Résumé

L'avortement spontané (AS) désigne la perte du produit de conception avant sa viabilité, c'est-à-dire avant la 22ème semaine d'aménorrhée, ou un poids fœtal inférieur à 500 g. La cause génétique est à l'origine de plus des deux tiers des AS, les aneuploïdies autosomiques, représentant à elles seules jusqu'à 70% des pertes fœtales du 1er trimestre. Le caryotype présente une très bonne sensibilité en ce qui concerne le dépistage des trisomies autosomiques (13, 18 et 21) et des aneuploïdies affectant les chromosomes sexuels, mais il montre d'importantes limites, d'une part en raison des échecs de culture cellulaire et d'autre part en raison de l'existence de remaniements non détectables au caryotype standard. Actuellement plusieurs techniques moléculaires de dépistage rapides des aneuploïdies liées aux échecs de grossesses ont été confirmés : la Fluorescence *In Situ* par Hybridation, et l'Amplification Multiplex de sondes nucléiques Dépendant des Ligatures (MLPA), qui présentent l'avantage d'être réalisables, sans culture préalable, sur noyaux en interphase ou sur ADN extrait et de permettre la détection d'anomalies cryptiques.

Notre étude repose sur l'étude cytogénétique des produits d'AS pour mettre en évidence les anomalies chromosomiques les plus fréquentes à l'origine de ces pertes fœtales et d'en mieux appréhender les mécanismes de survenue. Elle a été réalisée sur 220 patientes âgées entre 19 et 45 ans, et était fondée sur l'analyse directe par FISH sur noyaux interphasiques (AneuVysion™) de prélèvements de villosités choriales et sur l'analyse de l'ADN extrait de tissus fœtaux par MLPA afin de révéler d'éventuelles aneuploïdies et microremaniements. L'âge gestationnel au moment des différents prélèvements était compris entre 7 et 38 semaines d'aménorrhée. Sur un total de 151 échantillons analysés par AneuVysion™, 10 anomalies chromosomiques ont été observées : 3 trisomies 21, 1 trisomie 18, 1 trisomie 13, 1 mosaïque 46,XX/47,XX+21, 3 triploïdies et 1 monosomies X (Turner). Par ailleurs sur les 69 autres échantillons analysés par MLPA, 6 étaient ininterprétables. Les anomalies trouvées par cette technique étaient : 2 monosmies X. Pour les échantillons restants, la MLPA a été négative.

Nous avons en parallèle réalisé une étude rétrospective fondée sur l'analyse comparative d'un échantillon recruté à Sidi Bel Abbés, de femmes ayant subi un AS et admises à la maternité de l'hôpital Hassani Abdelkader de Sidi Bel Abbés et d'un échantillon recruté à Clermont-Ferrand de femmes ayant subi un AS et pour lesquelles un prélèvement pour établir le caryotype du produit de fausse-couche avait été adressé dans le Service de Cytogénétique du CHU Estaing de Clermont-Ferrand. Cette étude a couvert une période de six années, allant de Janvier 2005 à Décembre 2010. Les techniques de FISH et de MLPA représentent des outils simples, rapides et sensibles pour la détection des remaniements chromosomiques. Elles représentent une alternative très intéressante à la culture cellulaire, et permettent le diagnostic de désordres génomiques indécelables par les techniques conventionnelles.

Mots Clés : Avortements, **S**pontanés, **A**neuploïdies, **F**ISH, **M**LPA

Abstract

Spontaneous abortion (SA) is the loss of the product design before its viability , that is , before 22 weeks of gestation or fetal weight less than 500 g . The genetic cause accounts for more than two thirds of AS, autosomal aneuploidies , alone accounting for up to 70% fetal loss . Chromosomal cytogenetic techniques show significant limitations on the one hand because of the failures of cell culture and secondly because of the existence of undetectable alterations to the standard karyotype. It was therefore planned to use molecular techniques: Fluorescence In Situ Hybridization by , and Multiplex Amplification of nucleic acid probes Depending on ligatures (MLPA) , which have the advantage of being achievable without prior culture of cores interphase or DNA extracted and to enable detection of cryptic abnormalities.

The project is based on cytogenetic study of AS products to highlight the most frequent cause of these fetal losses and to better understand the mechanisms occurring chromosomal abnormalities.

Our study was performed on 220 patients ranging in age from 19 to 45 years , and was based on the direct analysis by FISH on interphase nuclei (AneuVysion^{TM}) of chorionic villus sampling and analysis of DNA extracted fetal tissue by MLPA to reveal any aneuploidy and microremaniements . The gestational age at different samples ranged from the 7th to the 38th week of gestation. Of a total of 151 samples analyzed by AneuVysionTM , 10 chromosomal abnormalities were observed: three trisomies 21 , one trisomy 18 , one trisomy 13 , one mosaic 46, XX/47 , XX 21 , 3 and 1 triploidies monosomy X (Turner) . In addition to the other 69 samples analyzed by MLPA, 6 were uninterpretable. The abnormalities found by this technique were: 2 monosmies X. For the remaining samples, the MLPA was negative.

