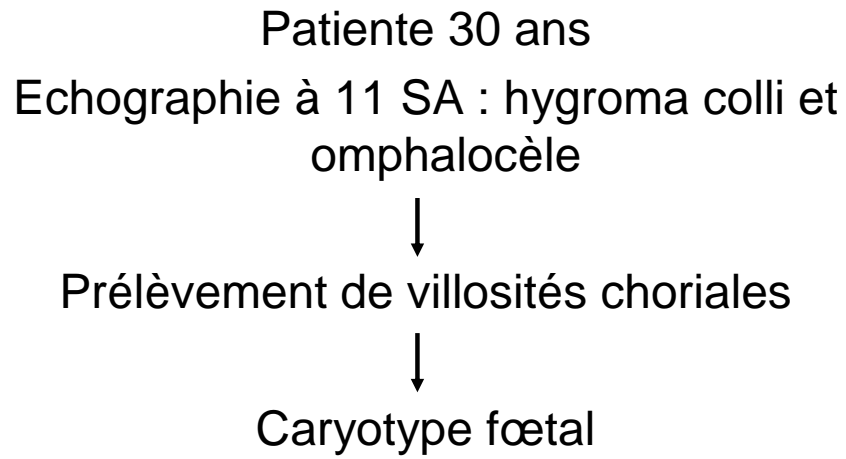
Les mitoses sont dénaturées en bandes R et colorées au Giemsa.

La lecture se fait sur au moins 2 lamelles et nous photographions 16 mitoses.

Deux observations

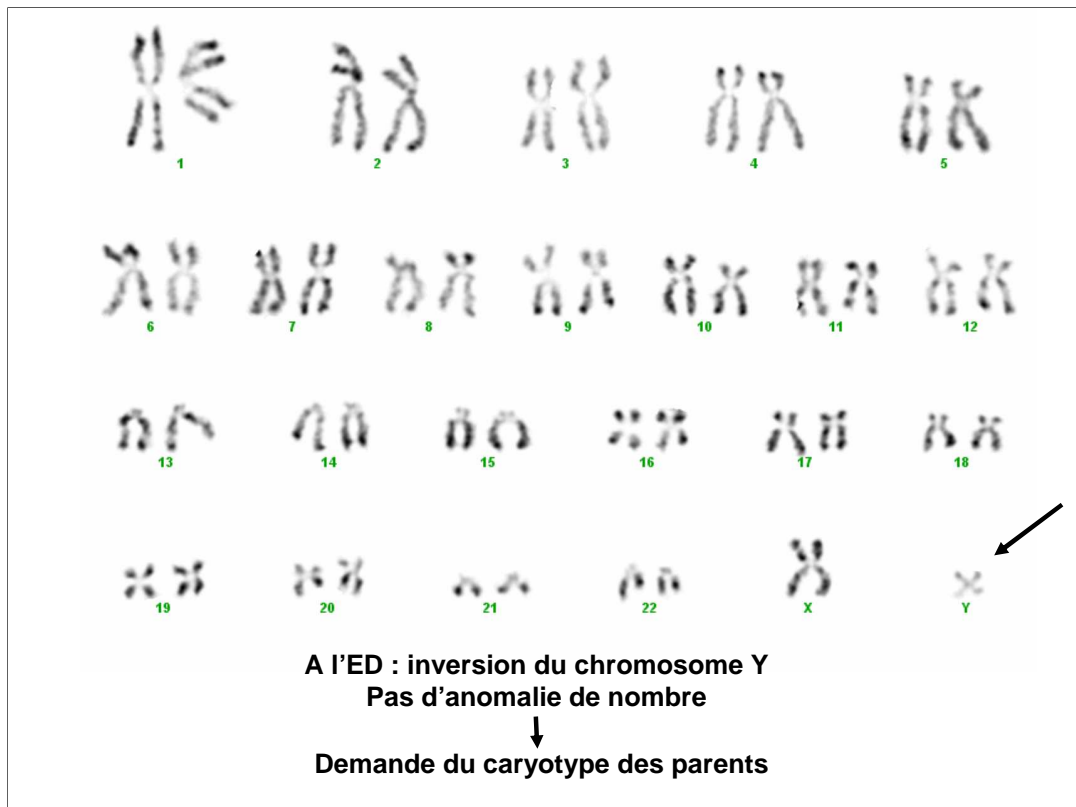
Je vais maintenant vous décrire les 2 observations et leurs résultats

