

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE TLEMCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département d'Ecologie et Environnement
Laboratoire de recherche
Valorisation des actions de l'Homme pour la protection de l'environnement
et application en santé publique

Mémoire de Magister

en vue de l'obtention du Diplôme de Magister en Génétique moléculaire des populations
humaines

**L'étude de quelques maladies
chromosomiques dans
une population de l'ouest algérien :
Prévalence et effet de la consanguinité**

Présenté par :

M^r BENALI SID AHMED

Soutenu le

Membres du Jury :

Président	KHELIL Mohamed Anouar	Professeur, Université de Tlemcen
Encadrante	DALACHE Fatiha	M. C. A, Université de Mostaganem
Examineur	AOUAR-METRI Amaria	M. C. A, Université de Tlemcen
Invité

Promotion 2011/2012

DEDICACES

Je dédie ce mémoire :

- *A mes parents qui m'ont fournis tous les éléments nécessaires pour arriver là où j'en suis aujourd'hui.*
- *A ma femme*
- *A ma famille et mes amis.*

REMERCEMENTS

A Mme AOUAR METRI A., Maître de conférences au département d'Ecologie et Environnement, Université de Tlemcen, qui m'a ouvert les portes en post-graduation, Qu'elle trouve l'expression de mes remerciements pour son enseignement et la confiance qu'elle m'a accordée le long de ces années.

Je tiens à formuler ma profonde reconnaissance aux membres du jury :

Le Professeur KHELIL, chef de département "Ecologie et Environnement" et président du Jury, pour son apport pédagogique et administratif au niveau de l'Université de Tlemcen.

- Mme DALACHE F., Maître de conférences au département de Biologie de l'Université de Mostaganem, je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de consacrer une partie de votre temps précieux pour encadrer ce travail et de m'avoir fourni d'utiles réflexions.

A Mr GAOUAR S., Maître de conférences, pour avoir accepté l'invitation et l'examen de ce mémoire.

Soyez assurés ici de l'expression de mon profond respect.

A Mr KARAM, qui m'a aidé au démarrage de mon travail.

Grand merci aux malades, à qui je souhaite guérison, et aux personnels médicaux : Mme BRACHEMI, Mme DEBAB et Mme MESSAL et à Mr RABEH de l'Hôpital BELEZREG d'Oran. qui m'ont aidé dans mon travail sur le terrain hospitalier.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Différentes résolutions d'un chromosome pro-métaphasique.

Figure 2 : **A.** Méiose normale. **B, C, D.** Différents mécanismes de formation des aneuploïdies lors de la méiose.

Figure 3 : Complexe synaptoménal.

Figure 4 : Chiasma.

Figure 5 : Recombinaison génétique par crossing-over.

Figure 6 : Pourcentage de grossesses évolutives en fonction du nombre de semaines de gestation.

Figure 7 : Consanguinité dans le monde.

Figure 8 : Fréquence allélique constante (équilibre de Hardy-Weinberg).

Figure 9 : Type de consanguinité.

Figure 10 : Répartition de nos échantillons selon notre étude.

Figure 11 : Taux des différentes affections.

Figure 12 : Gènes associés au phénotype de la trisomie 21.

Figure 13 : Taux de consanguinité.

Figure 14 : Taux de consanguinité.

Figure 15 : distribution de l'âge maternel dans l'échantillon 1.

Figure 16 : Taux de consanguinité en fonction des tranches d'âge.

Figure 17 : comparaison des âges maternels moyens.

Figure 18 : relation entre l'âge maternel moyen et la consanguinité.

Figure 19 : non-disjonction dans les métaphases 1 et 2 de la méiose.

Figure 20 : Métabolisme de la glutamine et du glutamate dans les cellules de mammifères.

Figure 21 : Différentes concentrations en L-glutamine.

Figure 22 : Arbre généalogique des cas N° 3, 4, 5 et 6.

Figure 23 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 1000.

Figure 24 : Caryotype standard, cas n° 6 : 46,XY.

Figure 25 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 1000.

Figure 26 : Caryotype standard, cas n° 5 : 46,XX.

Figure 27 : Arbre généalogique du cas n°2.

Figure 28: Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 1000.

Figure 29 : Caryotype standard, cas n° 2 : 46,XX.

Figure 30 : Arbre généalogique des cas n° 12, 13 et 14.

Figure 31: Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.

Grossissement X 1000.

Figure 32 : Caryotype standard, cas n° 12 : 46,XY(+21).

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Origine des trisomies. MI : méiose I ; MII : méiose II.

Tableau II : Présentation de l'échantillon 1.

Tableau III : Présentation de l'échantillon 2.

Tableau IV : Présentation des résultats de l'échantillon 1.

Tableau V : Présentation des résultats de l'échantillon 2.

Tableau VI : Composition du milieu RPMI 1640.

RESUME

Notre travail porte sur l'étude cytogénétique, par coloration simple, des maladies chromosomiques les plus répandues et plus particulièrement la trisomie 21, dans une population de l'ouest Algérien. Nous avons mené notre étude en deux temps et sur 2 échantillons. Le premier échantillon nous a permis de déterminer la maladie génétique la plus répandue dans la population algérienne avec et sans lien de parenté et le deuxième échantillon a été étudié afin de déterminer l'anomalie la plus fréquente dans l'apparition du syndrome de Down dans le cas de parents avec un lien de parenté. Nous avons confirmé que c'est le syndrome de Down qui est le plus répandu dans notre échantillon avec un taux de 40%. L'ensemble des tests réalisés nous a permis de mettre en évidence un taux de consanguinité relativement élevé de 52%. Par la suite, nous avons comparé les âges maternels moyens, ce qui nous a conduits à remarquer que la présence de la consanguinité influence l'âge moyen des femmes. Cette comparaison nous a permis de dire que la consanguinité réduit l'âge auquel une femme peut avoir des enfants atteint d'une maladie génétique mais d'une manière statistiquement non significative. Dans une seconde étape, nous avons fait varier la concentration de la L-Glutamine dans le milieu de culture des lymphocytes et elle nous a permis de dire que la concentration la plus adéquate était celle de 0,3 ml/5ml de milieu de culture et qu'une concentration au delà de celle-ci ne donne aucun résultat. Les résultats de notre étude rejoignent ceux de la bibliographie en rejetant l'hypothèse de la relation entre consanguinité et trisomie 21 et qu'aucune augmentation statistiquement significative n'a été observé.

Mots-clés : Trisomie 21, consanguinité, cytogénétique, maladies chromosomique, ouest Algérien, Age maternel moyen, L-Glutamine.

Abstract

In this work we focused on the cytogenetic study of the most common chromosomal diseases in west Algerian population particularly, trisomy 21, by a simple dye technique. We have directed our work into two parts and in two samples. The first sample allowed us to determine the most common genetic disease in the west Algerian population with or without family ties. The study of the second sample had as purpose to determine the most common abnormality in Down syndrome events with related parent's cases. We confirmed that the Down syndrome is the most commonly observed with a 40% rate. All the realized assays allowed us to figure out a relatively high consanguinity rate of 52%. In more over the compared maternal middle age inside both samples, allowed us to point out that, the existing consanguinity influences maternal middle age by reducing women's age having children with genetic diseases, however not in statistically significant manner. In a second step we varied the L-Glutamine concentration in the lymphocytes culture media. This latter showed that 0,3ml/5ml of medium is the most appropriate concentration, over which no positive result can be waited. Results of our work join bibliographic ones, rejecting the hypothesis that consanguinity and trisomy 21 are related when no significant statistical elevation has been observed.

Key words: trisomy 21, consanguinity, cytogenetic, chromosomal diseases, Algerian West, maternal middle age, L-Glutamin

SOMMAIRE

INTRODUCTION	13
I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	16
1. Historique	16
2. Origine parentale et cellulaire des aneuploïdies	21
3. Mécanismes méiotiques	22
4. Mitose	25
4.1 Interphase	26
4.1.1 La phase G1	26
4.1.2 La phase S	26
4.1.3 La phase G2	26
4.2 Prophase	26
4.3 Prométaphase	27
4.4 Métaphase	27
4.5 Anaphase	28
4.6 Télophase	29
4.7 Cytodiérèse	29
5. Méiose dans les cellules germinales	30
5.1. MEIOSE I	30
5.2 MEIOSE II	31
5.3 Prophase de la méiose I	31
5.4 Complexe synaptonémal	32
5.5 Formation de chiasmas	32
5.6 Recombinaison génétique par crossing-over	33
6. Gamétogenèse	34
6.1 Implication des mutations spontanées dans la gamétogénèse	34
6.2 Spermatogénèse	35
6.3 Ovogénèse	35
6.3.1 Anomalies chromosomiques ovocytaires à l'origine d'aneuploïdies embryonnaires	36

6.3.2 Facteurs génétiques de prédisposition aux atteintes ovariennes ou de la réponse ovarienne	38
7. Contrôle du cycle cellulaire	39
7.1 Systèmes de contrôle du cycle cellulaire	39
8. Distribution des gènes dans une population	42
8.1 Principe d'équilibre de Hardy-Weinberg	42
8.2 Fréquence allélique constante	42
8.3 Quelques facteurs influençant la fréquence allélique	43
8.3.1 Endogamie	44
8.3.2 Consanguinité	44
8.3.2.1 Model de consanguinité	45
8.3.2.2 Consanguinité et conseil génétique	46
II. MATERIEL ET METHODES	49
1. Echantillonnage	49
2. Etude cytogénétique	52
2.1 Prélèvement du sang	52
2.2 Collecte et culture des lymphocytes	52
2.2.1 Composition du milieu RPMI	53
2.2.2 Conditions de culture	53
2.3 Le caryotype standard	53
2.3.1 Arrêt des mitoses	54
2.3.2 Choc hypotonique	54
2.3.3 Préfixation	55
2.3.4 Fixation	55
2.3.5 Etalement et coloration	55
2.3.6 Observation et lecture des lames	56
2.3.7 Lecture des résultats	56
III RESULTATS ET DISCUSSION	58
1. Etude du premier échantillon	58
1.1 Etude de consanguinité	62

1.2 L'âge maternel en question	66
2. Etude du deuxième échantillon	70
3. Mise au point de la technique	73
4. Présentation de quelques cas	76
4.1 1er cas	77
4.1.1 Aspect clinique	77
4.1.2 Culture cellulaire	78
4.1.3 Interprétation du caryotype	78
4.2 2ème cas	81
4.2.1 Aspect clinique	82
4.2.2 Culture cellulaire	82
4.2.3 Interprétation du caryotype	82
4.3 3ème cas	84
4.3.1 Aspect clinique	84
4.3.2 Culture cellulaire	84
4.3.3 Interprétation du caryotype	84
IV CONCLUSION ET PERSPECTIVES	89
V ANNEXES	91
VI REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	97

Introduction



Certains auteurs qualifient la région nord africaine comme une terre d'observation particulièrement utile pour les chercheurs généticiens et épidémiologistes. Cette région qui se caractérise par un très grand taux de consanguinité offre à ces chercheurs une panoplie d'outils qui permettent d'informer la population sur les fréquences des porteurs de certains gènes défectueux, si elle le souhaite, et aussi sur les probabilités de transmettre une maladie héréditaire à leur descendance.

Dans l'histoire de l'évolution de la génétique, dès 1930 l'apport des disciplines comme la biologie moléculaire et la cytogénétique, a permis à l'homme d'établir sa propre carte génétique. Le développement de la cytogénétique a permis très rapidement d'associer un certain nombre d'états pathologiques à une modification du caryotype (représentation graphique d'arrangements chromosomiques).

Tout réarrangement, anomalie ou aberration chromosomique représente une panoplie d'événements cliniques sérieux, autant pour un enfant en stade de développement qu'un enfant naissant.

Pour un enfant à l'état embryonnaire, plusieurs auteurs soulignent la gravité de telles anomalies sur la mortalité intra-utérine. De plus les anomalies chromosomiques constituent la cause principale des échecs de fécondation, tant in vivo qu'in vitro (**Pellestor., 1990**). De nombreuses études caryotypiques effectuées sur les avortés, ont montré l'importance des trisomies qui représentent près de 60% des avortés de moins de 12 semaines (**Serre *et al.*, 1983**).

Cependant, parmi les anomalies chromosomiques autant structurales que numériques, c'est la découverte de la trisomie 21 par Lejeune et coll. en 1959 qui a ouvert l'ère de la cytogénétique humaine. L'identification du chromosome 21 a été fondée sur la clinique; c'est par définition le chromosome dont la présence à l'état trisomique est responsable du syndrome clinique, d'abord décrit sous le nom de mongolisme (**De Grouchy et Turleau, 1977**).

La trisomie 21 représente l'aberration chromosomique la plus fréquente et de plus, elle est la principale cause d'arriération mentale (**Fattorusso et Ritter, 1986**).

Cette affection congénitale modifie non seulement le génotype et le phénotype de tout individu atteint, mais influence de surcroît la vie et la qualité de vie de celui-ci.

