

Diagnostic des ambiguïtés sexuelles : à propos de deux cas

AMINE BESSAAD¹, YACEF SIHEM¹, BELAIDAIT ABDELKADER²

¹ Département de Biologie des populations et organismes, Faculté sciences de la nature et de la vie, Université Blida1

² Laboratoire de Cytogénétique, Centre Pierre et Marie Curie, Alger

Abstract

La différenciation sexuelle dépend d'une succession d'événements dont chacun peut être le siège de dysfonctionnements aboutissant à l'ambiguïté sexuelle. Les troubles du développement sexuel peuvent être causés par des anomalies génétiques (chromosomiques) ou hormonales. Les résultats obtenus montrent que le caryotype offre l'avantage d'analyser les anomalies cytogénétiques qui affectent chacun de nos chromosomes avec un pouvoir résolutif limité, soulignant la nécessité d'utiliser des techniques plus précises, telles que la FISH, pour mettre en évidence des microremaniements chromosomiques en cause dans l'étiologie de certaines pathologies humaines.

Mots clés : ambiguïté sexuelle, pseudohermaphrodisme, cytogénétique, caryotype, FISH

Introduction

La différenciation sexuelle dépend d'une succession d'événements dont chacun peut être le siège de dysfonctionnements aboutissant à l'ambiguïté sexuelle. Les troubles du développement sexuel peuvent être causés par des anomalies génétiques (chromosomiques) ou hormonales. Les résultats obtenus montrent que le caryotype offre l'avantage d'analyser les anomalies cytogénétiques qui affectent chacun de nos chromosomes avec un pouvoir résolutif limité, soulignant la nécessité d'utiliser des techniques plus précises, telles que la FISH, pour mettre en évidence des microremaniements chromosomiques en cause dans l'étiologie de certaines pathologies humaines.

Mots clés : ambiguïté sexuelle, pseudohermaphrodisme, cytogénétique, caryotype, FISH

La cytogénétique humaine est une discipline récente dont l'essor date de 1956 avec la détermination du nombre exact de chromosomes chez l'homme (Tijo et Levan, 1956). En 1970, l'introduction des techniques de marquage en bandes des chromosomes a grandement amélioré la résolution et la sensibilité de l'analyse cytogénétique classique, permettant l'étude du nombre et de la structure des chromosomes. Enfin, l'apparition de l'hybridation in situ fluorescente en 1986 et son développement rapide offre aujourd'hui toute une panoplie d'outils permettant une étude de plus en plus fine et précise des chromosomes et de leur structure.

Grâce à ces techniques, de nombreuses pathologies autosomiques et gonosomiques ont pu être identifiées, telles que les ambiguïtés sexuelles ou anomalies du déterminisme du sexe (ADS).