Première observation



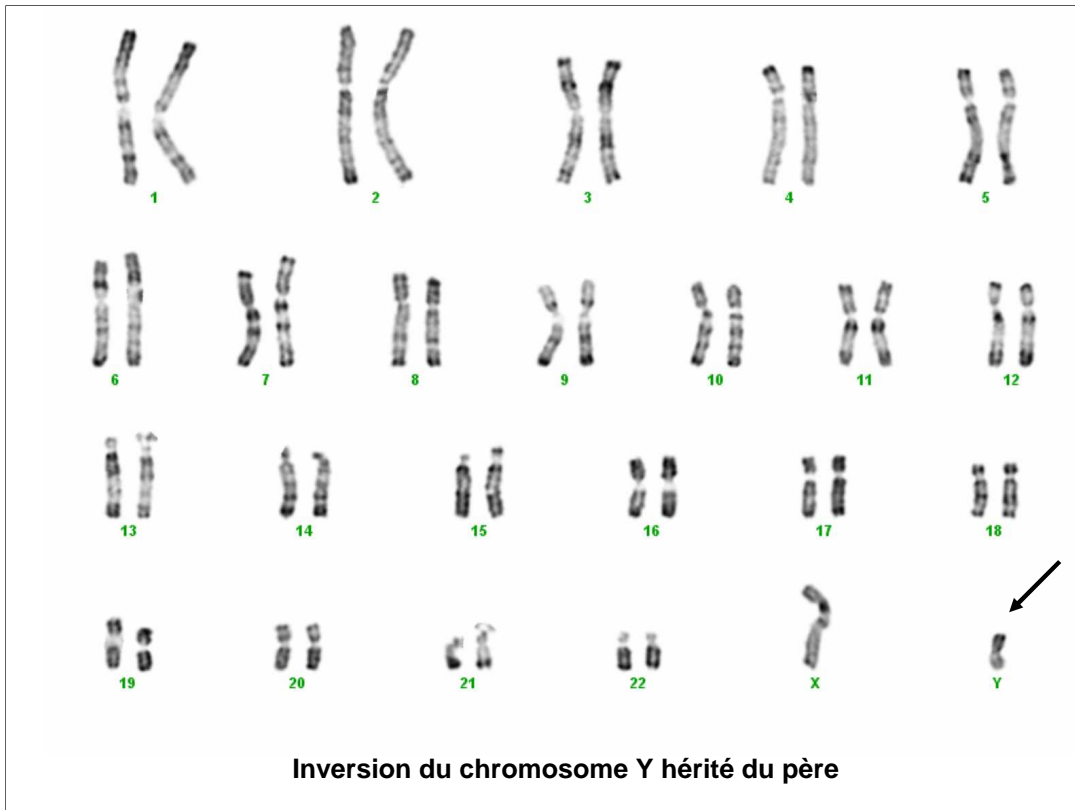
En ce qui concerne la 1ere observation, il s'agit d'une patiente âgée de 30 ans pour laquelle l'échographie à 11 SA révèle un hygroma colli associé à un omphalocèle;

Il est pratiqué un PVC pour caryotype foetal

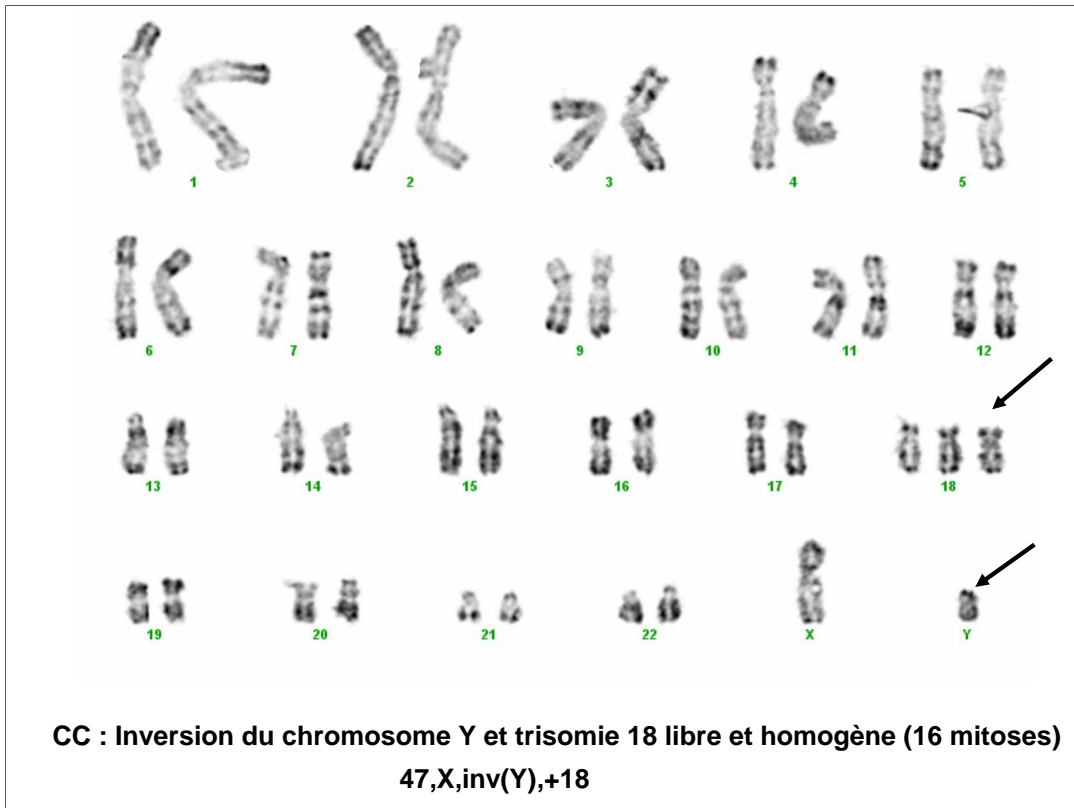


L'examen direct révèle un remaniement du chromosome Y évoquant une inversion de l'Y, il n'y a pas d'anomalie de nombre sur les 5 mitoses observées;