Plusieurs auteurs ont émis des hypothèses concernant les facteurs étiologiques de la trisomie 21 : l'âge maternel avancé (**Serre et al., 1983**) de même que l'existence d'un facteur génétique pouvant influencer cette pathologie (**Alfi et al., 1980; Roberts et al., 1991**).

L'incidence de cette pathologie demeure stable depuis plusieurs années. En 1969, l'incidence du syndrome de Down est de 1,45 sur mille, soit 1 pour 700 naissances (**Lilienfeld et Benesch, 1969**). En 1981, l'incidence du syndrome de Down est aussi de 1 cas par 700 naissances (**Solomon et Davis, 1981**). En 1994, un auteur décrit le même taux d'incidence (**Patterson, 1994**).

C'est dans ce sens que s'inscrit notre travail qui porte sur l'étude cytogénétique (par coloration simple) des maladies chromosomiques les plus répandues dans une population de l'ouest Algérien. Nous prendrons en considération les anomalies touchant les autosomes et les hétérosomes.

L'objectif primordial de cette recherche consiste à voir si un lien peut être établi entre la survenue de la trisomie 21 et le degré de lien de parenté.

Le calcul du taux de consanguinité chez les enfants atteints permettra d'interpréter certaines hypothèses concernant les facteurs étiologiques de la trisomie 21 dans une population cible, de l'ouest Algérien.

Les objectifs secondaires de notre recherche sont de vérifier la possibilité de l'existence d'un facteur de risque lié à l'âge des mères d'enfants trisomiques 21.

La recherche s'est effectuée dans la région de l'ouest Algérien. La clinique d'ophtalmologie d'Oran étant le seul établissement de santé dans cette région capable d'effectuer un caryotype et d'interpréter le résultat.

Rappels bibliographique



1. Historique

Il serait tentant de croire que la cytogénétique, science de l'étude des chromosomes à l'échelle du microscope photonique, deviendrait une discipline obsolète avec l'achèvement du séquençage du génome humain. En effet, comment imaginer que l'observation des chromosomes à un grossissement X 1 000, donnant un pouvoir de résolution maximum de 4 à 5 mégabases, pourrait résister à des techniques de biologie moléculaire capables de discerner des anomalies d'une paire de bases et disposant de la totalité de l'alphabet constituant notre génome ? L'avenir de la cytogénétique paraissait alors devoir se cantonner au simple diagnostic routinier des anomalies chromosomiques classiques, comme les aneuploïdies, pour lesquelles la mise en œuvre de techniques moléculaires lourdes ne semblait pas adéquate et, ce, pour des raisons strictement économiques (**Siffroi et Christin-Maitre, 2006**).

De son origine, en 1956, jusqu'à nos jours, la cytogénétique n'a cessé de progresser dans l'analyse de son objet d'étude, le chromosome humain. En 1959 était décrite la trisomie 21, première anomalie chromosomique constitutionnelle que les techniques de l'époque avaient permis de diagnostiquer. Basées sur une simple coloration des chromosomes et sur leur classement par les seuls critères de leurs tailles et de la position de leurs centromères, ces techniques ne permettaient que le diagnostic des anomalies de nombre, ou aneuploïdies, et celui des anomalies de structure suffisamment importantes pour pouvoir être repérées à ce niveau d'analyse. C'est ainsi que le syndrome de Klinefelter, décrit cliniquement dès 1942 (**Klinefelter, 1942**) fut attribué à l'existence d'un chromosome X surnuméraire chez les hommes atteints en 1959 (**Jacobs, 1959**). Dans les années 1970 apparurent les premières techniques de marquage en bandes, ou banding, qui introduisaient une succession de bandes claires et sombres le long des chromosomes, succession qui était spécifique d'une paire chromosomique donnée et différente d'une paire à une autre. Ces techniques permirent rapidement de préciser des anomalies de structure relativement fines et d'instaurer une nomenclature internationale dans la numérotation des différentes régions chromosomiques. Elles sont toujours à la base de l'étude standard du caryotype pour nombre d'indications.

Malgré ces progrès, le fait d'analyser des chromosomes au stade de la mitose où ils sont le plus condensés rendait difficile le diagnostic des anomalies fines de leur structure. De nouvelles techniques, basées sur la synchronisation des cultures cellulaires, rendirent possible l'obtention en grand nombre de chromosomes au stade de la prométaphase, voire de la prophase, c'est à dire à un stade mitotique où ils sont beaucoup moins condensés. Couplées à l'incorporation de composés fluorescents dans la molécule d'ADN au cours de sa synthèse, ces techniques dynamiques permirent d'obtenir des chromosomes marqués beaucoup plus allongés que précédemment et, à la manière d'un ressort qui se déplie, firent passer le nombre de bandes analysables d'environ 400 à plus de mille (figure 1). Cette méthode d'analyse du caryotype, dite en haute résolution, fut à l'origine de progrès décisifs en cytogénétique sur la description des anomalies très fines du caryotype. Elle est couramment pratiquée pour la recherche des syndromes chromosomiques, notamment en pédiatrie devant la constatation de troubles du développement, de retards mentaux ou de dysmorphies évocatrices (**Siffroi et Christin-Maitre, 2006**).

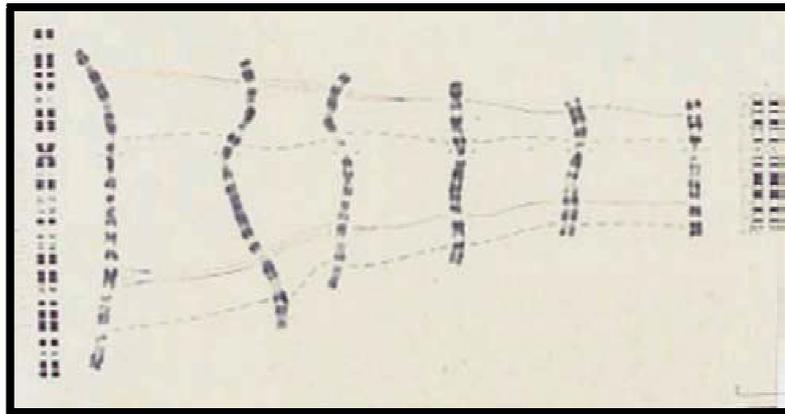


Figure 1 : Différentes résolutions d'un chromosome pro-métaphasique.

La reconnaissance, et donc le classement, des chromosomes par les techniques cytogénétiques classiques, qu'elles soient en haute résolution ou non, repose sur leur identification par un œil entraîné et est basée sur un mécanisme psychologique de reconnaissance de formes assez complexe. Ce mécanisme explique les difficultés rencontrées dans la mise au point de dispositifs automatiques de classement, dispositifs qui nécessitent toujours le contrôle humain et qui, en aucun cas, ne sont encore capables de formuler un diagnostic cytogénétique fiable. Au-delà d'un certain degré de décondensation, ce mécanisme d'identification à l'œil n'est plus possible car les chromosomes apparaissent alors comme une

masse de filaments enchevêtrés qui ne présentent plus aucun élément de reconnaissance. La limite de la cytogénétique conventionnelle est alors atteinte par l'analyse de ces chromosomes extrêmement décondensés où chaque bande représente entre 3 et 5 millions de paires de bases de la molécule d'ADN (**Siffroi et Christin-Maitre, 2006**).

Pendant une vingtaine d'années, un fossé infranchissable a donc séparé la cytogénétique, qui offrait une vision globale du génome mais une vision limitée en terme de résolution, et la biologie moléculaire qui, tout en accédant au niveau de la paire de base donc du gène, ne pouvait offrir qu'une approche ciblée, c'est à dire nécessitant la connaissance préalable des séquences d'ADN à étudier.

Ce fossé s'est comblé, dès le début des années 90, grâce à l'utilisation par les cytogénéticiens d'outils de la biologie moléculaire représentés par les sondes. Ces dernières sont des fragments d'acide nucléique spécifiques de régions chromosomiques particulières et peuvent être manipulées, amplifiées et surtout marquées pour permettre leur localisation après hybridation in situ sur des chromosomes préparés de façon classique. Après une période pendant laquelle le marquage de ces sondes se faisait par des techniques utilisant la radioactivité, la simplification de la méthode est venue par leur marquage en fluorescence, d'où le terme d'hybridation in situ fluorescente ou FISH (Fluorescence In Situ Hybridisation) qui qualifie cette technique. Dès lors, la cytogénétique devenait moléculaire et se libérait de deux handicaps majeurs : d'une part son pouvoir de résolution limité et, d'autre part, la nécessité d'obtenir des chromosomes en mitoses c'est-à-dire de travailler à partir de cellules vivantes capables de se diviser. En effet, l'utilisation des sondes pouvait se faire directement sur des noyaux en interphase, stade auquel les chromosomes sont complètement déliés dans le noyau, ouvrant ainsi la voie à ce qu'il est courant d'appeler la cytogénétique interphasique. (**Gilgenkrantz et al., 1997**).

La FISH permet donc maintenant de diagnostiquer des anomalies infra-microscopiques et ouvre ainsi la voie à la génétique moléculaire qui, dans les régions impliquées, va rechercher le ou les gènes dont la perte ou la duplication sont éventuellement responsables du phénotype anormal.

Les techniques de FISH profitent aussi continuellement des progrès réalisés dans l'utilisation des fluorochromes pour le marquage des sondes. Ainsi, les techniques de Multi-

FISH ou de caryotypie spectrale (SKY) utilisent maintenant des combinaisons de ces fluorochromes dans le marquage de sondes de peinture et sont capables de reconnaître des profils de fluorescences particulières le long des chromosomes (**Schrock et al, 1996**). Chaque profil est alors assigné à un chromosome donné et leur transformation en « fausse couleur » facilement reconnaissable permet d'obtenir un caryotype bigarré où chaque paire chromosomique apparaît colorée de façon spécifique. Des chromosomes extrêmement remaniés, comme ceux rencontrés dans les cellules tumorales par exemple, peuvent donc être décortiqués de cette manière, chose qu'il était pratiquement impossible de faire avec les techniques de banding classiques. La constatation, dans les chromosomes d'une tumeur, d'une région particulièrement amplifiée, ou au contraire délétée, est devenue un excellent outil pour dépister les oncogènes ou les anti-oncogènes dont les dérèglements sont à la base de nombreux processus tumoraux. (**Gilgenkrantz et al., 1997**).

Si la cytogénétique classique est intrinsèquement limitée par son niveau de résolution, elle offre toujours cependant un avantage considérable qui est de pouvoir diagnostiquer des remaniements équilibrés du génome. Ceux-ci, translocations, inversions ou insertions, sont le plus souvent diagnostiqués chez des sujets sains consultant pour des problèmes de fertilité ou liés à la transmission déséquilibrée du remaniement à la descendance entraînant fausses couches à répétition ou naissance d'un enfant handicapé. Rarement, mais de façon extrêmement intéressante, les anomalies équilibrées du caryotype s'accompagnent d'un phénotype anormal correspondant à une maladie héréditaire connue mais non encore élucidée quant à son origine et ce phénotype peut alors être mis sur le compte d'une microdélétion ou de la cassure d'un gène d'intérêt au niveau de l'un des points de cassure chromosomique. Une telle constatation est actuellement le moyen le plus fréquent de diagnostiquer les gènes responsables des maladies héréditaires non encore étiquetées : en effet, la génétique moléculaire, par les méthodes de génétique inverse, a besoin de nombreuses familles informatives pour mettre en œuvre des études de liaisons et réduire ainsi au minimum la région génomique dans laquelle doit se situer le gène responsable de la maladie étudiée avant de le rechercher dans les banques de données issues du séquençage du génome. Ces familles ne sont pas nombreuses et ont déjà été étudiées pour beaucoup d'entre elles ce qui oblige les généticiens à élargir leur champ d'action géographique en établissant des collaborations

internationales pour pouvoir recruter de nouveaux patients et de nouvelles familles. **(Weiss *et al.*, 1999).**

Ainsi, la cytogénétique moderne, tout en conservant un ensemble de techniques classiques pour les diagnostics de routine, se place maintenant au niveau de la biologie moléculaire. Elle conserve cependant sa spécificité car elle est capable de diagnostiquer à la fois des déséquilibres génomiques allant de la trisomie 21 à la délétion ou la duplication d'un gène mais aussi, et surtout, des anomalies équilibrées du génome.