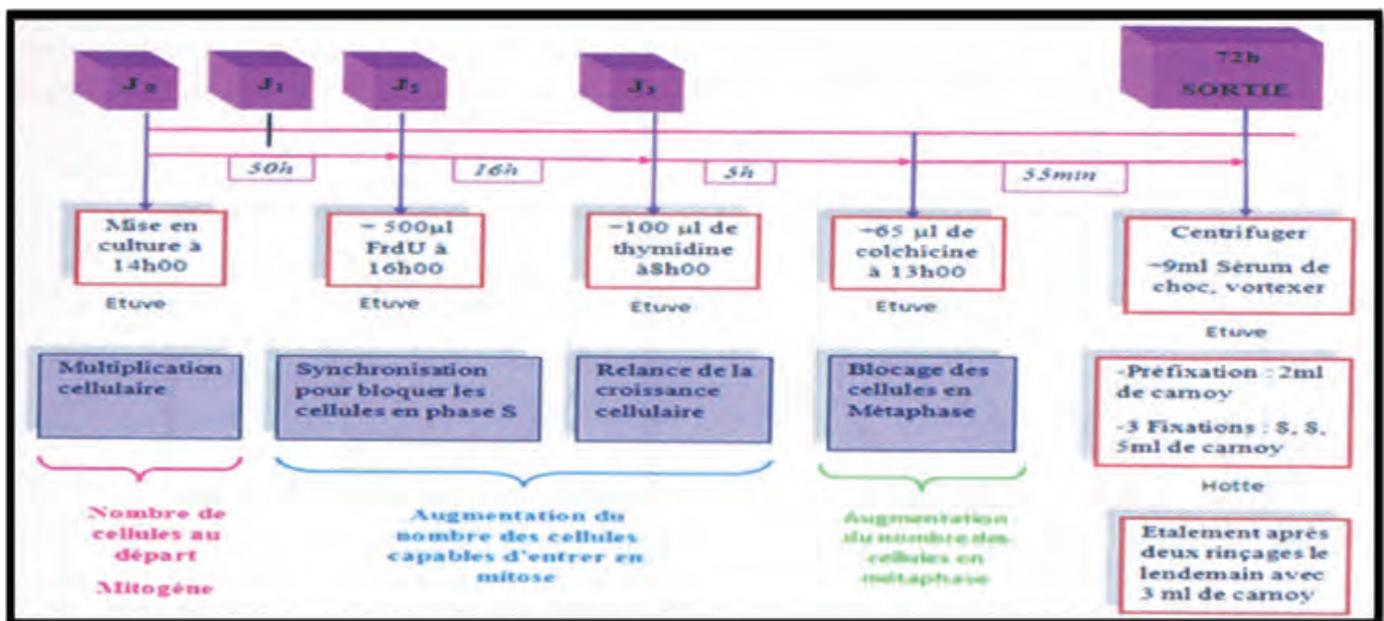
Nous voulons montrer le rôle de l'étude cytogénétique dans la pathologie du déterminisme du sexe. Nous avons étudié l'ensemble des cas d'ambiguïtés sexuelles colligés au service de cytogénétique au centre Pierre et Marie Curie CPMC.

PATIENTS et méthodes

Après une consultation assurée par le médecin pour compléter les renseignements et orienter la thérapeutique, une prise de photo des patients puis un prélèvement sanguin, sont effectués.

Deux tubes coniques sont utilisés, un contient un milieu de culture RPMI complet (Roswell Park Memorial Institute medium) sur lequel on va travailler et l'autre contient un milieu de culture TC complet ce dernier va être conservé au réfrigérateur à (+4°C) pendant 10 jours au maximum, dans les deux tubes on rajoute les phytohémagglutinine

Figure 1: les différentes étapes de culture des lymphocytes et leur intérêt (ZEROUAK.N, 2011).



1- Cytogénétique conventionnelle (Caryotype)

-Traitement des lames en bandes R
 Il s'agit d'une dénaturation thermique ménagée en milieu ionique (Earl: Earlsbalancedsalt solution) pH 6,5 à 87°C, (20 à 25min)
 Le marquage des chromosomes est observé au microscope à fluorescence(ZEISSMOTORISE) à faible grossissement (10x) afin de repérer les mitoses. Puis, (100x) utilisant l'huile à immersion.
 La capture se fait par un logiciel d'acquisition d'image MetaSystemIKAROS qui permet de classer les chromosomes. (Figure 2)

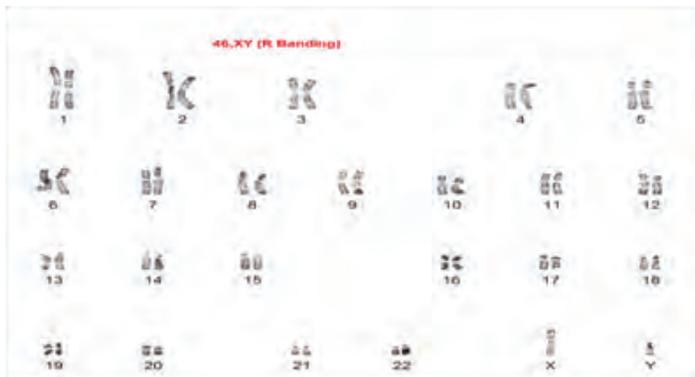


Figure 2: caryotype normal en bande R (photo du laboratoire de cytogénétique, CPMC)

2- Étapes spécifiques à la FISH

La technique d'hybridation in situ en fluorescence (FISH), consiste à hybrider une sonde moléculaire fluorescente avec une cible chromosomique sur une lame de verre (Pinkel et al,1988).10 µl de sonde sont déposés sur l'échantillon et couvrir avec une lamelle. Sceller avec du rubber cément et laisser sécher. La dénaturation de l'échantillon et de la sonde se fait dans le thermobrite à 75°C pendant 2min.