Le caryotype des parents est demandé



Sur le caryotype paternel, on retrouve l' inversion du Y héritée par le fœtus



La culture cellulaire révèle une trisomie 18 homogène associée à l'inversion du chromosome Y sur les 16 mitoses observées:

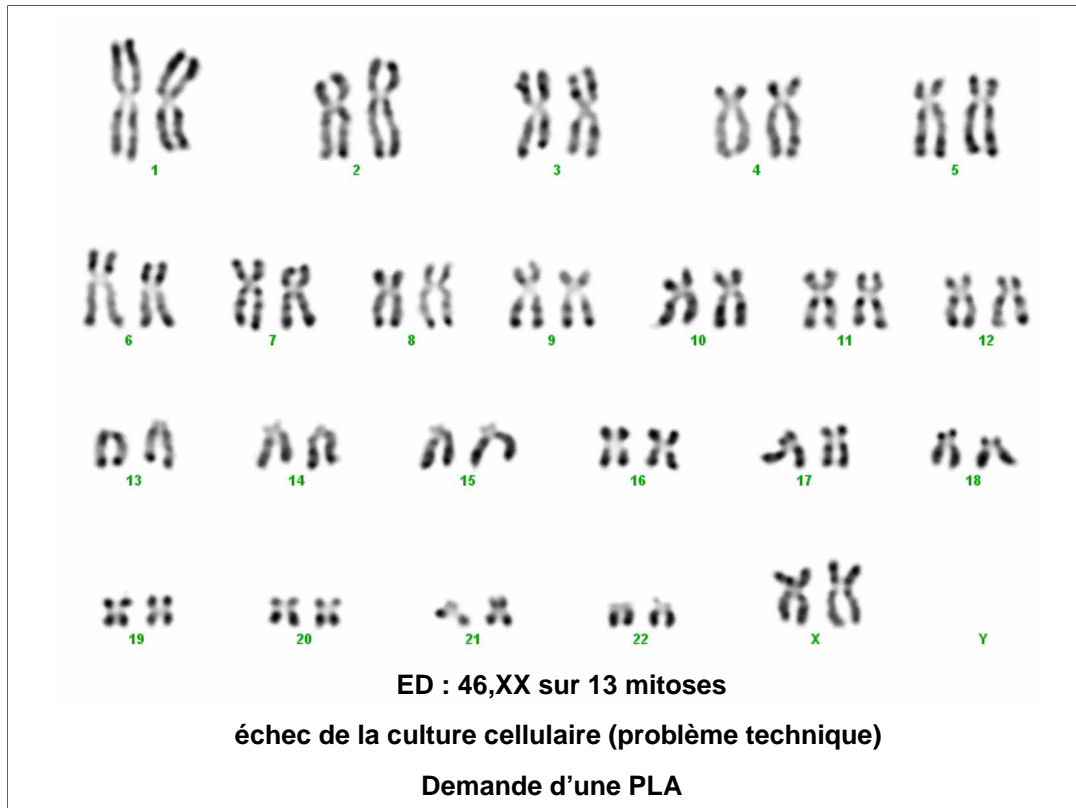
47,X,inv(Y),+18

La grossesse est interrompue suite à ce résultat

Deuxième observation

Patiente 33 ans
Echographie à 13 SA : CN à 3.5 mm
↓
Prélèvement de villosités choriales
↓
Caryotype foetal

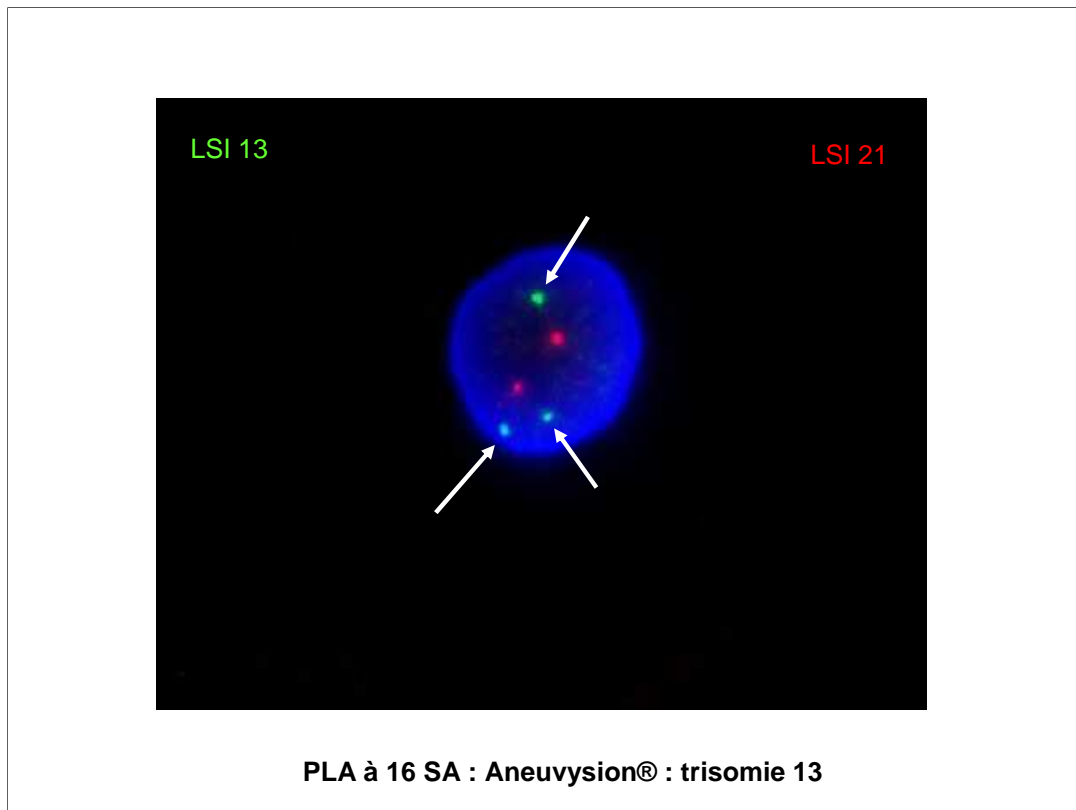
La 2eme patiente a 33 ans , l'échographie à 13 SA montre une CN à 3,5 mm qui impose une PVC en vue du caryotype foetal