La grande majorité des examens génétiques réalisés actuellement est en fait constituée d'examens cytogénétiques. L'évolution des techniques de cytogénétique moléculaire permet d'affiner sans cesse le niveau de résolution de l'analyse chromosomique comme cela est parfaitement illustré par l'utilisation des sondes télomériques chez les enfants présentant un retard mental chez lesquels une anomalie cryptique est détectée dans 6 % à 8 % des cas. Avec les futurs moyens d'investigation comme la CGH-Array, on estime que cette fréquence pourrait s'élever à 30 % ou 40 %. Puisque ces enfants seront initialement adressés pour caryotype à des services de cytogénétique, il appartient à ces derniers de maîtriser ces nouvelles techniques, qui se situent à la limite de la biologie moléculaire, pour espérer développer une recherche fructueuse dans l'identification des gènes responsables des maladies héréditaires **(Sanlaville *et al.*, 2005).**

Les données sur les facteurs associés à la survenue du syndrome de Down dans une population fortement consanguines ont été évaluées pour rechercher la présence d'un contrôle génétique de la non-disjonction chez l'homme. Au Koweït, la consanguinité survient dans 40% des mariages. Dans son principal hôpital d'obstétrique, 20 trisomiques nouveau-nés sur 11 614 naissances ont été enregistrés sur une période de 12 mois. L'analyse du [Khi-deux] indique la survenue du syndrome de Down à cause de deux facteurs indépendants: consanguinité des parents et l'âge maternel. Le risque relatif est environ quatre fois plus grand pour les parents consanguins que pour les non liés ($P=0.005$), une explication possible à cela est l'existence d'un gène qui induit la non-disjonction mitotique dans l'ovule fécondé homozygote. Une autre explication est l'existence d'un gène autosomique récessif qui se traduit par la non-disjonction méiotique chez les parents homozygotes. La consanguinité est généralement perpétuée dans certaines familles, ou des sections de la population, et les parents dans les familles très consanguines ont une probabilité plus élevée d'être homozygotes pour ce gène (**Alfi *et al*, 1980 ; Moreno-Fuenmayor *et al*, 1993**).

2. Origine parentale et cellulaire des aneuploïdies

Au cours des dernières années, les polymorphismes de l'ADN ont été utilisés pour déterminer l'origine parentale et cellulaire des différentes aneuploïdies (**Chakravarti, 1989**). Pour les monosomies, une information n'est disponible que pour la monosomie X qui est en pratique la seule monosomie observée à la naissance. Plusieurs études sur l'origine de la monosomie X ont montré que, dans 80 % des cas, le chromosome X conservé était d'origine maternelle (**Jacobs *et al*, 1997**). Par voie de conséquence, le chromosome Y ou le chromosome X d'origine paternelle est perdu au cours de la méiose ou plus vraisemblablement dans les premières divisions du zygote. Les résultats des études menées sur les fausses couches sont identiques. Cela suggère qu'il n'existe pas de différence dans la survie de l'embryon/fœtus monosomique en fonction de l'origine parentale du chromosome X (**Hassold *et al*, 1992**).

L'origine de la trisomie 21 a été la plus étudiée (Tableau I). Le résultat de ces études montre que 90 % des trisomies 21 résultent d'une erreur au cours de la méiose maternelle. Environ 10 % des cas résultent d'une erreur paternelle et dans 2 % des cas il existe une non-

disjonction mitotique postzygotique (**Lamb et al, 1996**). En outre, la fréquence et peut-être le mécanisme de non-disjonction varient en fonction du contexte gamétique puisque dans l'ovocyte, une erreur de première division méiotique (MI) est trois fois plus fréquente qu'une erreur de deuxième division méiotique (MII), tandis qu'elles sont de fréquence égale dans les spermatocytes (**Savage et al, 1998**).

Trisomie	Origine (%)				
	Méiotique				Mitotique
	Paternelle		Maternelle		
	MI	MII	MI	MII	
15	-	15	76	9	-
16	-	-	100	-	-
18	-	-	33	56	11
21	3	5	65	23	4
XXY	46	-	38	14	2
XXX	-	6	60	16	18

Tableau I : Origine des trisomies. MI : méiose I ; MII : méiose II (**Hassold et Hunt, 2001**).

3. Mécanismes méiotiques

Warren a été le premier à montrer qu'une diminution de la recombinaison génétique était associée à la non-disjonction (**Warren et al, 1987**). Depuis, un grand nombre de laboratoires ont confirmé cette observation. Les études les plus détaillées concernent les trisomies 15, 16, 18 et 21 d'origine maternelle, ainsi que celles impliquant les chromosomes sexuels et les trisomies 21 ou le génotype XXY d'origine paternelle. Cette diminution de recombinaison varie considérablement d'un chromosome à l'autre. Par exemple, la réduction est très prononcée dans le syndrome XXY d'origine paternelle. En effet, dans ce cas, la carte génétique de la région pseudo-autosomique est réduite de 50cM à 10cM (**Hassold et al,**

1991). Pour d'autres trisomies (comme la trisomie 15), l'effet est moindre (**Robinson et al, 1993**).

Deux phénomènes peuvent être responsables de cette diminution de recombinaison. Tout d'abord, il peut exister des situations où aucune recombinaison n'est observée. Ensuite, la nature de la diminution peut être complexe. Ainsi, pour un bivalent présentant habituellement trois chiasmata, outre une réduction du nombre des chiasmata, la disposition de ceux-ci sur le bivalent peut être atypique. En fait, les deux phénomènes sont observés bien que leurs contributions respectives varient en fonction du chromosome impliqué. Par exemple, une absence d'échange (ou une absence d'appariement) est observée dans environ 40 % des cas de trisomie 21 résultant d'une erreur maternelle en première division méiotique. Cela est également observé dans le cas de la trisomie 21 et du syndrome XXY d'origine paternelle ainsi que dans le cas des trisomies 21, 15, 18 ou les polysomies X d'origine maternelle. Mais dans les autres cas de trisomie 21 résultant d'une erreur maternelle de première division méiotique, il existe une disposition anormale des échanges sur le bivalent (**Lamb et al, 1996**).

Par exemple, lorsqu'un seul échange est présent, cet échange est habituellement positionné de façon télomérique rendant le bivalent très instable sur la plaque équatoriale. Cela est également observé dans les trisomies 16. Enfin, outre une absence de recombinaison ou une disposition inhabituelle des échanges, les études concernant la trisomie 21 montrent également un excès de recombinaison péricentromérique dans les non-disjonctions classées comme des erreurs résultant d'une erreur de deuxième division méiotique. Il est possible que cet excès de recombinaison péricentromérique produise un enchevêtrement chromosomique entraînant une non-disjonction de première division méiotique de l'ensemble du bivalent (**Bridges, 1916**). Celui-ci se sépare ensuite de manière équationnelle mimant ainsi une non-disjonction de deuxième division méiotique alors que l'erreur méiotique s'est en réalité produite au cours de la première division méiotique (Figure 2). Il a aussi été proposé que ces « échanges » péricentromériques puissent interférer avec la cohésion des chromatides-soeurs causant une division prématurée des chromatides en première division méiotique. Si ces chromatides migrent ensuite vers le même pôle cellulaire en première et deuxième division méiotique, un gamète disomique résultant apparemment d'une erreur de deuxième division méiotique sera produit. Bien que cela soit le cas pour la trisomie 21, des études plus récentes

montrent que le chromosome 18 et les chromosomes sexuels se comportent différemment. En somme, toutes ces études montrent bien que la relation entre anomalie de recombinaison et non-disjonction est complexe.

Alors que plusieurs laboratoires faisaient appel aux techniques de biologie moléculaire, d'autres investigateurs ont utilisé les techniques de cytogénétique classique ou moléculaire pour analyser directement la ségrégation méiotique des chromosomes. Ces études portaient sur les ovocytes et avaient pour but de déterminer si les erreurs de première division méiotique résultaient d'une non-disjonction ou d'une division prématurée des chromatides-sœurs (**Angell, 1997**). Les études les plus récentes montrent que ce deuxième mode de ségrégation des chromosomes, d'abord contesté, est bien réel, mais il n'explique qu'environ un tiers des erreurs méiotiques. En outre, cette proportion varie en fonction de l'âge et des chromosomes impliqués (**Dailey et al, 1996 ; Anahory et al, 2003**).

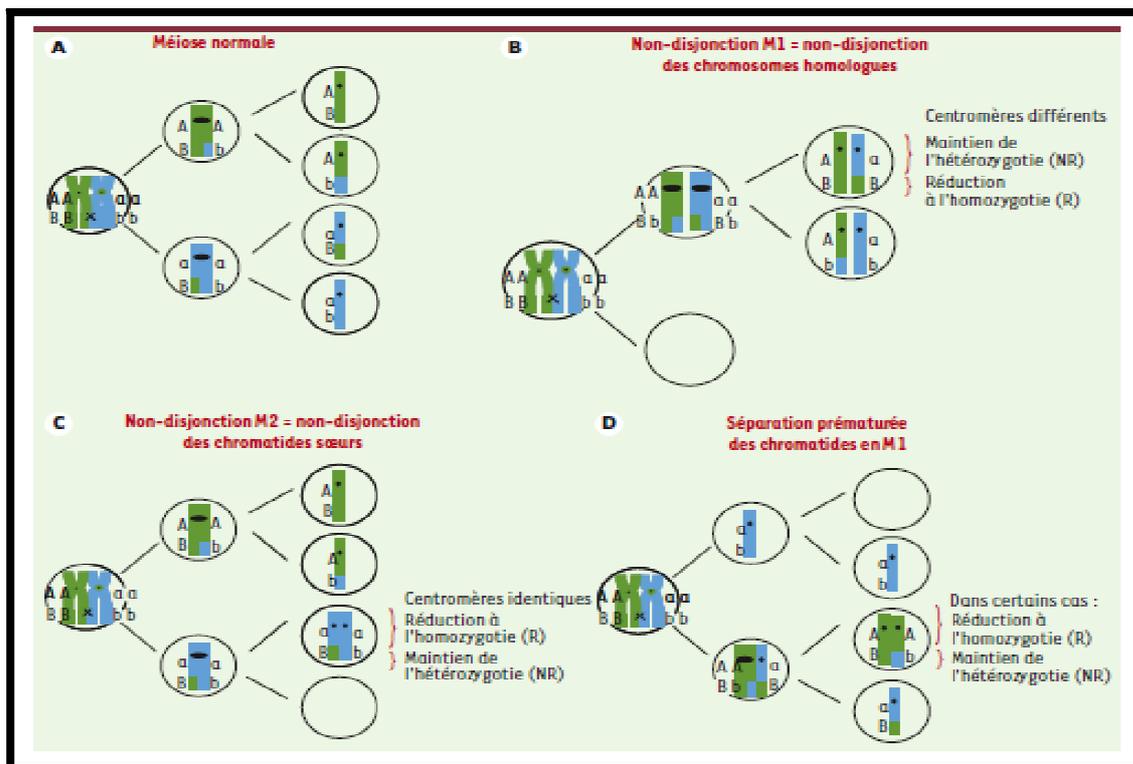


Figure 2 : A. Méiose normale. B, C, D. Différents mécanismes de formation des aneuploïdies lors de la méiose (**Turleau et Vekemans, 2005**).

La mitose est le processus de division cellulaire. Ce terme, introduit en 1882 par Walter Flemming, dérive d'un mot grec *mitas* qui veut dire fil. Des structures en forme de filaments furent observées pour la première fois par Flemming en 1879, dans des cellules en division. En 1884, Strasburger inventa les termes *prophase*, *métaphase* et *anaphase* pour nommer les différentes étapes de la division cellulaire. Le résultat d'une mitose est la formation de deux cellules filles génétiquement identiques.

4. Mitose

Une cellule se divise au cours d'une série d'étapes successives. Le cycle cellulaire est défini comme la période comprise entre deux divisions cellulaires. Le temps qui s'écoule entre la fin d'une mitose et le début de la suivante est appelé *interphase*. Dans les cellules eucaryotes, chaque division cellulaire commence par une phase de synthèse d'ADN qui dure à peu près huit heures (*phase S*). Elle est suivie par la *phase G2* (gap 2) qui dure environ 4 heures, jusqu'au début de la *mitose (M)*. La mitose dans les cellules eucaryotes dure à peu près une heure. Elle est suivie par l'*interphase (C₁)* d'une durée extrêmement variable. Les cellules qui ne se divisent plus entrent en phase *G0*.

Lors du passage de l'*interphase* à la mitose, les chromosomes deviennent visibles, apparaissant comme de longs et fins filaments (*prophase*). Au début de la *prophase*. Chaque chromosome est lié à un point précis de la membrane nucléaire et apparaît sous la forme d'une structure double (chromatides sœurs). Cette structure est le résultat de la synthèse d'ADN qui s'est achevée avant la mitose. Les chromosomes se contractent pendant la *prophase tardive* et deviennent plus courts et plus épais (condensation chromosomique). A la fin de la *prophase*, la membrane nucléaire disparaît et la *métaphase* débute. A ce moment, le fuseau mitotique apparaît sous la forme de fins filaments. Il irradie à partir de deux structures polaires (centrioles). Les chromosomes se disposent sur la plaque équatoriale, mais il n'y a pas appariement entre les chromosomes homologues. Lors du passage de la *métaphase* à l'*anaphase*, les chromosomes se divisent aussi au niveau de leurs centromères. Les deux chromatides de chaque chromosome migrent vers les pôles opposés. La *télophase* débute avec la formation d'une membrane nucléaire. Enfin, le cytoplasme se divise également (cytocinèse). Au début de l'*interphase*, les chromosomes individuels deviennent progressivement invisibles dans le noyau de la cellule (Karsenti et Vernes, 2001).