Résultats et discussion

Le patient I

A. Clinique

Cette patiente, âgée de 26 ans a été adressée au laboratoire de la cytogénétique pour une suspicion du syndrome de Morris. La patiente présente un phénotype typiquement féminin à la naissance, une absence d'organes génitaux féminins internes, les testicules de taille normale (droit : 53, gauche : 55mm), se trouvant en extra abdominale en regard des grandes lèvres. Le bilan hormonal révèle un taux de testostérone normal.

B. Résultat cytogénétique

Le caryotype standard de cette patiente se révèle être un caryotype masculin, avec présence des gonosomes X et Y (Figure 22).expliquant le phénotype décrit ci-dessus.

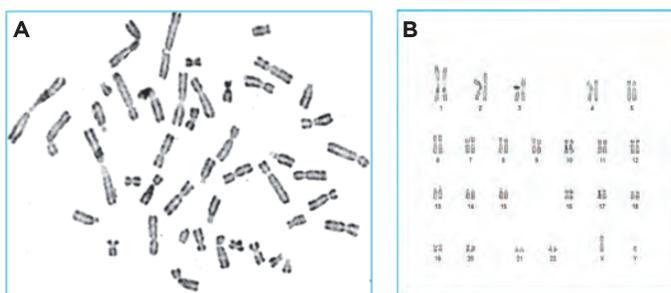


Figure 3 : Étude cytogénétique de la patiente Iqui présente un syndrome de Morris.

(A) colorationGiemsa au stade métaphasique . (B) caryotype en bandes R : la patiente présente un caryotype masculin 46, XY.

Les résultats démontrent une anomalie de testicule féminisant appelé également le syndrome de Morris causée par une insensibilité des tissus périphériques aux androgène liée à un défaut de récepteur cellulaire correspondant ou à un défaut touchant, soit la transcription du gène soit la liaison nucléaire du complexe stéroïde récepteur (Krichen et al., 2005) ; (Chawnsang, 2002).

Le syndrome du testicule féminisant est une maladie à transmission récessive liée à l'X et est due à une mutation affectant le gène codant pour la synthèse des récepteurs aux androgènes (Schill et al.,2008)

Ce gène est porté par le bras court du chromosome X (X p11-13). Plus de 200 mutations ont été rapportées: des mutations ponctuelles, des délétions complètes ou partielles, pouvant être responsables de plusieurs défauts allant d'une altération plus au moins importante de l'affinité de ces récepteurs à l'absence totale de ces derniers à la surface des cellules (Ethel, 2002).

Malgré le caryotype 46,XY, un déficit androgénique fonctionnel entraine l'absence de développement du canal de Wolff et la régression du canal de Müller, du fait de la présence de testicules, et donc d'AMH dérivée des cellules de Sertoli, ce qui traduit alors le phénotype observé (Abraham L., Kierszenbaum. 2006).

Patient II

A. Clinique

Le patient M.M âgé de 6 ans et 5 mois (97 cm, 17 kg) issu d'un mariage consanguin, le dernier d'une fratrie de 4 enfants. Il a été adressé au laboratoire de cytogénétique pour suspicion d'un syndrome de Turner 45X /46XY avec anomalie de l'Y. L'examen génital révèle La présence des OGE ambigus, avec hypospadias. Pas de gonades palpables. L'écho-abdo-pelvienne révèle la présence d'organes génitaux interne de type féminin (utérus latéralisé à droite).Le bilan hormonal révèle un taux bas de testostérone et d'AMH.