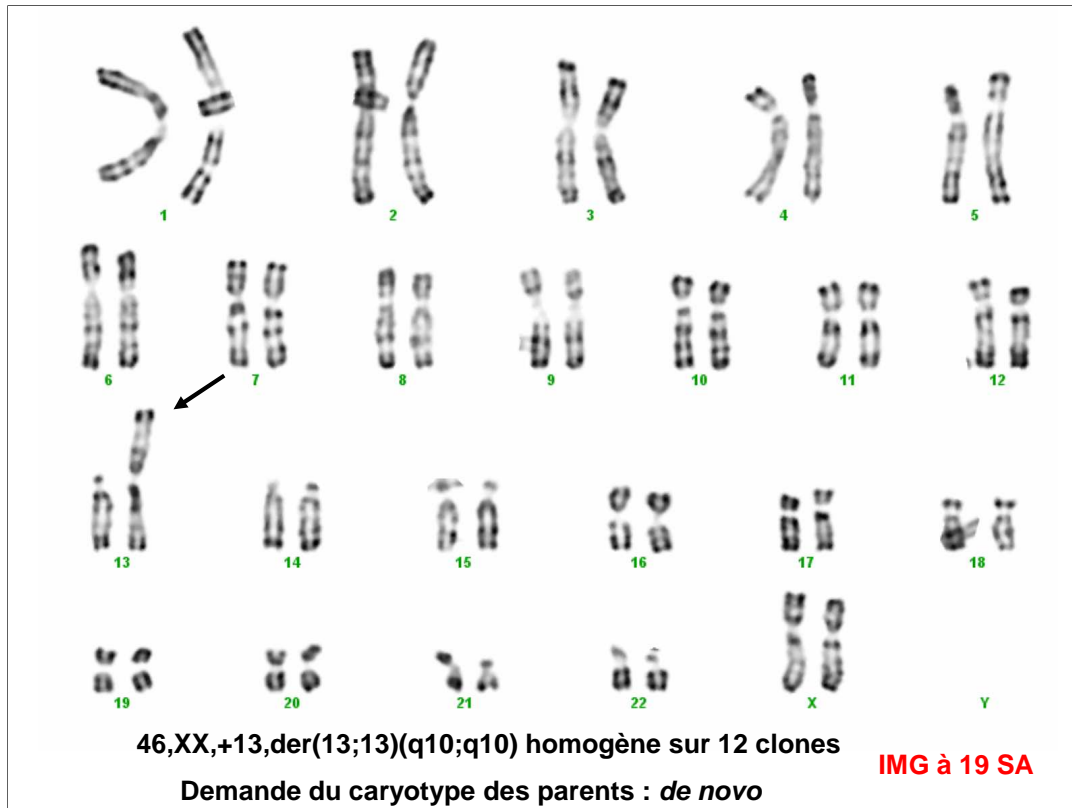
L'ED découvre un caryotype normal 46,XX

En raison d'un problème technique la culture cellulaire doit être abandonnée

Une ponction de liquide amniotique est réalisée à 16 SA



L'HIS avec le kit aneuvysion de chez Abbott, sur les noyaux interphasiques des cellules amniotiques non cultivées, révèle une trisomie 13 sur les 100 noyaux observés



La culture du liquide amniotique confirme la trisomie 13 par translocation 13;13 :

LE Caryotype des parents ne révèle aucune anomalie, la translocation n'est pas héritée de l'un des parents

DISCUSSION

RESULTATS

Pour résumer ces résultats:

RESULTATS

- Deux cas de discordance foetoplacentaire
 - 1°: entre l'ED et la CC
 - 2°: entre l'ED et la PLA

Nous sommes en présence de 2 résultats avec DFP:

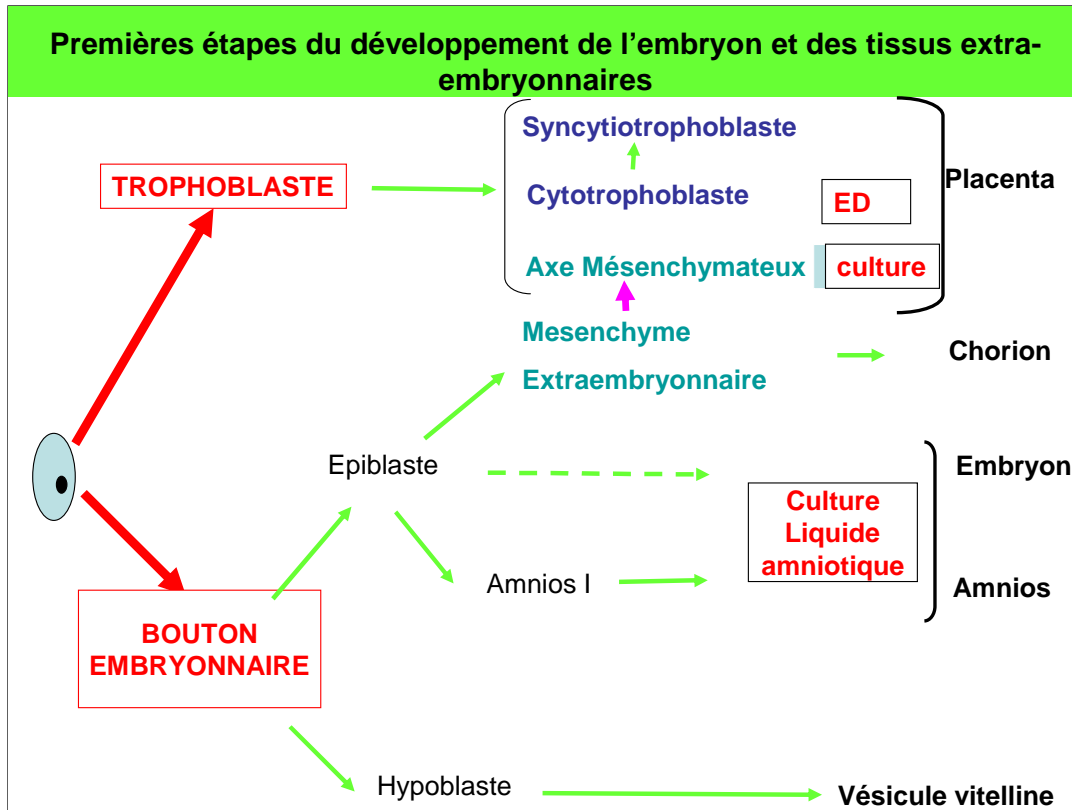
Pour la 1ere observation, entre l' ED et la CC et pour la 2 ème entre l'ED et la PLA

Pour COMPRENDRE CES RESULTATS CONTRADICTOIRES, je vous présente ce tableau:

DISCUSSION

EMBRYOLOGIE

Pour comprendre ces résultats contradictoires, il nous faut faire un peu d'embryologie



Avec ce tableau Qui montre que Les Origines embryologiques des cellules examinées sont différentes

Après les premières divisions cellulaires, les cellules se spécialisent et très rapidement on distingue 2 lignées cellulaires: trophoblaste et bouton embryonnaire

Le trophoblaste est à l'origine du cytotrophoblaste puis du syncytiotrophoblaste analysés à l'ED (pas de division en culture)

Le bouton embryonnaire donnera d'une part, le mésenchyme extraembryonnaire puis l'axe mésenchymateux analysé à la culture des VC (l'ensemble représentera le placenta)

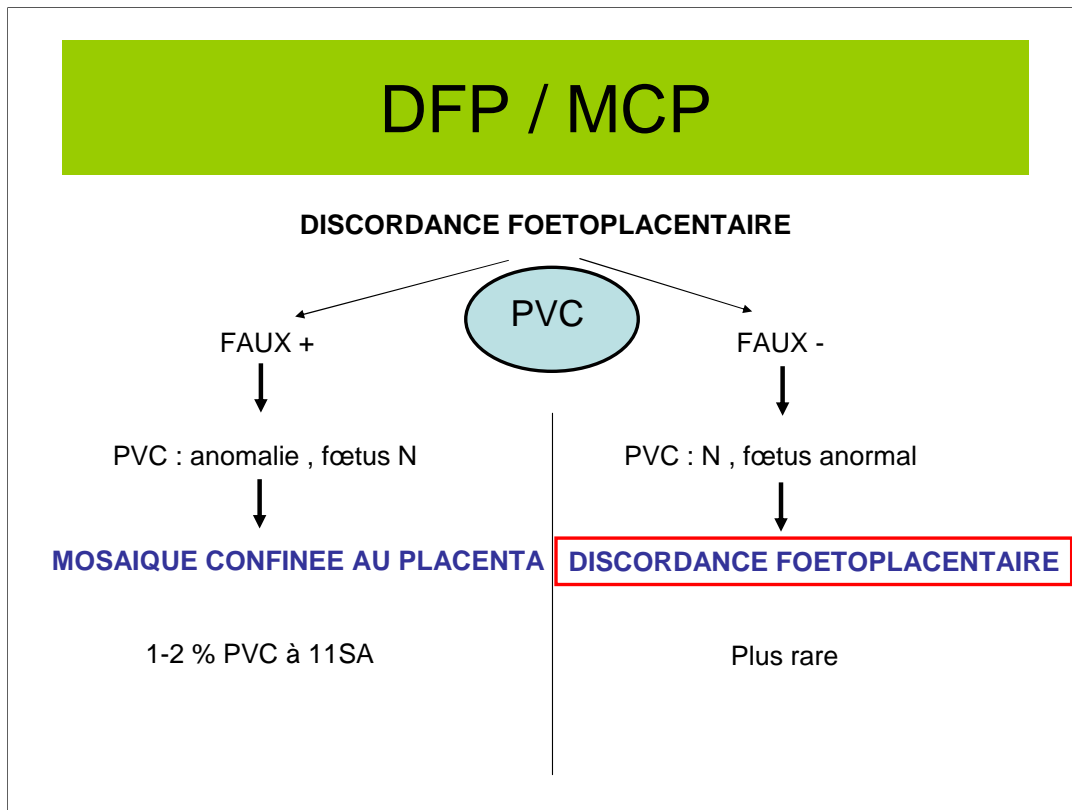
et d'autre part, l'embryon et l'amnios explorés grâce au LA