4.1 Interphase

L'interphase est la période du cycle cellulaire précédant la mitose qui est caractérisée par un accroissement du volume cellulaire, la cellule transcrit ses gènes et les chromosomes sont répliqués. Elle ne fait donc pas à proprement parler partie de la mitose. Les chromosomes sont sous forme de filaments compacts : la chromatine. C'est pendant cette phase que la réplication de l'ADN s'effectue (chaque chromosome se double, il a deux chromatides). Elle peut être subdivisée en plusieurs phases.

4.1.1 La phase G₁ (de l'anglais Gap 1 ; gap = espace, pour l'espace entre la mitose et la phase S) au cours de laquelle la cellule croît et effectue les fonctions pour lesquelles elle est programmée génétiquement : synthèse protéique, etc. Cette phase détermine la taille finale des cellules filles issues de la mitose.

4.1.2 La phase S (pour Synthèse de nouvelle molécule d'ADN) au cours de laquelle le matériel chromosomique (pour l'instant sous forme de chromatine) est doublé par duplication. Chaque filament de chromatine s'est dédoublé en deux filaments qui restent collés en une sorte de croix (cette croix constituera, par compactage/enroulement/condensation ce qu'on appelle habituellement le **chromosome**, c'est-à-dire deux chromatides collées par leur centromères).

4.1.3 La phase G₂ (Gap 2) où la cellule se comporte comme lors de la phase G₁.

4.2 Prophase

Lors de cette phase, le matériel génétique (ADN), qui en temps normal est présent dans le noyau sous la forme de chromatine se condense en structures très ordonnées et individualisées appelées chromosomes. En effet, des protéines appelées Histone H1 sont attachées de part en part sur l'ADN. Or, durant la prophase, ces Histones H1 sont phosphorylées (par le MPF) ce qui provoque un enroulement accru de l'ADN qui semble se "condenser". Le nucléole se désagrège. Comme le matériel génétique a été dupliqué avant le début de la mitose, il y aura deux copies identiques du génotype dans chaque cellule. Pendant cette phase, les chromosomes sont donc constitués de deux chromatides sœurs portant toutes les deux la même information génétique. Elles contiennent également chacune un élément d'ADN appelé centromère qui joue un rôle important dans la ségrégation des chromosomes.

Les deux chromatides d'un même chromosome sont reliées au niveau de la région centromérique. Une protéine nommée cohésine joue le rôle de colle et unit les deux chromatides d'un même chromosome.

Le deuxième organe important de la *prophase* est le centrosome, composé initialement de deux centrioles. Comme pour les chromosomes, le centrosome s'est dupliqué avant le début de la prophase (en 4 centrioles). Les 4 centrioles se séparent durant la prophase, formant deux centrosomes qui migrent chacun vers un pôle de la cellule. Le cytosquelette de microtubules se réorganise pour former le fuseau mitotique, structure bipolaire qui s'étend entre les deux centrosomes mais reste à l'extérieur du noyau. Par la croissance des microtubules, le fuseau mitotique s'allonge, ce qui étire le noyau cellulaire.

On peut se représenter les microtubules comme des perches ou des rails, dans la cellule. Certaines cellules eucaryotes, notamment les cellules végétales, sont dépourvues de centriole.

4.3 Prométaphase

Certains auteurs considèrent la prométaphase comme une partie de la prophase, plutôt que comme une phase distincte. De plus, elle ne se produit pas chez tous les eucaryotes.

Durant la prométaphase, la membrane nucléaire se désagrège sous forme de vésicules, initiant ainsi la *mitose ouverte*. La membrane nucléaire se reformera en fin de mitose. (Chez certains protistes, la membrane nucléaire reste intacte. On assiste alors à une *mitose fermée*).

Des complexes protéiques spécialisés : les kinétochores, se forment au niveau des centromères. Certains microtubules s'accrochent aux kinétochores. Ils seront alors appelés microtubules kinétochoriens. Les microtubules accrochés seulement aux centrosomes sont appelés microtubules polaires. Les microtubules qui ne font pas partie du fuseau mitotique forment l'aster et sont appelés microtubules astraux. Petit à petit chaque chromosome voit chacune de ses chromatides reliées à un pôle par l'intermédiaire des microtubules. Ceux-ci exerçant des tensions, les chromosomes ont alors des mouvements agités.

4.4 Métaphase

Deuxième phase de la mitose, après la prophase, c'est le rassemblement des chromosomes condensés à **l'équateur de la cellule** pour former la *plaque équatoriale*. Les tensions subies par chacun des kinétochores d'un chromosome s'équilibrent progressivement et ceux-ci s'alignent dans un plan situé à mi-chemin des deux pôles. On observe que les chromosomes sont alignés selon leur centromère.

Chromosomes en métaphase

Un chromosome de métaphase est constitué de deux chromatides (*chromatides soeurs*) et d'un centromère qui les relie. Les régions situées aux deux extrémités des chromosomes sont les télomères. Le point d'attachement aux fibres du fuseau mitotique est le cinétochore. Pendant la métaphase et la prométaphase, les chromosomes peuvent être visualisés en microscopie optique, sous la forme de structures allongées, individualisées, de 3 à 7 μm de long. (**Rieder et Khodiakov, 2003**).

4.5 Anaphase

L'**anaphase** est une phase très rapide de la méiose et de la mitose où les chromatides se séparent et migrent vers les pôles opposés de la cellule. Les fils chromosomiques sur lesquels étaient accrochés les centromères des cellules se détachent et les chromatides se déplacent chacune vers un pôle de la cellule.

Durant cette phase, suite à un signal spécifique qui correspond à une augmentation d'un facteur 10 de la concentration en calcium intracellulaire et à l'inactivation du MPF (protéolyse de la cycline B du MPF), les chromatides sœurs se séparent brutalement. Elles sont alors « tirées » par les microtubules en direction du pôle auquel elles sont rattachées. Les chromatides migrent rapidement à une vitesse d'environ 1 $\mu\text{m}/\text{min}$. Il y a deux catégories de déplacements : l'anaphase A et l'anaphase B.

Pendant l'anaphase A, les chromatides, en réalité, se déplacent en direction du pôle sur les microtubules kinétochoriens qui raccourcissent car ils se dépolymérisent par leur extrémité + au fur et à mesure de la progression du kinétochore. En effet, les kinétochores permettent non seulement d'« arrimer » une chromatide au microtubule, mais aussi de les faire transporter

le long des microtubules. Au niveau des kinétochores on trouve des « moteurs » moléculaires (de type dynéine) utilisant de l'ATP qui permettent de tracter les chromatides le long des microtubules qui eux, restent fixes.

Pendant l'anaphase B, les microtubules polaires s'allongent, et les pôles du fuseau mitotique s'éloignent l'un de l'autre entraînant avec eux les chromatides.

4.6 Télaphase

Le terme « télaphase » dérive du grec « telos » signifiant « fin ». C'est la 4^e phase de la mitose.

Durant cette période :

- les microtubules polaires vont persister au niveau de leur extrémité + pour former les microtubules interzonaux qui disparaîtront lors de la phase la plus terminale de la télaphase, la cytotdiérèse, qui correspond à la division terminale des deux cellules filles.
- Les microtubules kinétochoriens disparaissent.
- les chromatides sœurs commencent à se décondenser.
- l'enveloppe nucléaire ainsi que les nucléoles commencent à se reformer dans la métaïose.

4.7 Cytodiérèse

Appelée aussi cytokinèse ou encore cytokinèse, elle agit après la mitose. Durant cette période, le sillon de division se forme dans un plan perpendiculaire à l'axe du fuseau mitotique et sépare la cellule en deux. Il peut en fait commencer à se former dès l'anaphase. Le clivage est dû à un anneau contractile qui est composé principalement d'actine et de myosine.(myosine II) Cette constriction se fait de manière centripète. Le sillon de division se resserre jusqu'à former un corps intermédiaire, formant un passage étroit entre les deux cellules filles et qui contient le reste du fuseau mitotique. Celui-ci finira par disparaître entièrement et les deux cellules filles se sépareront complètement. Par ailleurs, l'enveloppe nucléaire et les nucléoles finissent de se reconstituer et l'arrangement radial interphasique des microtubules nucléés par le centrosome se reforme.

5. Méiose dans les cellules germinales

Le terme de méiose (division réductrice) a été introduit en 1884 par Strasburger, pour désigner un mode particulier de division cellulaire qui a lieu dans les cellules germinales, ovocytes et spermatozoïdes ; il vient d'un mot grec signifiant diminution. La méiose consiste en deux divisions nucléaires successives pour une seule réplication de l'ADN. De ce fait, les quatre cellules filles sont haploïdes, c'est-à-dire qu'elles ne contiennent qu'un seul chromosome de chaque paire.

La méiose se distingue fondamentalement de la mitose des points de vue cytologique et génétique. Premièrement, les chromosomes homologues s'apparient en prophase de la première division. Deuxièmement, des échanges génétiques se produisent régulièrement entre les chromosomes homologues (crossing-over). Il en résulte des chromosomes contenant des segments d'origine à la fois maternelle et paternelle ; ces nouvelles combinaisons de l'information génétique sont appelées recombinaison génétique. Troisièmement, lors de la première division cellulaire (méiose I), le nombre de chromosomes est divisé par deux, et les cellules filles issues de cette division sont donc haploïdes (division réductrice). Les chromosomes de chaque paire sont répartis de façon indépendante entre les cellules filles (répartition indépendante).

La méiose est un mécanisme cellulaire et biochimique complexe. L'observation cytologique des différents stades de la méiose et les conséquences génétiques ne sont pas parfaitement synchrones. Le plus souvent, la manifestation cytologique d'un phénomène génétique n'a lieu que lors d'une phase ultérieure.

5.1 Méiose I

La méiose comprend deux divisions cellulaires la méiose I et la méiose II, Les phénomènes génétiques importants (recombinaison génétique par crossing-over et réduction du nombre des chromosomes menant à l'haploïdie) ont lieu pendant la méiose I. La méiose débute par la réplication de l'ADN. Initialement, à la fin de l'interphase, les chromosomes ne sont visibles que sous la forme de fins filaments. Dès le début de la prophase 1, les chromosomes sont dupliqués. L'appariement permet un échange entre les chromosomes homologues (crossing-over) qui est rendu possible par la juxtaposition des chromatides

homologues avec formation d'un chiasma à certains endroits. Le résultat du crossing-over est un échange de matériel génétique d'origine maternelle ou paternelle entre deux chromatides de chromosomes homologues. L'anaphase 1 débute après la migration des chromosomes homologues vers les deux pôles opposés. (**Whitehouse, 1973**).

5.2 Méiose II

La méiose II est la division longitudinale des chromosomes dupliqués (chromatides), suivie d'une division cellulaire. Chaque cellule fille contient un chromosome de chaque paire chromosomique et est, de ce fait, haploïde. Sur chaque chromosome, on peut identifier les fragments recombinants et les fragments non recombinants. Les événements génétiques responsables de ces changements se sont produits pendant la prophase de la méiose I.

La répartition indépendante des chromosomes lors de la méiose explique la ségrégation (ou séparation) des caractères observables selon les lois de Mendel (**Whitehouse, 1973**).

5.3 Prophase de la méiose I

La prophase de la méiose I se décompose en un certain nombre de stades que l'on peut schématiquement distinguer même s'ils se succèdent de façon continue. Au cours du premier stade, appelé leptotène, les chromosomes commencent à devenir visibles sous la forme d'une fine structure filiforme (une seule paire de chromosomes est schématisée sur la figure A). Vient ensuite le stade zygotène, au cours duquel on observe l'appariement des chromosomes. A ce stade, chaque chromosome apparaît comme une structure double, en raison de la réplication de l'ADN qui a eu lieu avant le début de la prophase. Chaque chromosome a donc été dupliqué et est formé de deux chromatides identiques, les chromatides sœurs, maintenues ensemble au niveau de leur centromère. Chaque chromatide est constituée d'une double hélice d'ADN. Deux chromosomes appariés constituent un bivalent. Lors du stade pachytène, les bivalents continuent à s'épaissir et à se raccourcir. Au stade diplotène, les deux chromosomes homologues se séparent l'un de l'autre, mais restent attachés en quelques points appelés chiasmata (voir ci-dessous). Dans la phase suivante (diacynèse), les deux chromosomes d'une même paire se séparent plus nettement, mais ils sont encore associés par un ou quelques

points de contacts distaux. Chaque chiasma correspond à une région où s'est produit un crossing-over. Toutefois, à la fin de la diacynèse, les chiasmas se déplacent vers les télomères des chromosomes (terminalisation). Les mécanismes de la méiose correspondent à ceux d'une mitose (Miller et Therman, 2001).