B. Résultat cytogénétique

Le caryotype standard de ce patient révèle un mosaïsme constitué de deux populations cellulaires différentes : (35%) des mitose étudiées présentent un caryotype 45,XO avec absence du Y, (65%) présentent un caryotype 45,X,t(18,Y) avec translocation entre chromosome Y et chromosome 18. Afin d'obtenir des résultats plus précise, une FISH a été réalisée pour préciser le réarrangement de la translocation (18q,Yq) .

En utilisant : une sonde SRY Yp11.2 (cytocell) de couleur rouge, une sonde témoin pour le chromosome Y : DYZ1 (cytocell) de couleur verte et une sonde témoin DXZ1 (cytocell) du chromosome X de couleur bleue.

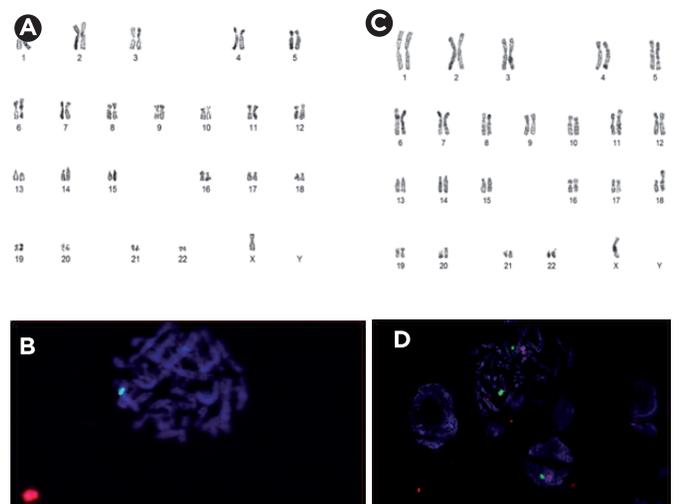


Figure8: Étude cytogénétique classique et moléculaire du patient II.

qui présente une ambiguïté sexuelle : (A) et (C) Caryotype en bandes R révélant respectivement deux populations cellulaires différentes, (A) 45,XO, (C) 45,X,t(18,Y). FISH : (B) l'absence du signal vert correspond à l'absence du chromosome Y. (D) présence du signal vert du chromosome Y

Ce patient présentant un phénotype masculin avec un caryotype révélant deux populations cellulaires distinctes respectivement 45,XO (syndrome de Turner), et 46,X,t(18,Y),

- la première anomalie chromosomique (45,XO) : elle est dû à une mauvaise ségrégation mitotique produite pendant la division cellulaire en phase post-zygotique.
- la deuxième anomalie (46,X,t(18,Y)) : est une translocation du bras long du chromosome Y sur le chromosome 18, plus à une délétion du bras court de ce dernier (chromosome Y) portant le gène SRY. On peut expliquer cet anomalie chromosomique par translocation survenu au cours de la méiose lors de l'appariement des chromosomes.

La présence d'organes génitaux interne de type féminin (utérus) elle peut être expliquée par quantité insuffisante du facteur anti mullerien qui est soumis à un effet dose qui lui permet d'arriver à son seuil de sécrétion et dans notre cas l'absence du chromosome Y dans la population 45,XO et sa translocation sur la deuxième population peut expliquer le taux bas d'AMH, ou en raison de l'insensibilité de l'organe cible à ce facteur.

Les mécanismes de la détermination sexuelle sont complexes et la cascade qui en découle est loin d'être totalement élucidée. Il s'agit d'un équilibre permanent entre les gènes qui entraînent et ceux qui répriment le développement testiculaire ou ovarien, les connaissances actuelles permettent une meilleure prise en charge des patients et de leur famille porteurs d'anomalies à l'aide de la cytogénétique classique et moléculaire. (Ravel et al., 2004).

Toute découverte d'ambiguïté des organes génitaux est un événement traumatogène pour les parents au moment de la naissance de leur bébé ou pour les personnes ambiguës eux-mêmes. Cela entre en résonance avec l'importance de la souffrance psychique et dépressive associée à des troubles de l'humeur (désespoir, anxiété, angoisse) (Morel et al., 2009), selon le type de malformation des conséquences fonctionnelles qui peuvent empêcher toute activités sexuelles, nuire à la vie de couple et perturber la fertilité (Gueniche et al., 2008). Dans cette étude la prise en charge médicale consiste la mise en route des examens chromosomiques, endocriniens et radiologiques, donc le diagnostic d'une ambiguïté sexuelle reste très délicat et nécessite une collaboration multidisciplinaire. (Rajon, 2008).