DISCUSSION

DEFINITIONS

Avant de poursuivre avec les mécanismes, il me faut définir les DFP

DFP / MCP



Il faut distinguer 2 sortes de DFP :si on a un faux résultat positif, cad PVC anormal alors que le fœtus est normal:

Il s'agit d'une MCP: elles représentent 1 à 2 % DES PVC à 11 SA

Si on a un faux résultat négatif, cad PVC normale et Fœtus anormal

il s'agit d'une DFP VRAIE illustrée par nos 2 observations;

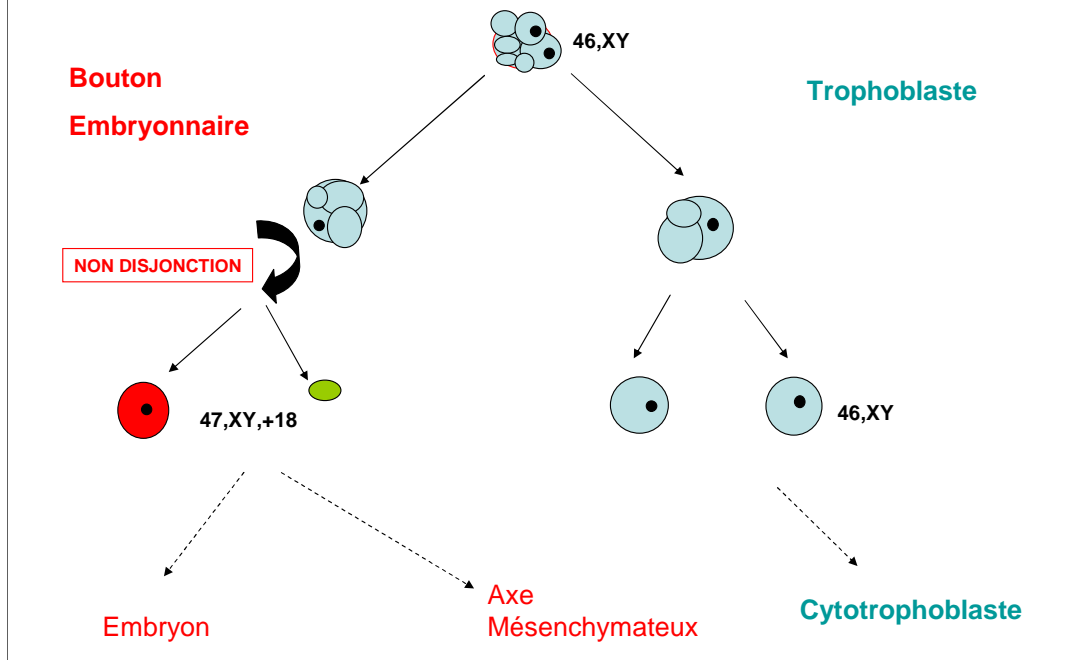
Elle sont plus rares

DISCUSSION

MECANISMES

CES DFP résultent de mécanismes impliquant soit accident soit REPARATION AU COURS DES 1ERE DIVISIONS CELLULAIRES