5.4 Complexe synaptonémal

Le complexe synaptonémal a été observé de façon indépendante dans les spermatocytes par D. Fawcett et M.J. Moses en 1956. C'est une structure complexe qui se forme pendant la prophase de la méiose I. Il est constitué de deux chromatides (1 et 2) d'origine maternelle (mat) et deux chromatides (3 et 4) d'origine paternelle (pat) (voir Figure 3). Ce complexe est nécessaire à la survenue des chiasmas, du crossing-over et de la recombinaison qui en résulte (Alberts *et al*, 2004).

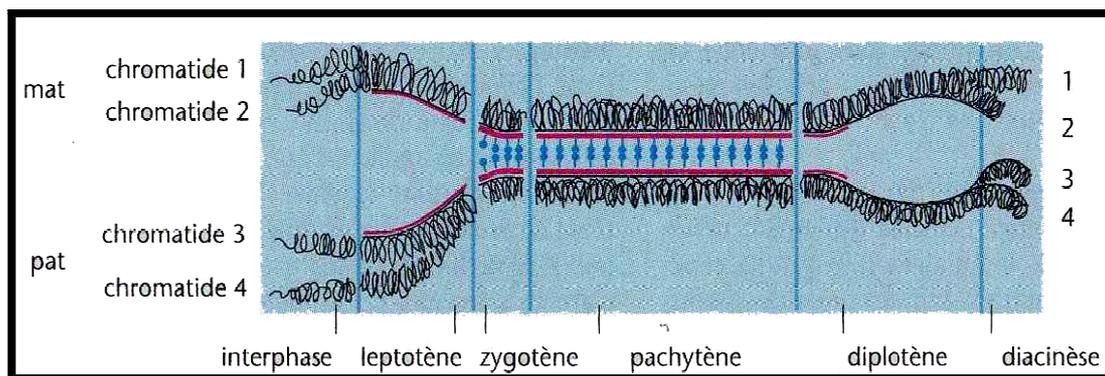


Figure 3 : Complexe synaptonémal (Passarge, 2004).

5.5 Formation de chiasmas

Le terme « chiasma » a été introduit par F.A. Janssens en 1909 pour caractériser la manifestation cytologique du crossing-over pendant la prophase de la méiose I. Un chiasma se forme entre une chromatide d'un chromosome d'origine maternelle (chromatides 1 et 2 sur la figure 4), et une chromatide d'un chromosome d'origine paternelle (chromatides 3 et 4). Chacune des deux chromatides d'un chromosome peut s'entrecroiser avec une des chromatides

du chromosome homologue (par exemple, 1 et 3, ou 2 et 4). La formation de chiasma joue aussi un rôle important dans la séparation (ségrégation) des chromosomes (Alberts *et al*, 2004).

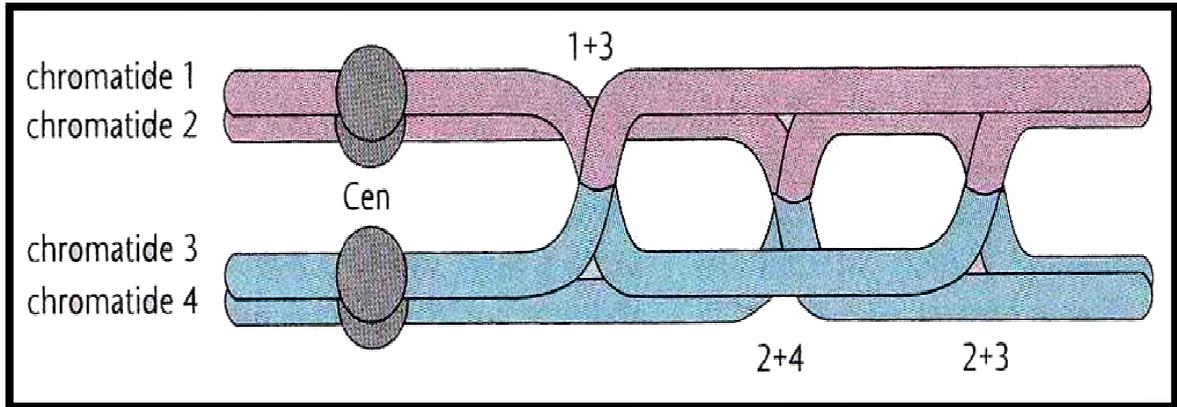


Figure 4 : Chiasma (Passarge, 2004).

5.6 Recombinaison génétique par crossing-over

De nouveaux Fragments chromosomiques, recombinants, naissent du crossing-over (recombinaison). Il est donc possible de distinguer les fragments chromosomiques recombinants et non recombinants. Sur le schéma (figure 5), les régions A-E (en rose) de l'un des chromosomes et les régions correspondantes a-e (en bleu) du chromosome homologue deviennent respectivement a-b-C-D-E et A-13-c-d-e dans les chromosomes recombinants (Alberts *et al*, 2004).

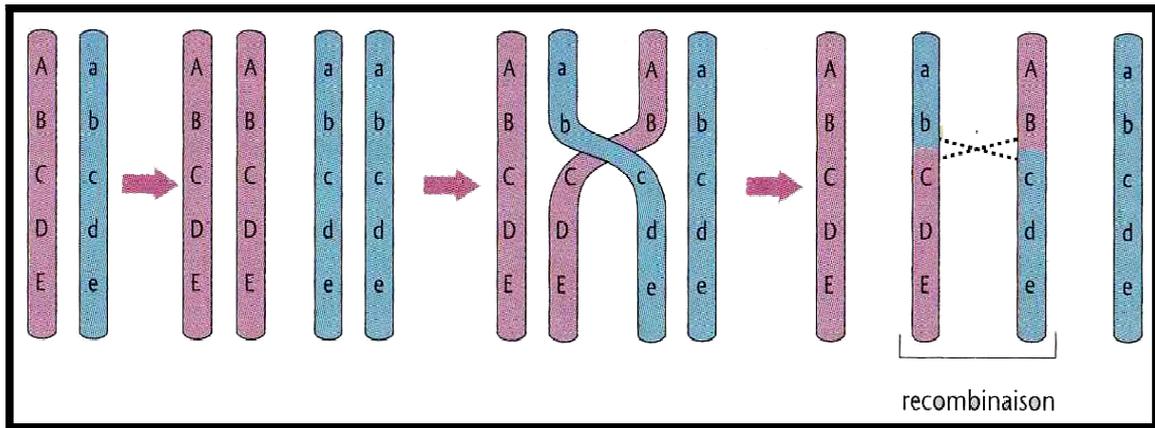


Figure 5 : Recombinaison génétique par crossing-over (Passarge, 2004).

6. Gamétogenèse

Les cellules germinales (gamètes) sont produites dans les gonades. Il s'agit de l'ovogenèse (formation des ovules) pour le sexe féminin et de la spermatogenèse (formation des spermatozoïdes) pour le sexe masculin. Les cellules germinales primordiales migrent de la crête génitale aux gonades au cours du développement embryonnaire précoce. Elles se multiplient alors par division mitotique. La formation proprement dite des cellules germinales (gamétogenèse) débute avec la méiose. La durée et le résultat de la division méiotique diffèrent selon le sexe.

6.1 Implication des mutations spontanées dans la gamétogenèse

La plupart des nouvelles mutations surviennent pendant la gamétogenèse. La différence qui existe entre les durées de formation des gamètes mâles et femelles est reflétée par la différence des nombres de divisions cellulaires dans la lignée germinale de l'homme et de la femme. En moyenne, chez un homme de 30 ans, 380 réplifications chromosomiques ont eu lieu dans les cellules précurseurs des spermatozoïdes, et environ 610 chez un homme de 40 ans. Au total, il se produit environ 25 fois plus de divisions cellulaires au cours de la spermatogenèse qu'au cours de l'ovogenèse (Crow, 2000). Cela rend probablement compte du taux de mutation plus élevé chez les hommes, taux qui augmente en particulier avec l'âge

paternel. Chez la femme, il y a en moyenne 22 divisions cellulaires avant la méiose, ce qui représente un total de 23 réplifications chromosomiques (**Hurst et Ellegren, 1998**).

Une répartition défectueuse des chromosomes (non-disjonction) pendant la méiose I ou la méiose II est responsable d'aberrations chromosomiques.

6.2 Spermatogenèse

Les spermatogonies sont des cellules diploïdes, résultant de divisions cellulaires mitotiques dans les gonades mâles. La première division méiotique a lieu au début de la puberté et donne naissance aux spermatocytes primaires. À la fin de la méiose 1, un spermatocyte primaire a donné deux spermatocytes secondaires. Chacun d'entre eux possède un lot haploïde de chromosomes dupliqués. Durant la méiose II chaque spermatocyte secondaire se divise pour former deux spermatozoïdes, ayant chacune un lot haploïde de chromosomes. Les spermatozoïdes se différencient en spermatozoïdes matures en 6 semaines environ. La spermatogenèse est un phénomène continu. Chez l'être humain de sexe masculin, il faut environ 90 jours à une spermatogonie pour se transformer en spermatozoïde (**Miller et Therman, 2001**).

6.3 Ovogenèse

L'ovogenèse (gamétogenèse femelle : formation des ovules) se distingue de la spermatogenèse par sa chronologie et le produit obtenu. Au début de l'embryogenèse, les cellules germinales migrent de la crête génitale vers les ovaires et s'y multiplient par mitoses répétées pour former les ovogonies. La première division méiotique d'une ovogonie donne un ovocyte primaire. Chez l'être humain de sexe féminin, la méiose I débute environ quatre semaines avant la naissance, mais elle s'arrête à un stade de la prophase appelé dictyotène. L'ovocyte primaire reste bloqué à ce stade jusqu'à l'ovulation. C'est seulement alors que la méiose se poursuit (**Alberts et al, 2004**).

Dans les ovocytes primaires, le cytoplasme se divise asymétriquement, aussi bien lors de la méiose I que de la méiose II, il en résulte chaque fois deux cellules de tailles inégales : une grosse cellule, qui formera éventuellement l'œuf, et une petite cellule, appelée globule polaire I. Quand l'ovocyte secondaire se divise, à nouveau de manière inégale, on obtient un ovocyte mature et un autre globule polaire (globule polaire II). Les globules polaires ne se développent pas et dégèrent. Rarement, quand le globule polaire ne dégère pas, il peut être fécondé et former un jumeau dont le développement sera incomplet. Dans l'ovocyte secondaire, chaque chromosome est toujours constitué de deux chromatides sœurs. Celles-ci ne se séparent que lors de la division cellulaire suivante (méiose II), quand elles entrent dans deux cellules différentes. Chez la plupart des vertébrés, la maturation de l'ovocyte secondaire s'arrête au cours de la méiose II L'ovocyte II n'est libéré que lors de l'ovulation, et la méiose ne s'achève que s'il y a fécondation. Le nombre maximal de cellules germinales présentes dans un ovaire de fœtus humain d'environ 5 mois est d'environ $6,8 \cdot 10^6$. Ce nombre est réduit à $2,3 \cdot 10^6$ à la naissance et à 200 000 à la puberté. Parmi ces cellules, 400 atteindront éventuellement l'ovulation (Alberts *et al*, 2004).

6.3.1 Anomalies chromosomiques ovocytaires à l'origine d'aneuploïdies embryonnaires

Le taux d'échec du développement embryonnaire est très important dans notre espèce avec une cause majoritairement chromosomique. C'est Henri Leridon, épidémiologiste, qui a, pour la première fois, montré de façon explicite qu'il existait dans notre espèce une forte mortalité prénatale (Leridon, 1977). Le recensement des grossesses et de leurs issues dans une large cohorte de femmes lui a permis de montrer que moins de 40 % des grossesses débutées arrivaient à terme, et que les accidents survenaient très majoritairement durant les premières semaines de gestation (figure 6).

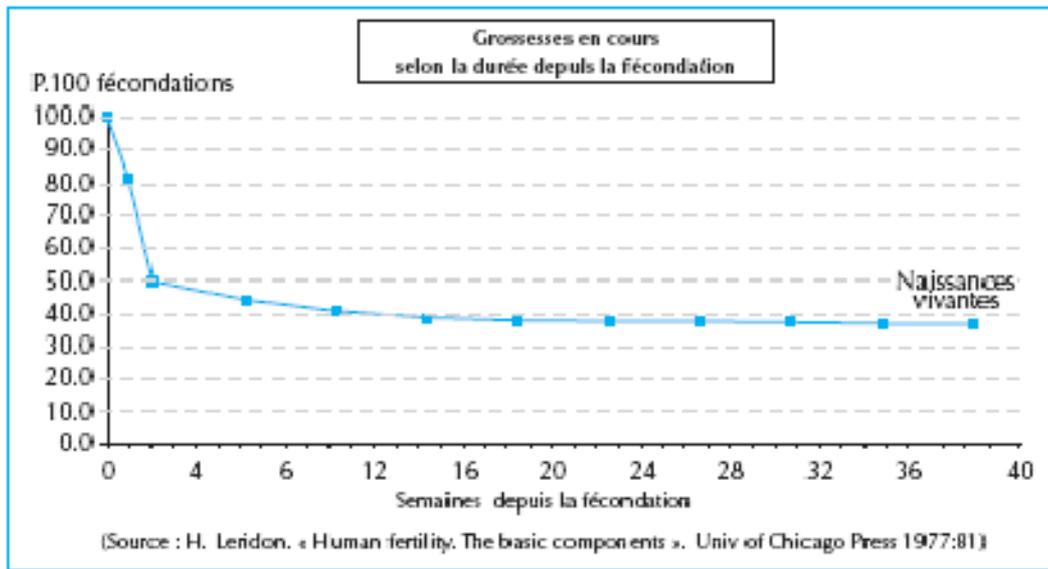


Figure 6 : Pourcentage de grossesses évolutives en fonction du nombre de semaines de gestation.

