

# Cellules amniotiques humaines : Étude des chromatines sexuelles X et Y

M. DEMINATTI et J.-B. SAVARY

## INTRODUCTION

L'étude des cellules nerveuses du ganglion de l'hypoglosse a conduit en 1949, M.L. BARR et E.G. BERTRAM (1), à la découverte de corpuscule chromatinien, qui apparaît à l'état normal, dans les noyaux interphasiques des cellules somatiques de la chatte. S. OHNO et Coll. (2), à la suite de travaux sur la rate, dont la formule gonosomique XX est la même que dans l'espèce humaine, suggèrent que ce corpuscule n'est autre qu'un X hétérotypocytotique.

Appliqué dès 1955 par K.L. MOORE et M.L. BARR (3) aux dysgénésies gonado-somatiques, le critère chromatinien est devenu un critère cytologique de l'X.

T. CASPERSSON et Coll. (4, 5) montrent que certains dérivés fluorescents de l'acridine colorent les chromosomes de différentes espèces. L. ZECH (6) remarque que la « quinacrine mustard » rend particulièrement fluorescent le chromosome Y humain. Par la suite, P.L. PEARSON, M. BOBROW et C.G. VOSA (7), qui étudient le spermatozoïde humain, font de cette coloration un test qui permet de déterminer le nombre de chromosomes Y dans la cellule interphasique. Ce test est donc analogue à la coloration qui met en évidence le corpuscule de BARR ou chromatine sexuelle X.

Nos observations portent sur l'examen des chromatines sexuelles X et Y à partir de cellules amniotiques humaines (\*), respectivement par coloration nucléaire et fluorescence. Parallèlement, nous avons étudié des cellules de frottis endobuccaux provenant de sujets adultes.

## MATERIEL ET METHODE

Les ponctions amniotiques ont été réalisées à partir de la vingt-troisième semaine. Amené au labo-

ratoire à la température ambiante, le liquide amniotique est centrifugé. Le culot cellulaire est remis en suspension dans un mélange alcool-acide acétique (50/50) pendant 30 mn, selon la technique de M.W. STEELE et W. ROY BREG (8).

Les frottis endobuccaux sont étalés directement sur lames et fixés immédiatement dans un mélange alcool-éther (50/50).

### 1° Chromatine sexuelle X ou corpuscule de BARR

La recherche est réalisée en utilisant comme colorant le bleu de toluidine tamponné. Le comptage des cellules qui présentent un corpuscule chromatinien, confère à la technique une plus grande spécificité.

L'observation des lames se fait à l'immersion en microscopie photonique.

### 2° Chromatine sexuelle Y

L'agent fluorescent utilisé est un dérivé de la quinacrine (« Atébrine », G. GURR). Après fixation, la coloration est réalisée en solution tamponnée à un pH convenable, selon la technique de P.L. PEARSON et M. BOBROW (7).

Les lames sont observées à l'immersion au microscope à U.V., muni d'un filtre d'excitation BG 12 de 3 mm et du filtre d'arrêt de 530 nm. La source lumineuse est une lampe à vapeurs de mercure, CS 200W/4.

(\*) Les liquides amniotiques nous ont été fournis par les Docteurs Cotteel et Monnier. Nous leur adressons nos remerciements.

## RESULTATS

### 1° Chromatine sexuelle X : observation de cellules amniotiques

A partir de soixante-trois liquides amniotiques étudiés, le sexe génétique fut déterminé dans soixante-deux cas. L'absence de matériel cellulaire dans une amniocentèse ne nous a pas permis l'analyse. En fait, il s'agissait d'un œuf clair qui fut rapidement avorté.

Une erreur d'interprétation a été commise au début de ce travail, erreur par excès avant la mise au point de la technique fluorescente dans le laboratoire.

Vingt-neuf liquides amniotiques ont révélé dans les noyaux cellulaires la présence d'un corpuscule de BARR. Le pourcentage de cellules qui présentent un corpuscule est en moyenne de 14 % par liquide amniotique.

#### a) Type cellulaire retenu

Une étude microscopique montre des cellules arrondies, à gros noyau, dont le rapport nucléocytoplasmique est voisin de 1, de grandes cellules à noyau pycnotique et de volumineux débris cytoplasmiques anucléés. Seules les cellules rondes ou ovales, dont les noyaux sont uniformément colorés, sont prises en considération pour le comptage (cf. photo 1) ; cinquante à cent cellules sont ainsi comptées dans chaque cas.