Le Caryotype permet de donner une vision d'ensemble du génome, mais présente des limites vu l'existence des remaniements cryptiques qui ne peuvent être mis en évidence par cette technique, mais actuellement nous avons des techniques de cytogénétiques moléculaires (FISH, CGH-array) qui sont d'un grand apport vu les informations sur les points de cassures de l'ADN qui sont localiser avec exactitude, dont l'indication peut être orientée par la mise en évidence d'anomalies extra-génitales.

Au cours de notre travail, nous avons ainsi pu combiner différentes techniques de cytogénétique et en apprécier les avantages et les limites, et ce en vue de les utiliser pour répondre à une suspicion d'une ambiguïté sexuelle évoquée par un médecin traitant et qui pourrait être provoquée par des anomalies d'ordre chromosomique, qu'elles soit fréquentes ou beaucoup plus rares dans la population.

Références :

- 1-ALAOUI BELGHITI YOUSSEF M. (2011). Prise en charge des anomalies de différenciation sexuelle. Thèse de doctorat en médecine, Université sidi Mohamed ben Abdallah, Maroc : P 9.
- 2- Bazin A. (2002). Bases de cytogénétique préalable à la prise en charge des ambiguïtés sexuelles. Elsevier SAS. 15 : 97-9.
- 3- Guenichek., Jacquot M., Thibaud E., Polak P. (2013): L'identité sexuelle en impasse. À propos de jeunes adultes au caryotype XY nées avec une anomalie du développement des organes génitaux et élevées en fille. Neuropsychiatrie de l'enfance et de l'adolescence. 56 : 377-385
- 4- Guichaoua M.-R., Geoffroy-Siraudin C., Tassistro V., Ghalamoun-Slaimi R., Perrin J., Metzler-Guillemain. (2013): Chromosomes sexuels et méiose. 37 : 895-900
- 5- Jack J. (2003) : Génétique moléculaire humaine : Les éléments de base de la génétique. Edition de Boeck. 1ère édition : Page 66.
- 6- Kuttann F., Acremont MF., Mowszowicz. I. (2003) : Endocrinologie-Nutrition : Anomalies de la différenciation sexuelle. Encycl. Méd. Chir. Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS. Page 1
- 7- Morel-Journel N., Courtois F., Paparel P., Ruffion A., Carrier S., Leriche A. (2009): Traitement chirurgical à l'âge adulte des séquelles de malformations sexuelles congénitales majeures. Sexologies. 18 : 147-155.
- 8- Paget R. (2001). Etude cytogénétique et moléculaire d'un cas d'intersexualité chez le chien et le cheval. Thèse de doctorat en science vétérinaire, École nationale vétérinaire Toulouse, France : 67-79
- 9- Pinkel D., Landegent J., Collins C., Fuscoe J., Segraves R., Lucas J., Gray J. 1988 : Fluorescence in situ hybridization with human chromosome-specific libraries: Detection of trisomy 21 and translocations of chromosome 4. Proc. Natl. Acad. Sc. 85 : 9138-9142
- 10- Rajon A.-M. (2008) : Ce que nous apprennent les parents d'enfants porteurs d'ambiguïté génitale. Neuropsychiatrie de l'enfance et de l'adolescence. 56 : 370-376
- 11- Ravel C., Chantot-Bastarud S. et Siffroi J. P. (2004). Molecular mechanisms in sex determination: from gene regulation to pathology. Elsevier. 32 : 584-594
- 12- Stephen D. (2004) : Biologie : Génétique. Edition de Boeck. 1ère édition : Page 231
- 13-VINCENT MUCZYNSKI. (2011). Polluants environnementaux et développement du testicule fœtale humaine. Thèse de doctorat en biologie de la reproduction et du développement, Université PARIS-SUD 11 France :