Les chances de concevoir un enfant vivant à terme, sans assistance médicale à la procréation, sont estimées à 21-28 % par cycle naturel pour les femmes âgées de 20 à 30 ans (**Miller et al, 1980**) et la plupart des échecs reproductifs seraient dus à des anomalies chromosomiques embryonnaires léthales.

Dès 1969, Boué et Boué rapportaient que 60 % des échecs de reproduction résultaient des anomalies chromosomiques, et que la fréquence de ces anomalies était beaucoup plus importante dans les « produits » de fausses couches (60 %) que parmi les « produits » d'interruption volontaire de grossesse (10 %). Ces travaux indiquaient également la prépondérance des trisomies, à l'exception de la trisomie 1 qui n'a jamais été mise en évidence. En effet, aucune monosomie, à l'exception de celle du chromosome X (syndrome de Turner), était retrouvée parmi les anomalies chromosomiques répertoriées, soulignant ainsi le caractère fortement délétère des monosomies qui généralement conduisent à des fausses couches ultraprécoces (avant la fin de la deuxième semaine de gestation).

Aujourd'hui, il est admis qu'un organisme ne peut vivre avec un déséquilibre de plus de 1 % de son génome en cas de monosomie et de 3 % en cas de trisomie. Ainsi, ces travaux ont conduit à estimer qu'environ 50 % des conceptus humains étaient porteurs d'anomalies chromosomiques, essentiellement issues d'erreurs de ségrégation chromosomique (non-

disjonction). A terme, cette fréquence n'est plus que de 0,6 % (**Gardner et Sutherland, 1996**). Les anomalies chromosomiques observées à la naissance ne sont donc que les rescapés d'une très forte sélection naturelle qui s'exerce pour la plus grande majorité sous forme d'avortements ultraprécoces non détectables cliniquement (**Vialard et al., 2008**)

L'origine parentale de ces non-disjonctions chromosomiques a pu être déterminée grâce à l'existence de nombreux polymorphismes génétiques. En analysant les chromosomes chez des enfants porteurs de trisomies 13, 18, 21 et leurs parents, ainsi que sur des foetus porteurs d'autres trisomies, plusieurs équipes ont pu démontrer la forte prévalence de l'origine maternelle de ces anomalies de nombre, qui surviennent essentiellement lors de la première division méiotique (MI). Ainsi, 93 % des trisomies 18, 95 % des trisomies 21 et 100 % des trisomies 16 sont d'origine maternelle (**Hassold et Hunt, 2001; Nicolaidis et Petersen, 1998**).

6.3.2 Facteurs génétiques de prédisposition aux atteintes ovariennes ou de la réponse ovarienne

Récemment, l'étude des polymorphismes génétiques a montré qu'il existait des facteurs de prédisposition pour certaines pathologies comme les ovaires polykystiques (**Kevenaar et al, 2008 ; Shah et al, 2008**) De même, l'existence éventuelle de polymorphismes ou de mutations génétiques concernant des facteurs impliqués dans l'ovogenèse, comme les cohésines, pourrait expliquer la corrélation : SPCS-âge maternel susceptibilité génétique aux aneuploïdies.

Les polymorphismes génétiques sont des variations dans une séquence que si elles concernent une région codante n'entraînent pas de disparition de la protéine. L'origine de ce polymorphisme est identique à celle des mutations, si on considère qu'un polymorphisme est une mutation non pathologique. Certains de ces polymorphismes sont associés à une variation de l'expression du gène. Cette variation peut être soit positive, soit négative, mais, en aucun cas, il ne peut y avoir une absence d'expression comme dans le cas des mutations ponctuelles. Le polymorphisme le plus connu est celui différenciant les métaboliseurs rapides et lents de l'alcool (**Ehrig et al, 1990**).

Au niveau ovarien, de nombreux polymorphismes commencent à être décrits comme étant impliqués dans les mécanismes de l'ovogenèse. Actuellement, le plus décrit est celui du récepteur à la FSH (**Simoni et al, 1999 ; Simoni et al, 2008**). Qui conduit au remplacement, en position 680 au niveau de la séquence protéique, d'une asparagine par une sérine. Ce

polymorphisme serait associé à une augmentation de la FSH basale (**Perez et al, 2000**), à une augmentation de la durée de la phase lutéale et donc de celle du cycle (**Greb et al, 2005**). De très nombreuses études sont en cours, mais il semble qu'il existerait une réponse ovarienne différente aux hyperstimulations par les gonadotrophines exogènes chez les individus homozygotes pour ce polymorphisme (**Behre et al, 2005**). Ainsi, une augmentation des doses de FSH recombinante permettrait de compenser la moins bonne réponse de ces patientes.

7. Contrôle du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire, tel qu'il a été décrit pour la première fois en 1953 par A. Howard et S.R. Pelc, comporte deux phases principales : l'interphase et la mitose. Au cours de la réplication de l'ADN et de la division cellulaire, de nombreuses erreurs de différents types peuvent survenir. Une division cellulaire défectueuse aurait des conséquences graves pour les cellules filles et pour tout l'organisme. Un système de contrôle élaboré s'est mis en place au cours de l'évolution : il peut détecter les erreurs, les éliminer ou abandonner les cellules défectueuses. Les mécanismes de contrôle du cycle cellulaire font intervenir des ensembles complexes de protéines ; celles-ci guident la cellule tout au long de son cycle, en assurant la régulation des événements cycliques séquentiels. Ceux-ci sont coordonnés par des signaux extracellulaires et permettent à la division cellulaire de s'effectuer au moment opportun (**Nurse, 2000**).

7.1 Systèmes de contrôle du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire des cellules eucaryotes est entraîné par des « moteurs » du cycle cellulaire, un ensemble de protéines agissant les unes sur les autres, les kinases cyclines-dépendantes (Cdk). La protéine cdc2 (appelée aussi Cdk I) est un membre important de cette famille protéique. D'autres protéines agissent comme facteurs limitant au cours de la progression du cycle cellulaire et sont capables d'induire un arrêt du cycle à différentes étapes (points de contrôle). La progression de la cellule à travers la phase G₁, est induite par des facteurs de croissance (mitogènes) ; ceux-ci agissent par l'intermédiaire de récepteurs qui transmettent des signaux d'entrée en phase S. Des cyclines de type D (D1, D2, D3) sont produites. Elles s'associent avec des Cdk (4 et 6) et les activent. D'autres protéines peuvent induire l'arrêt en G₁, La détection des dommages de l'ADN et l'arrêt consécutif du cycle

cellulaire, dus à la protéine p53 activée, représentent un mécanisme important empêchant la cellule d'entrer en phase S. Au début de la phase G, cdc2 est inactive. Elle est activée en fin de phase G, en association avec les cyclines G, comme la cycline E. Une fois que la cellule a passé le point de contrôle G, la cycline E est dégradée et la cellule entre en phase S. Cette entrée est initiée, entre autres, par la liaison de la cycline A à Cdk2 et la phosphorylation de la protéine RB (protéine du rétinoblastome). La cellule ne passe le point de contrôle de la mitose que si aucune altération de l'ADN n'est détectée. La protéine cdc2 (Cdk 1) est activée par association avec les cyclines mitotiques A et B pour former le facteur de promotion de la mitose (MPE mitosis promoting factor). Pendant la mitose, les cyclines A et B sont dégradées et un complexe promoteur de l'anaphase se forme. Quand la mitose est achevée, cdc2 est inactivée par l'inhibiteur de la phase S. En même temps, la protéine RB est déphosphorylée. Les cellules ne peuvent progresser vers le cycle cellulaire suivant que lorsque l'intégrité du génome a été vérifiée par les systèmes de rétrocontrôle (**Hartwell et Weinert, 1989**).

La consanguinité permet d'augmenter selon toute probabilité l'homozygotie de différents loci autant que la fréquence de caractères génétiques récessifs délétères menant à l'augmentation de l'incidence des malformations. Parce que la consanguinité accroît l'homozygotie de différents loci, l'apparition de rares caractères récessifs délétères peut devenir plus probable dans une population consanguine que dans une population non consanguine. Ceci dit le taux élevé de consanguinité peut perturber l'équilibre d'Hardy-Weinberg dans la population et augmenter les facteurs de risques cumulés chez les individus apparentés. Pour les maladies multifactorielles, la consanguinité peut contribuer à additionner des copies du gène prédisposant qui sont des facteurs participant à l'expression phénotypique de la maladie (Becker *et al*, 2001). La figure 7 nous donne un aperçu sur la variation du taux de consanguinité à travers le monde.

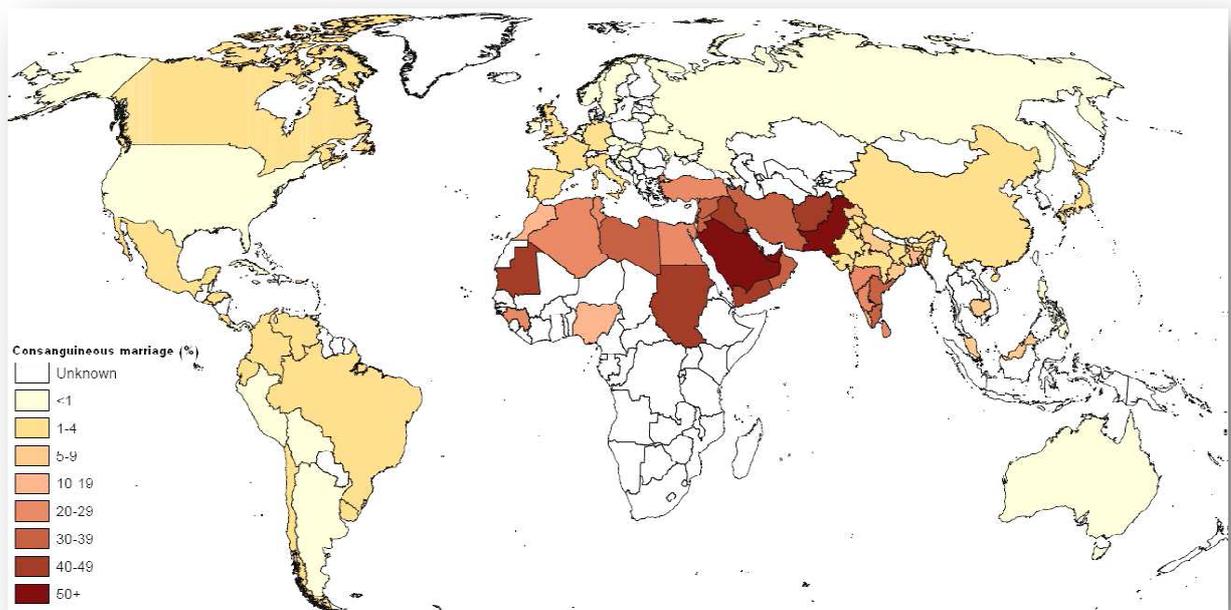


Figure 7: Consanguinité dans le monde (Bittles et Black, 2010).

8. Distribution des gènes dans une population

La génétique des populations est une étude scientifique de la composition génétique des populations. Un de ses objectifs principaux est d'estimer la fréquence des allèles sur différents loci dans les populations naturelles (fréquence des allèles, aussi appelée fréquence des gènes). On peut en tirer des informations sur les possibles facteurs de sélection qui pourraient expliquer ces différences. Une population peut être définie par la distribution de ses gènes, c'est-à-dire la fréquence des allèles aux différents loci (**Cavalli-Sforza et Menozzi, 1994**).

8.1 Principe d'équilibre de Hardy-Weinberg

Le principe d'équilibre de Hardy-Weinberg, énonce que, dans certaines circonstances, la fréquence des allèles restera constante d'une génération à l'autre. Ce principe a été formulé, indépendamment, par le mathématicien anglais G.F. Hardy et le médecin allemand W. Weinberg, en 1908. Il suppose que tout allèle responsable d'une maladie génétique grave, incompatible avec la reproduction, sera remplacé par une nouvelle mutation, à condition que le taux de mutations à ce locus demeure constant (**Cavalli-Sforza et Bodmer, 1971**).