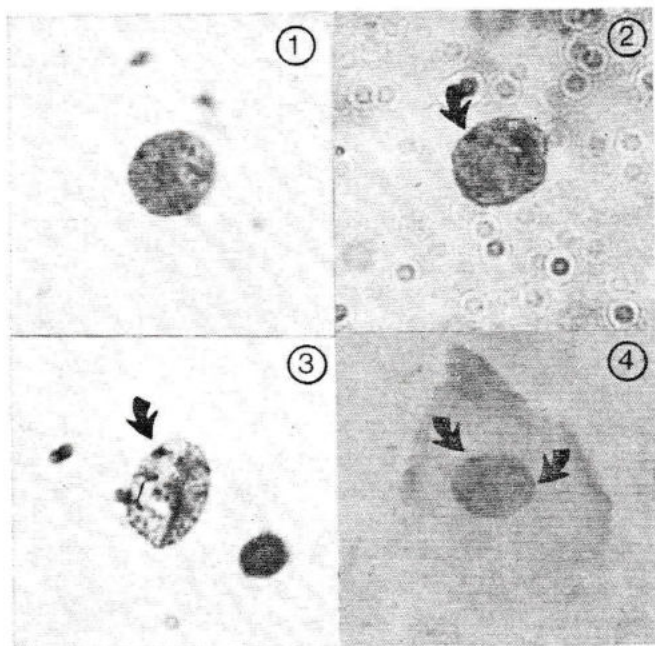


Fig. 1. — Type de cellule amniotique retenu.

Fig. 2. — Cellule amniotique corpuscule de BARR en V.

Fig. 3. — Cellule amniotique corpuscule de BARR en U.

Fig. 4. — Cellule endobuccale d'un sujet triplo-X.

### b) Forme, taille et nombre du corpuscule de BARR

Accolé à la membrane nucléaire, le corpuscule de BARR est une particule dense, dont la taille est voisine du micron. Sa structure en U ou en V dont l'apex est dirigé vers le centre du noyau, lui confère un aspect caractéristique (cf. photos 2 et 3). Ces deux structures peuvent coexister dans un même liquide amniotique.

### 2° Chromatine sexuelle Y

#### a) Liquide amniotique

L'observation en UV de cellules amniotiques colorées par l'atébrine a permis la mise en évidence d'une structure particulièrement brillante, souvent ponctiforme. Caractéristique des cellules humaines mâles, elle correspond à la chromatine sexuelle Y décrite par CASPERSSON et Coll.

La difficulté de la technique vient de la faible dimension du corpuscule, nécessitant un système optique de haute qualité et une source lumineuse efficace. Néanmoins, nous avons compté 22 % de cellules positives avec un corpuscule fluorescent, souvent central, mais qui n'a pas de localisation particulière dans le noyau cellulaire (cf. photo 5).

#### b) Frottis endo-buccaux

La technique appliquée au frottis buccal d'individus masculins normaux, montre qu'il n'existe pas de différence structurale, ni de localisation de la chromatine Y par rapport aux cellules amniotiques (cf. photo 6).

Un mosaïcisme XO/XY, Martine P... (n° 877) analysé par la même méthode, révèle dans certaines cellules de la muqueuse buccale deux structures fluorescentes (cf. photos 7 et 8).

Il apparaît donc qu'un noyau interphasique contient autant de corpuscules fluorescents qu'il a de chromosomes Y.

## CONCLUSIONS

### 1° Intérêt de la recherche prénatale des chromatines sexuelles X et Y

La détermination prénatale du sexe génétique nécessite la recherche des chromatines sexuelles X et Y dans les cellules amniotiques. Ces deux recherches se complètent l'une l'autre. Il devient alors possible de déterminer avant la naissance les anomalies gonosomiques numériques.

Si l'étude des chromatines sexuelles X et Y à partir de cellules fœtales est négative, un caryotype

réalisé à la naissance doit montrer une anomalie de type XO.

