



Diagnostic préimplantatoire

Pre-implantation genetic diagnosis

M. Vekemans *

Service de cytogénétique, Hôpital Necker, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France

MOTS CLÉS

Assistance médicale à la procréation (AMP) ; Diagnostic préimplantatoire (DPI) ; Maladies monogéniques ; Maladies chromosomiques ; PCR ; FISH

KEYWORDS

Assisted reproductive technology (ART); Pre-implantation genetic diagnosis (PGD); Monogenic diseases; Chromosomal diseases; PCR; FISH

Résumé Le diagnostic préimplantatoire constitue une alternative au diagnostic prénatal pour une minorité de couples à risque d'avoir un enfant atteint d'une maladie génétique grave. Cette méthode fait appel aux nouvelles techniques de biologie moléculaire (*polymerase chain reaction, fluorescent in situ hybridization*) permettant d'étudier le statut génétique des embryons obtenus après fécondation in vitro. Seuls les embryons sains sont transférés dans l'utérus. Il est encore trop tôt pour se prononcer sur la précision et l'innocuité de cette méthode alternative au diagnostic anténatal par choriocentèse ou amniocentèse.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract Pre-implantation genetic diagnosis provides an alternative to prenatal diagnosis for couples who are at risk of having an offspring with a serious genetic disorder. This novel method is based on recent molecular techniques (PCR, FISH) that allow analyzing the genetic status of embryos obtained after in vitro fertilization. Only embryos free of the genetic disorder are transferred into the uterus. It is too early to establish the safety and accuracy of pre-implantation genetic diagnosis.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Introduction

Au cours des dix dernières années, une nouvelle méthode de diagnostic anténatal a été développée pour les couples à risque d'avoir un enfant atteint d'une maladie génétique. Cette approche, appelée diagnostic préimplantatoire, consiste à analyser le génotype des embryons produits in vitro et à ne transférer in utero que les embryons sains.^{1,2} L'expérience clinique de cette méthode est encore

limitée à un petit nombre de centres à travers le monde. Mais la demande des couples pour cette approche diagnostique se fait grandissante.

Indications

Le diagnostic préimplantatoire est utilisé principalement dans deux grands groupes d'indication. Le premier groupe est constitué de couples ayant un risque élevé pour une maladie génétique grave et incurable au moment du diagnostic, par exemple les individus porteurs d'une maladie monogénique

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : vekemans@necher.fr (M. Vekemans).

ou d'une anomalie de la structure des chromosomes. Très souvent, ces couples ont déjà opté pour une interruption médicale de la grossesse après un diagnostic prénatal, ils sont infertiles, ou ont une opposition morale ou religieuse à l'interruption médicale de la grossesse. Le second groupe est formé de couples qui ont un risque génétique faible mais ont recours à l'assistance médicale à la procréation pour améliorer leurs chances d'avoir une grossesse.³

Méthode

Le diagnostic préimplantatoire fait appel aux méthodes de l'assistance médicale à la procréation (AMP). Au cours d'une fécondation in vitro (FIV), la maturation de plusieurs ovules est produite au cours d'un seul cycle menstruel. Les ovules sont recueillis par ponction des follicules ovariens, par voie vaginale sous contrôle échographique et sous anesthésie locale ou parfois générale. Les ovules sont ensuite gardés en culture jusqu'à la fécondation réalisée par injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde (ICSI). Cette technique est également préconisée pour les patients présentant des troubles de la spermatogenèse ou pour lesquels des tentatives de FIV ont échoué sans raison apparente. Les embryons fécondés sont identifiés le lendemain matin par l'apparition de deux pronuclei. Les embryons sont ensuite gardés en culture jusqu'au moment de la biopsie.⁴

Il existe plusieurs approches permettant d'établir un diagnostic génétique avant l'implantation de l'embryon. L'une implique un prélèvement du globule polaire de l'ovocyte secondaire à la fin de la première division méiotique,^{5,6} l'autre la biopsie d'un embryon au stade de six à huit cellules.⁷ Bien que l'étude du globule polaire apparaisse moins invasive, cette méthode est limitée en raison des conséquences génétiques liées à la ségrégation des chromosomes et aux *crossing-over* au cours de la méiose. En outre, l'étude du globule polaire ne permet pas d'étudier les allèles paternels ni de déterminer le sexe de l'embryon. Enfin, pour optimiser les possibilités de diagnostic, il est souvent nécessaire d'étudier les deux globules polaires. À première vue, l'étude du blastocyste apparaît prometteuse.⁸ Cependant, un diagnostic réalisé à ce stade est limité puisque seulement 40 % des embryons parviennent à ce stade de développement. En outre, la biopsie concerne le trophoblaste qui, du point de vue génétique, peut déjà avoir divergé du bouton embryonnaire.

Pour l'examen génétique de l'embryon au stade de six à huit cellules, la biopsie après perforation

de la zone pellucide au moyen d'un rayon laser est habituellement réalisée le matin du troisième jour après l'insémination. À ce stade, le prélèvement d'un ou deux blastomères ne semble pas compromettre le développement ultérieur de l'embryon.⁹ Le petit nombre de cellules prélevées complique considérablement l'analyse génétique. En fait, le diagnostic préimplantatoire n'est devenu possible que grâce au développement de nouvelles méthodes rapides et sensibles permettant l'analyse des chromosomes ou des gènes sur une cellule unique. La première application du diagnostic préimplantatoire a concerné les maladies récessives liées au chromosome X.¹⁰ Une amplification de l'acide désoxyribonucléique (ADN) du blastomère était réalisée à l'aide d'amorces spécifiques du chromosome Y et seuls les embryons de sexe féminin étaient transférés. Pour réduire le risque d'erreur de diagnostic du à un défaut d'amplification, ou à une contamination, la méthode utilisée aujourd'hui pour établir le sexe des embryons repose sur la technique d'hybridation-fluorescence in situ (FISH) sur noyaux en interphase à l'aide de sondes spécifiques du chromosome X et Y.¹¹ Cette méthode permet d'établir sans ambiguïté le sexe de l'embryon et d'éviter de transférer un embryon avec un nombre anormal de gonosomes.

Le diagnostic préimplantatoire des maladies monogéniques peut être réalisé par la détection directe de la mutation en utilisant des amorces spécifiques ou par méthode indirecte utilisant des marqueurs flanquants.¹² Pour les deux approches, l'amplification doit être efficace et une *polymerase chain reaction* (PCR) nichée est généralement utilisée. Bien entendu, pour des maladies causées par des mutations différentes au sein d'un même gène, la technique d'analyse devra être adaptée à chaque mutation, et donc souvent pour chaque famille. La difficulté technique de mise au point des tests diagnostiques limite donc le nombre de diagnostics préimplantatoires pratiqués.

Le diagnostic préimplantatoire pour les couples porteurs d'une anomalie de la structure des chromosomes représente une partie importante des diagnostics réalisés. La FISH est la méthode de choix pour la recherche d'un déséquilibre chromosomique survenant après la ségrégation d'une translocation au cours des divisions méiotiques.^{13,14} La mise au point de sondes spécifiques de la translocation permet, grâce à une combinaison spécifique de couleurs correspondant à chacun des modes de ségrégation, de différencier les embryons sains de ceux porteurs d'un déséquilibre chromosomique. L'utilisation de la FISH a permis de montrer que l'existence d'une mosaïque chromosomique est fréquemment observée dans les premiers stades du

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/9319298>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/9319298>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)