8.2 Fréquence allélique constante

Un allèle autosomique récessif (nommé ici allèle a), qui provoque une maladie grave à l'état homozygote, reste le plus souvent indétectable à l'état hétérozygote, dans la population. Seuls les sujets homozygotes (aa) peuvent être reconnus en raison de leur maladie. La fréquence des sujets malades est déterminée par la fréquence de l'allèle a (q). Les fréquences des trois génotypes sont données par la formule binomiale $(p + q)^2 = 1$, où p représente la fréquence de l'allèle A et q celle de l'allèle a. A chaque génération, les allèles a éliminés en raison de la maladie des homozygotes aa sont remplacés par de nouvelles mutations. Un équilibre s'établit entre l'élimination des allèles due à la maladie et la fréquence de mutation.

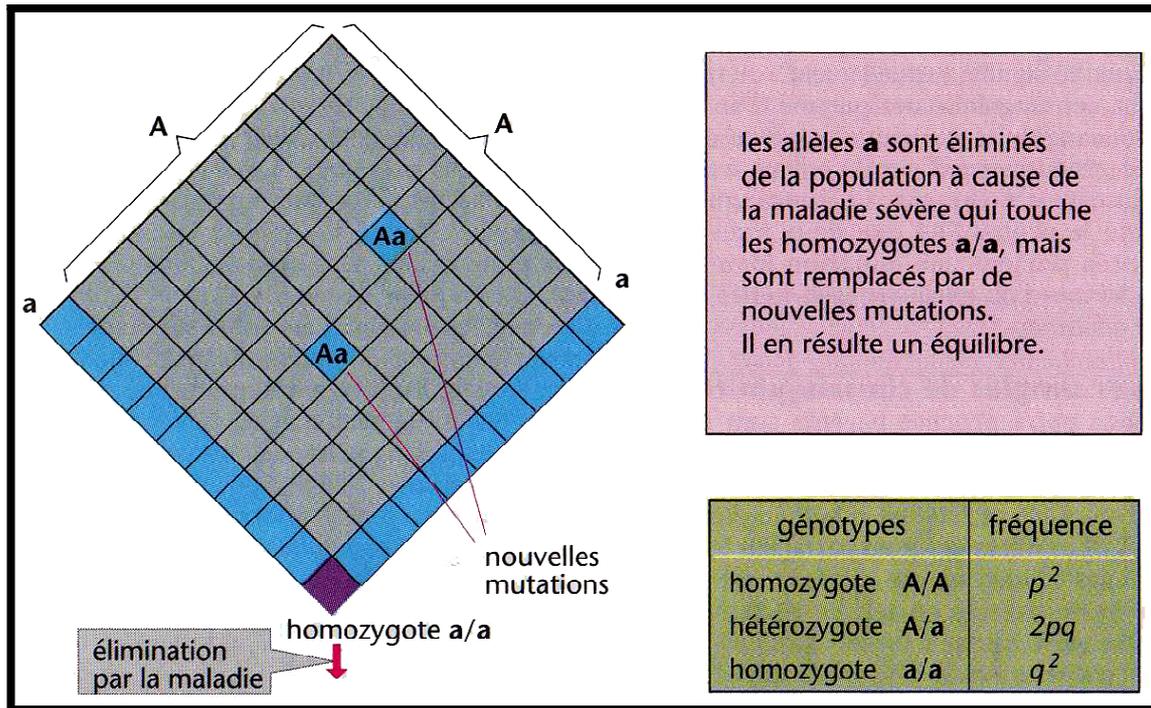


Figure 8 : Fréquence allélique constante (équilibre de Hardy-Weinberg) (Passarge, 2004).

8.3 Quelques facteurs influençant la fréquence allélique

Le principe d'équilibre de Hardy-Weinberg n'est valide que sous certaines conditions. Premièrement, il ne s'applique que s'il n'y a pas de sélection pour un génotype. La sélection des hétérozygotes augmentera la fréquence d'un allèle présentant un avantage sélectif. Deuxièmement, des croisements non aléatoires (croisements assortis) vont changer la fréquence allélique (proportion de p et q). Troisièmement, un changement dans le taux de mutations va augmenter la fréquence d'un allèle provenant des mutations. Quatrièmement, dans une petite population, des fluctuations aléatoires peuvent changer la fréquence allélique. C'est ce qu'on appelle la dérive génétique (Kimura et Ohta, 1971).

Il peut également y avoir d'autres causes de changement de la fréquence allélique. Si une population subit une importante réduction de taille, suivie par une augmentation du nombre des individus, un allèle qui était rare dans la population primitive peut, par hasard,

devenir relativement fréquent quand la population augmente à nouveau. C'est ce qu'on appelle un effet fondateur (**Erikson, 1980**).

Le déséquilibre de liaison (LD, linkage disequilibrium) est une distribution non aléatoire de certains allèles d'un haplotype (loci liés sur le même chromosome), entraînant une déviation par rapport à ce qui était attendu d'après leurs fréquences individuelles dans la population : en cas de LD, certains haplotypes sont plus fréquents, et d'autres moins fréquents que prévu. Le déséquilibre de liaison peut être dû à plusieurs facteurs, comme l'avantage sélectif d'un allèle. Dans d'autres cas, LD peut refléter le temps écoulé (nombre de générations) depuis la survenue d'une mutation dans une population (**Jorde, 2000**).

8.3.1 Endogamie

L'endogamie est une pratique rencontrée chez tous les peuples de la terre et qui consiste à choisir prioritairement et majoritairement son futur époux/sa future épouse à l'intérieur de l'aire géographique dont on fait partie (endogamie géographique), de la classe sociale à laquelle on appartient (endogamie sociale), du métier que l'on exerce (endogamie professionnelle), de la religion que l'on pratique (endogamie religieuse).

8.3.2 Consanguinité

On parle de consanguinité si les parents ont au moins un ancêtre commun (du même sang) dans les quatre dernières générations. La consanguinité augmente la probabilité qu'un allèle devienne homozygote chez un descendant. Comme ces deux allèles seront identiques, on parle d'identité par descendance. On retrouve donc souvent une consanguinité dans les maladies autosomiques récessives très rares. Bien que les mariages consanguins soient très répandus dans certaines populations, où ils peuvent représenter 25-40 %, le taux habituel est de 1-2 %. La consanguinité est rapportée fréquemment dans les populations endogames (**Griffith et al, 2000**).

La fréquence des mariages consanguins est très élevée aux émirats arabes unies et contribue à de nombreuses aberrations chez les enfants. Depuis les années 50 la communauté scientifique a remarqué l'augmentation des individus présentant un cancer dans les familles consanguines suggérant une relation causale. Inversement il y a une autre hypothèse qui stipule

que la pratique de la consanguinité à long terme peut réduire la fréquence de gènes délétères dans la population (**Abdulbari bener et al, 2001**).

Le degré de consanguinité peut être exprimé par deux mesures : le coefficient de parenté ou de relation (ϕ), et le coefficient d'endogamie (F). ϕ est la probabilité qu'un allèle A soit identique, par descendance commune, à un allèle B sur le même locus. Le coefficient d'endogamie exprime la probabilité que deux allèles soient homozygotes dans la descendance de parents consanguins. F pour un individu est identique à ϕ pour ses parents. Le coefficient de parenté (r) est la proportion d'allèles identiques par descendance chez deux individus quels qu'ils soient (**Bittles et Neel, 1994**).

8.3.2.1 Types de consanguinité

Une union entre frère et sœur ou père et fille est qualifiée d'incestueuse. Pour deux allèles provenant des deux parents, désignés ici A et B par la figure 9.a, la probabilité de transmission à deux descendants C et D est de 0,5 (1/2). Les descendants (C et D) partagent la moitié de leurs gènes, ce qui correspond à un coefficient de parenté de 1/2. Le risque d'homozygotie par descendance à un locus donné dans leur descendance est de 1/4 (probabilité 1/2 de C à E et de D à E) (**Jaber et al, 1998**).

Les cousins du premier degré (cousins germains) partagent 1/8 de leurs gènes, les cousins du deuxième degré, 1/32 (figure 9.b). Le risque d'homozygotie par descendance à un locus donné dans la descendance de cousins germains est de 1/16. Une union oncle-nièce a un coefficient de parenté $r = 1/4$ parce qu'ils partagent 1/4 de leurs gènes (Figure 9.c). La possibilité qu'un individu non apparenté E transmette un allèle mutant à ce locus peut habituellement être négligée (**Jaber et al, 1998**).

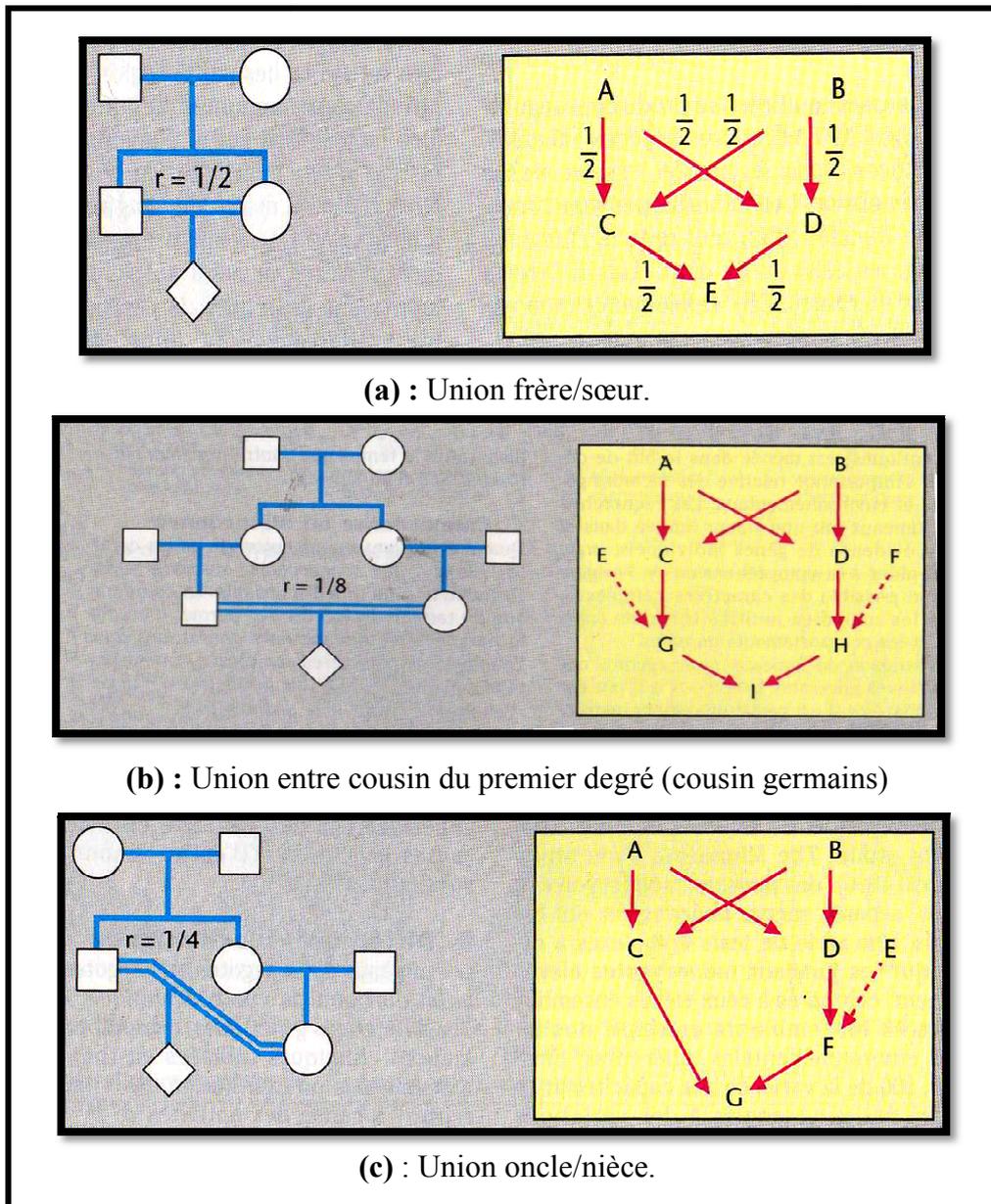


Figure 9 : Types de consanguinité. (Passarge, 2004)

8.3.2.2 Consanguinité et conseil génétique

La consanguinité est une cause fréquente de conseil génétique. Les enfants de cousins germains ont une probabilité d'homozygotie par descendance de $1/16$. Le risque qu'un allèle néfaste atteigne leur descendance à l'état homozygote est de $1/64$. Le risque total est de $1/32$ parce qu'on doit aussi tenir compte de l'autre ancêtre commun (les deux grands-parents). Bien qu'à première vue ce risque de 3,125 paraisse élevé, il ne l'est en fait pas, si on le compare au

risque de la population générale. Le risque global pour un nouveau-né d'être atteint d'une maladie, quelle qu'elle soit, est estimé à 1-2 % (**Turnpenny et Ellard, 1995**).

Matériels & Méthodes



II. Matériels et méthodes

1. Echantillonnage

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés aux maladies génétiques dues à des remaniements chromosomiques et plus particulièrement au syndrome de Down dans la population de patients dirigés vers le service de cytogénétique de la clinique d'ophtalmologie d'Oran.