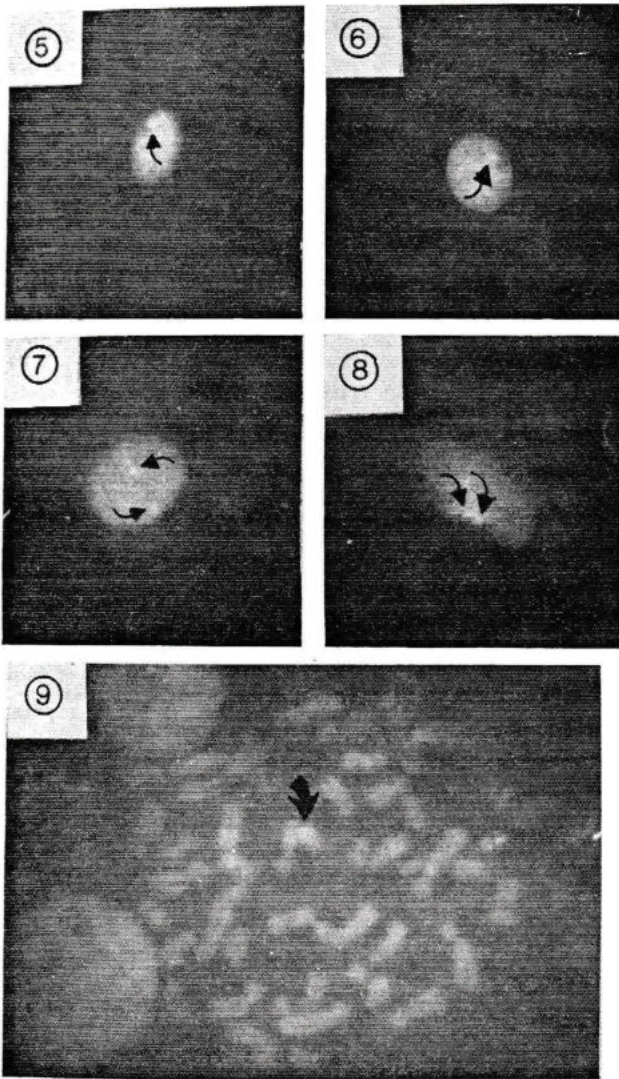


Fig. 5. — Cellule amniotique corpuscule Y fluorescent.  
 Fig. 6. — Cellule endobuccale corpuscule Y fluorescent.  
 Fig. 7 et 8. — Cellules endobuccales d'un sujet XO/XY.  
 Fig. 9. — Identification du chromosome Y à partir d'une culture de sang.

La présence dans une même cellule de deux corpuscules de BARR mettra en évidence l'existence d'un fœtus triplo-X.

Le syndrome de Klinefelter (XXY) sera également diagnostiqué par cette méthode : un corpuscule de BARR et un corpuscule fluorescent.

Une chromatine sexuelle X négative et un nombre de cellules à corpuscules Y fluorescent inférieur à la normale révélera un mosaïcisme XO/XY.

### Exemple d'anomalies gonosomiques

|  |    |     |     |      |       |       |
|--|----|-----|-----|------|-------|-------|
| Nombre de corpuscule de BARR (Chromatine X)      | 0  | 1   | 2   | 1    | 0     | 1     |
| Nombre de corpuscules fluorescent (Chromatine Y) | 0  | 1   | 0   | 2    | 1     | 0     |
| Génotype   | X0 | XXY | XXX | XXYY | X0/XY | X0/XX |

### 2° Applications générales de la fluorescence

Depuis les travaux de CASPERSSON et Coll. (9), PEARSON et Coll. (7), GEORGE (10), l'identification des chromosomes devient possible par la méthode fluorescente. Une préparation de chromosomes humains en métaphase, à partir d'une culture de sang total, permet de voir que l'agent fluorochrome se fixe sur tous les chromosomes. L'Y est le plus fluorescent des chromosomes du groupe G (cf. photo 9). On peut donc appliquer cette méthode pour identifier ou exclure la nature Y d'un chromosome de la taille d'un G.

En ce qui concerne les autres chromosomes, l'identification visuelle reste difficile, mais il est possible d'obtenir des courbes de distribution de la fluorescence. Cette technique laisse donc supposer de grands espoirs pour l'identification de chromosomes ou des régions de chromosomes.

Laboratoire de Génétique et Embryologie Humaine  
 (Professeur DEMINATTI)  
 Faculté de Médecine de Lille \*

### BIBLIOGRAPHIE

- 1) BARR M.L., BERTRAM E.G. — *Nature.*, 1949, **163**, p. 676.
- 2) OHNO S., KAPLAN W.D., KINOSITA R. — *Exp Cell Res.*, 1959, **18**, p. 415.
- 3) MOORE K.L., BARR M.L. — *Lancet*, ii 1955, p. 57.
- 4) CASPERSSON T., FARBER S., FOLEY G.E., KUDYNOWSKI J., MODEST E.J., SIMONSSON, E. WAGH U., ZECH L. — *Exp. Cell Res.*, 1968, **49**, p. 219.
- 5) CASPERSSON T., ZECH L., MODEST E.J., FOLEY G.E., WAGH U., SIMONSSON E. — *Exp. Cell Res.*, 1969, **58**, p. 141.
- 6) ZECH L. — *Exp. Cell Res.*, 1969, **58**, p. 463.
- 7) PEARSON P.L., BOBROW M., VOSA C.G. — *Nature*, 1970, **226** p. 78.
- 8) STEELE M.W., ROY BREG W. — *Lancet*, 1966, p. 383.
- 9) CASPERSSON T., ZECH L., JOHANSSON C., MODEST E.J. — *Chromosoma (Berl.)*, 1970, **30**, p. 215.
- 10) GEORGE K.P. — *Nature.*, 1970, **226**, p. 80.