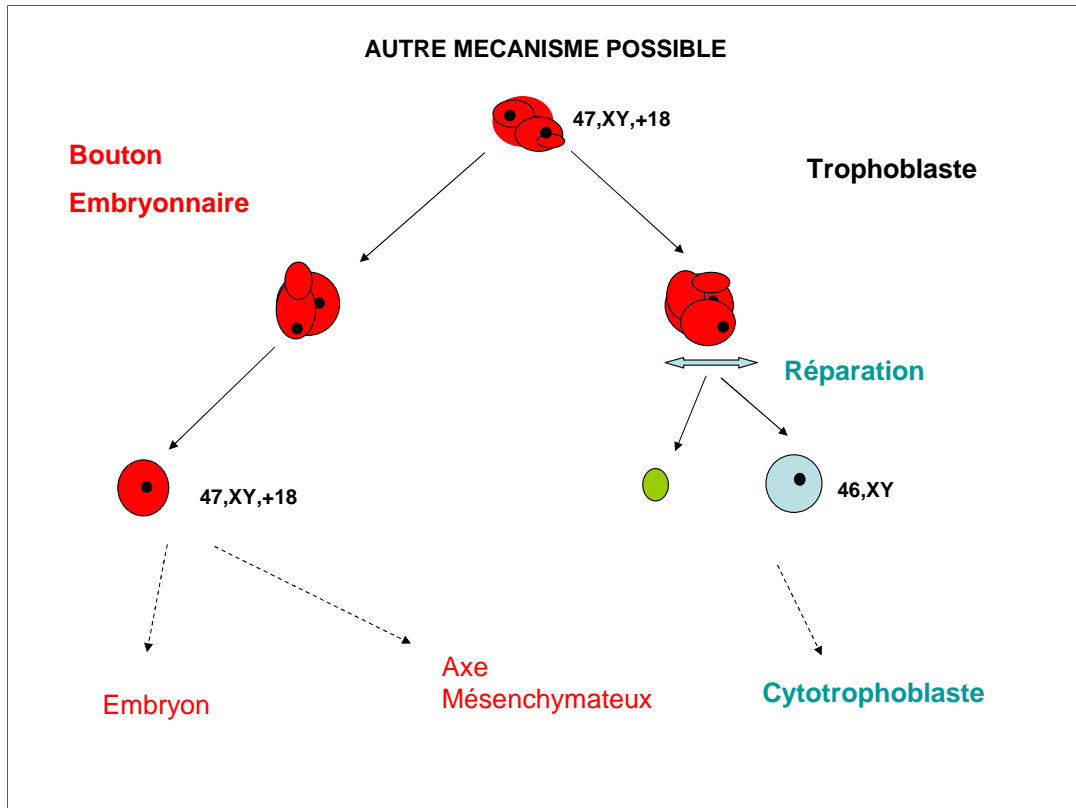
Mécanisme du 1^o cas (ED : 46,XY CC : 47,XY,+18)



2 scénarios sont possibles:

Soit la cellule originelle a un caryotype normal, par exemple 46,XY dans la 1^{ere} observation,

Une non disjonction post zygotique, sur les chr. 18 a lieu a un stade très précoce dans le bouton embryonnaire générant une cellule trisomique et une cellule monosomique 18 non viable

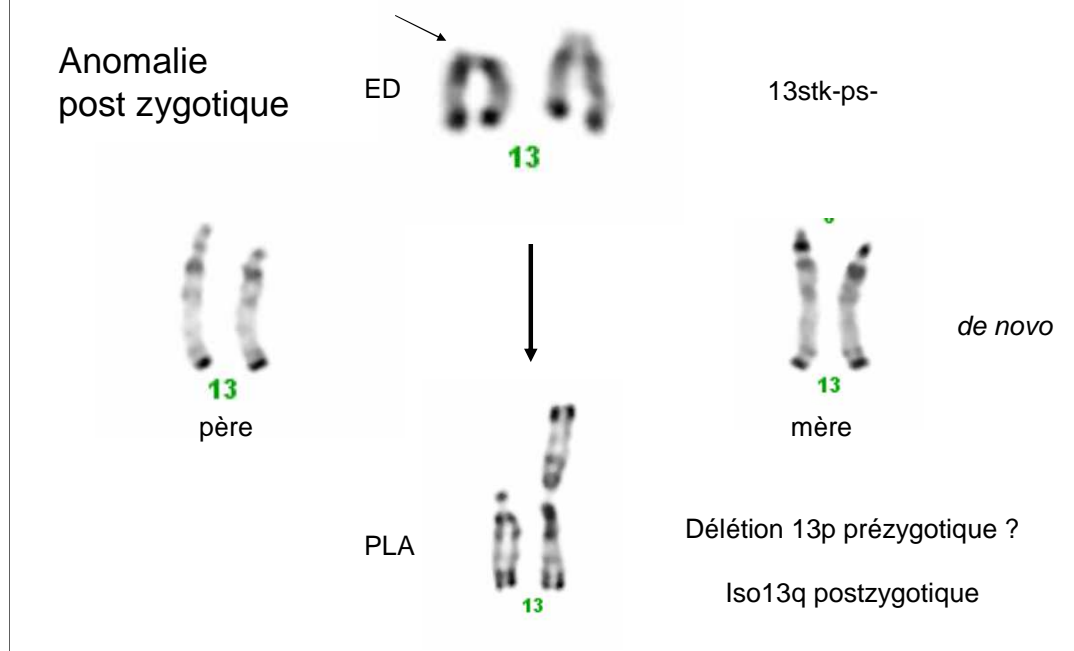


Soit la cellule originelle a un caryotype anormal (ici tri 18), l'anomalie est d'origine méiotique;