We conducted a retrospective parallel study based on the analysis of a sample recruited in Sidi Bel Abbes , women who have had an AS and admitted to the maternity hospital Abdelkader Hassani Sidi Bel Abbes and a sample recruited in Clermont -Ferrand women who underwent aS for which a levy to establish the karyotype product miscarriage had been addressed in the Department of Cytogenetics CHU Estaing, Clermont- Ferrand . This study covered a period of six years, from January 2005 to December 2010.

The techniques of FISH and MLPA are simple, rapid and sensitive for the detection of chromosomal rearrangements tools. They represent a very interesting alternative to the cell culture and allow the diagnosis of genomic disorders undetectable by conventional techniques.

Keywords : Spontateous, **A**bortion, **A**neuploidies, **F**ISH, **M**LPA.

ملخص

الإجهاض التلقائي –ات- هو فقدان تصميم المنتج التلقيح قبل قدرتها على البقاء وهذا قبل 22 أسبوعا من الحمل أو وزن الجنين أقل من 500 غرام. السبب الوراثي هو سبب أكثر من ثلثي الاجهاضات، وهو ما يمثل وحده 70 ٪ خسارة الجنين والنمط النووي لديه حساسية جيدة جدا في الكشف عن جسمية (13 و 18 و 21) و التي تؤثر على عدم توازن الصبغيات ، لكنه يظهر قيود كبيرة من ناحية بسبب إخفاقات زراعة الخلية وثانيا بسبب وجود تعديلات لا يمكن الكشف عنها بواسطة النمط النووي. حاليا تم تأكيد العديد من الطرق الجزيئية للكشف السريع عن الإخفاقات المرتبطة بعدم توازن الصبغيات في الحمل :FISH ، و تحقيقات الحمض النووي اعتمادا على MLPA، والتي لديها ميزة كونها قابلة للتحقيق ، دون زرع مسبق لتمكين الكشف عن شذوذ خفي.

ويستند دراستنا على دراسة خلوية لمنتجات اجهاض تلقائي لتسليط الضوء على السبب الأكثر شيوعا من هذه الخسائر الجنين و إلى فهم أفضل للآليات التي تحدث شذوذ الكروموسومات.

وقد أجريت الدراسة على 220 مريضة لدينا الذين تتراوح أعمارهم بين 19 و 45 عاما ، و كانت تقوم على التحليل المباشر من قبل FISH في الطور البيني نوى (AneuVysion^{TM}) من الزغابة المشيمية أخذ العينات وتحليل الحمض النووي المستخرج من النسيج بواسطة MLPA لكشف أي اختلال الصيغة الصبغية و كان عمر الحمل في ذلك الوقت من عينات مختلفة بين 7 و 38 أسبوعا من الحمل . من مجموعه 151 عينة تم تحليلها بواسطة AneuVysion^{TM}، شوهد 10شذوذ الكروموسومات : ثلاثة تريزومي21 ، واحدة تثلث الصبغي 18 ، واحدة تثلث الصبغي 13 ، واحد فسيفساء 46 ، XX/47 ، XX 21 ، 3تريبلويديا وأحاد الصبغي X تيرنر بالإضافة إلى 69 عينات أخرى تحليلها ب MLPA ، وكانت 6 غير قابلة للتفسير و كانت الشذوذ التي وجدت من قبل هذه التقنية: 2 أحاد الصبغي X اما بالنسبة العينات المتبقية، كانت النتيجة سلبية.

و أجرينا دراسة موازية بأثر رجعي استنادا إلى تحليل عينة نساء تعرضن لاجهاض تلقاءى في سيدي بلعباس ، والنساء اللواتي تم تسجيلهم في مصلحة الولادة بمستشفى عبد القادر حساني بسيدي بلعباس وعينة من النساء في كليرمون فيران الذي خضعن لاجهاض عفوي والتي تم ارسال العينات لاخضاعها للفحص لإنشاء المنتج النمط النووي و التي عولجت في قسم الوراثة الخلوية CHU ديستان ، كليرمون فيران . غطت هذه الدراسة فترة من ست سنوات ، من يناير 2005 إلى ديسمبر 2010.

التقنيات من FISH MLPAو هي بسيطة وسريعة وحساسة للكشف عن إعادة ترتيب الكروموسومات . و هي تمثل بديلا مثيرة جدا للاهتمام ل زراعة الخلايا وتسمح لتشخيص الاضطرابات الجينية الغير قابلة للكشف بواسطة التقنيات التقليدية.

الكلمات المفتاحية: الإجهاض العفوي ، أنيوبلويدي ، FISH، MLPA