Il y a tentative de correction, uniquement au niveau du trophoblaste perte d'un chromosome et rétablissement de la diploïdie au niveau du cytotrophoblaste et

embryon , axe villositaire restent trisomiques

Mécanisme du 2^o cas (ED : N, PLA : Tri13)



Dans la 2^{eme} observation, on suppose les même origines méiotique ou bien mitotique de l'anomalie

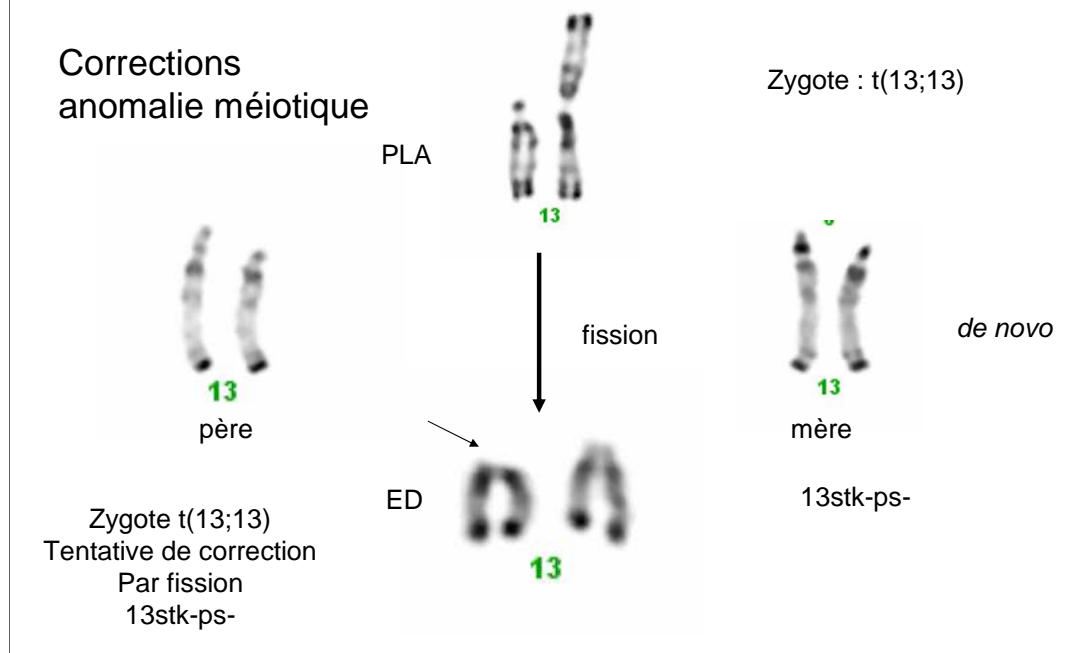
Mais il y a une singularité:

on observe sur le caryotype obtenu à partir de l'Ed que l'un des chromosome 13 est délété de son bras court;

par ailleurs les chromosomes 13 parentaux sont normaux:

Soit il y a eu délétion 13 p à la méiose qui a favorisé la formation d'un iso 13q postzygotique dans le bouton embryonnaire.....

Mécanisme du 2^o cas (ED : N, PLA : Tri13)



Soit la formation de l'iso 13 q est prézygotique et il y a tentative de correction par fission dans le trophoblaste

DISCUSSION

LIMITES

Avant de conclure, je vous parlerai des limites de notre étude

Discussion

- Pas d'exploration possible des tissus foetaux : mosaïque tissulaire foetale ?
- Mécanisme : Pas d'exploration en biologie moléculaire pouvant confirmer l'hypothèse d'un événement pré ou post zygotique

Nous ne pouvons pas être certains que les anomalies sont homogènes puisque nous n'avons pas pu explorer tous les tissus foetaux

Et nous ne pouvons pas trancher sur l'origine pré ou post zygotique des trisomies sans une analyse en biologie moléculaire

Conclusion

- DFP : Avec Tropho : N, fœtus anormal : rares
- MCP : 1 à 2% sur PVC à 11SA
- Faire ED et CC
- Si SAE et échec CC ; demander PLA
- MCP / DFP : Important à connaître
 - apparition des marqueurs sériques du 1^{er} trimestre
 - calcul de risque combiné au 1^{er} trimestre
 - évolution de la stratégie de dépistage de la T21
 - Et plus de PVC dans l'avenir

Pour conclure:

Les DFP associées à un trophoblaste normal et un fœtus anormal sont rares

Les MCP représentent 1 à 2 % des PVC à 11 SA

ED et CC sont obligatoirement associés et si, comme il nous est arrivé il y a échec de la CC, il faut demander une PLA

Ces notions de MCP et de DFP s'imposeront de + en + avec la détermination future des marqueurs sériques du 1^{er} trimestre, le calcul de risque combiné au 1^{er} trimestre, la stratégie de dépistage de la tri 21 va évoluer

Et Nous aurons davantage de PVC dans l'avenir

Remerciements

Ensemble de l'équipe du service de cytogénétique
du CHU de Lyon

Angeï C

Bel C

Fautrelle A

Jelassi B

Lavert C

Perbet C

Rafat A

Sanlaville D

Banquart E

Caine L

Hempel C

Josué S

Martin M

Valex C

Schluth-Bolard C

Till M

Edery P