Nous avons mené notre étude sur 2 échantillons : Dans le cas des deux échantillons les individus sont originaires pour la plus part du nord ouest Algérien (**voir Annexe II**)

- Le premier échantillon est constitué des patients qui se sont présentés durant le second semestre de l'année 2010 pour établir leurs caryotypes à partir de lymphocytes. Tous les individus présentent une anomalie génétique. Le nombre total d'individus est de 30 (voir tableau II).

Cet échantillon nous a permis de faire une analyse statistique afin d'évaluer les pourcentages des différentes anomalies et de définir celle qui semble prédominante.

- Concernant le deuxième échantillon, il est composé d'enfants atteints du syndrome de Down et de leurs ascendants directs, pour lesquels nous avons réalisé les caryotypes à partir de lymphocytes, afin de connaître l'anomalie chromosomique responsable. Le nombre total d'individus est de 36, ces derniers sont représentés dans le tableau III.

Cette étude porte sur une durée totale de 7 mois de janvier 2011 à juillet 2011.

Tableau II
Présentation de l'échantillon 1

N°	Age	Sexe	Maladie génétique suspectée
1	5 mois	Masculine	Trisomie 21
2	28 ans	Féminin	Avortement répétés
3	16 mois	Masculin	Trisomie 21
4	14 mois	Masculin	Trisomie 21
5	21 ans	Féminin	Aménorrhée I
6	44 ans	Masculin	Pour bilan
7	28 ans	Féminin	Pour bilan
8	33ans	Masculin	Pour bilan
9	10 ans	Masculin	Dysmorphie cranio-faciale + hectopie testiculaire
10	29 ans	Masculin	Pour bilan
11	2 mois	Masculin	Ambiguïté sexuelle stade V
12	34 ans	Masculin	Aménorrhée II
13	14 mois	Féminin	RSP/Dysmorphie cranio-faciale
14	23 ans	Féminin	Pour bilan
15	1 an	Masculin	Hypospadiase
16	2 ans	Masculin	Trisomie 21
17	18 mois	Féminin	Trisomie 21
18	2 mois	Féminin	Trisomie 21
19	4 ans	Masculin	IMC
20	2 ans	Masculin	Trisomie 21
21	3 mois	Masculin	Trisomie 21
22	11 ans	Féminin	RSP
23	5 ans	Féminin	Obésité + RPM
24	3 ans	Masculin	Trisomie 21
25	23 ans	Féminin	Avortements répétés
26	16 mois	Masculin	Syndrome polymalformatif
27	3 ans 6 mois	Masculin	Trisomie 21
28	1 mois	Masculin	Ambiguïté sexuelle
29	2 ans	Masculin	Ambiguïté sexuelle
30	19 ans	Féminin	Aménorrhée I + hypogonadisme

Tableau III
Présentation de l'échantillon 2

N°	Age	Sexe	Maladie génétique suspectée
1	38	Masculin	Hypogonadisme
2	27	Féminin	Ambiguïté sexuelle
3	6 mois	Masculin	Trisomie 21
4	6 mois	Masculin	Pour bilan
5	41	Féminin	Pour bilan
6	41	Masculin	Pour bilan
7	19 mois	Féminin	Trisomie 21
8	34	Féminin	Pour bilan
9	35	Masculin	Pour bilan
10	16	Masculin	Cri de chat
11	38	Féminin	Pour bilan
12	10 mois	Masculin	Trisomie 21
13	25	Féminin	Pour bilan
14	30	Masculin	Pour bilan
15	42	Masculin	Pour bilan
16	41	Féminin	Pour bilan
17	46	Masculin	Pour bilan
18	4 mois	Masculin	Trisomie 21
19	2	Masculin	Trisomie 21
20	42	Féminin	Pour bilan
21	43	Masculin	Pour bilan
22	1	Masculin	Trisomie 21
23	2,5	Féminin	Trisomie 21
24	41	Masculin	Pour bilan
25	43	Féminin	Pour bilan
26	3 mois	Masculin	Trisomie 21
27	N/née	Féminin	Ambiguïté sexuelle
28	43	Féminin	Pour bilan
29	57	Masculin	Pour bilan
30	16 mois	Masculin	Trisomie 21
31	47	Féminin	Pour bilan
32	9 mois	Féminin	Trisomie 21
33	5 mois	Féminin	Trisomie 21
34	11 mois	Masculin	Trisomie 21
35	5	Féminin	Turner (nanisme)
36	9 mois	Masculin	Trisomie 21

2. Etude cytogénétique

Cette étude a été réalisée par l'établissement des caryotypes standards. Tous les caryotypes ont été réalisés sur des lymphocytes. Pour cela plusieurs étapes ont été suivies :

2.1 Prélèvement du sang

Le prélèvement qui doit être réalisé dans des conditions de stérilité, consiste en une prise de sang veineux dans un tube contenant un anticoagulant (L'héparine de lithium). La quantité de sang minimale nécessaire est de 5 ml.

On doit vérifier l'aspect de l'échantillon, quantitativement et qualitativement. Un volume insuffisant ou un aspect laqué, dilué avec présence de caillots nous obligent à refaire un autre prélèvement. Dans certains cas particuliers comme les enfants âgés de moins de 2ans, Nous n'avons pu prélever que 2ml. Dans ces cas le sang total a été utilisé.

Dans le cas où l'échantillon ne peut être utilisé de manière immédiate. Il sera conservé à 4 ° C pendant 4 jours au maximum.

2.2 Collecte et culture des lymphocytes

Afin de collecter les lymphocytes nous avons procédé de la manière suivante :

- Les tubes de sang sont laissés à température ambiante pendant 30 à 80 min afin de séparer les globules rouges des globules blancs.
- Les globules rouges plus denses que les lymphocytes sédimentent dans la moitié inférieure du tube laissant au-dessus, une couche plasmatique enrichie en lymphocytes qui est recueillie et utilisée pour les mises en culture.
- Cette suspension cellulaire (0,5 ml) estensemencée dans 5 ml de milieu de culture RPMI 1640 sans L-glutamine (Eurobio) dans des flacons du type Falcon. Il s'agit d'un milieu de culture liquide fournit prêt à l'emploi.

Composition du milieu RPMI prêt à l'emploi

Nous avons testé le milieu sans et avec L-glutamine (avec les volumes 0,2 - 0,3 ml et 0,4 ml).

Ce milieu contient deux antibiotiques qui évitent la contamination par certains microorganismes.

- 50 µl de pénicilline (10000 UI/ml).
- 50 µl de streptomycine (10 mg/ml).

2.2.1 Composition du milieu de culture

La culture des lymphocytes est réalisée dans le milieu RPMI supplémenté de différents éléments remplissant chacun un rôle précis dans la culture des lymphocytes. Et la composition finale est :

- milieu RPMI prêt a l'emploi : 5 ml.
- sérum humain : 2 ml, permettant d'apporter des facteurs de croissance à la culture.
- PHA M: 100 µl (poudre lyophilisée à solubiliser avec de l'eau distillée stérile EURO BIO). Dans certains cas, nous avons augmenté le volume jusqu'à 300 et 400 µl. Ce produit est mitogène c'est-à-dire qu'il va favoriser l'entrée des cellules en divisions.
- héparine : 50 µl. Il s'agit d'un anticoagulant.
- le sang : 200 µl. Pour un enrichissement supplémentaire en facteurs de croissance.

La culture des lymphocytes est réalisée pendant 72 heures, c'est-à-dire l'équivalent de 3 mitoses, dans des flacons de type Falcon. Ces derniers sont maintenus inclinés dans une étuve à 37° C.

2.2.2 Conditions de culture

- L'incubateur pour les cultures cellulaires est réglé à 37° C.
- L'utilisation de la hotte à flux laminaire vertical afin de réaliser toutes les manipulations nécessaires à l'obtention du caryotype depuis la mise en culture des lymphocytes. En effet La manipulation de notre échantillon doit se dérouler dans des conditions de stérilité afin de préserver les cellules d'éventuels contaminants

2.3 Le caryotype standard

Le caryotype standard permet l'observation et la classification des chromosomes selon leur taille et la position du centromère après blocage des mitoses en métaphase.

La méthode d'obtention des chromosomes en métaphase comporte 6 étapes qui sont :

- Blocage des mitoses en métaphase.
- Choc hypotonique.
- Préfixation.
- Fixation.
- Étalement et coloration
- Observation et lecture des lames.

2.3.1 Arrêt des mitoses

La culture des lymphocytes est réalisée pendant 72 heures mais en deux étapes :

- Après 70 heures, les mitoses en métaphase ont été bloquées par ajout de 150 µl de colchicine. Puis nous avons homogénéisé les tubes en les retournant doucement plusieurs fois.
- Ensuite les tubes ont été remis à 37° C, pendant 2 heures en position inclinée pour que la colchicine puisse agir.

2.3.2 Choc hypotonique

Au bout de 2 heures c'est-à-dire après l'arrêt de la culture cellulaire, nous avons centrifugé à 1000 trs/min puis éliminé le surnageant.

Un même volume de Kcl (à 5,6 g/l) a été rajouté au culot cellulaire, pour réaliser le choc hypotonique, ensuite nous avons mélangé par des agitations tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, puis vigoureusement.

La turgescence des cellules nous permettra d'observer au final des métaphases où les chromosomes seront bien séparés ce qui facilitera l'analyse des métaphases observées.

- Les tubes sont remis à l'étuve à 37° C pendant 20 minutes en position inclinée.

2.3.3 Préfixation

Il s'agit d'une étape de préparation des lymphocytes à la fixation définitive.

- On prépare la solution de fixation qui est un mélange de méthanol et d'acide acétique, dite carnoy acétique, dans les proportions 3 V de méthanol et 1 V d'acide acétique.
- 100 µl de carnoy acétique sont ajoutés à chaque échantillon.
- On centrifuge à 1000 tours/minute pendant 5 minutes.
- On garde le culot.

2.3.4 Fixation

- La 1ère fixation se fait en ajoutant 5 ml de la solution de fixation puis on mélange, tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot. On laisse pendant 20 minutes à l'air libre. On centrifuge à 1000 tours / minutes pendant 5 minutes et on élimine le surnageant.

Cette opération de fixation peut être réalisée deux ou plusieurs fois.

- On centrifuge à 1000 tours /minute pendant 5 minutes et on retire le surnageant avec une pipette en gardant 0,5 à 1 ml : un volume proportionnel à la quantité du culot cellulaire. Ce paramètre aura son importance par la suite sur la détermination de la densité des lames en noyaux.

2.3.5 Etalement et coloration

- On mélange jusqu'à remise en suspension des cellules dans le surnageant.
- Avant l'étalement, on doit apprécier la bonne marche de la manipulation jusqu'ici par une première observation au microscope optique.
- Pour cela on dépose 5 gouttes séparées de la préparation sur chaque lame. Les lames sont séchées pendant 5 min à l'air libre ou par passages rapides et successifs sur un bec bunsen.
- On colore au Giemsa dilué au 1/10, le colorant est déposé sur la lame jusqu'à couvrir toute sa surface.

- On laisse le colorant agir pendant 20 minutes et on rince ensuite les lames à l'eau du robinet.

On peut conserver le reste de l'échantillon dans le réfrigérateur, dans la solution de carnoy acétique.

2.3.6 Observation et lecture des lames

- La lecture des résultats a été réalisée grâce à un microscope optique équipé d'un système d'acquisition d'image, relié à un ordinateur muni d'un système de traitement d'image (logiciel MOTIC Images plus 2.0).

- Sous microscope, on voit les chromosomes en métaphase et on essaye de repérer les mitoses avec des chromosomes bien visibles, structurés et individualisés. Dans le cas contraire, il faut tout recommencer (à partir du même prélèvement (le sang) ou d'un autre si celui-ci a été fait plus de 3 jours auparavant).

- Après analyse de notre échantillon de métaphases, l'étalement a été réalisé.

Par mesure de précaution, on a réalisé pour chaque prélèvement 2 cultures et pour chaque culture traitée avec succès on utilise 6 lames au minimum.

Les lames sont marquées avec un crayon diamant.

Les lames sont rincées et mises à l'air libre pour l'étape de vieillissement. Enfin on les dépose dans une boîte hermétiquement fermée.

2.3.7 Lecture des résultats :

D'abord on utilise l'agrandissement x10, pour localiser les mitoses, ensuite on utilise l'objectif (x100).

Pour chaque patient, on fait la lecture de 10 métaphases, face à un problème de **mosaïsisme**, on doit continuer jusqu'à 20 à 50 métaphases.

Résultats & discussion



III. Résultats et discussion

Nous avons mené notre étude en deux temps et sur 2 échantillons. Le premier échantillon nous a permis de déterminer la maladie génétique la plus répandue dans la population algérienne avec et sans lien de parenté et le deuxième échantillon a été étudié afin de déterminer l'anomalie la plus fréquente dans l'apparition du syndrome de Down dans le cas de parents avec un lien de parenté (Figure 10).

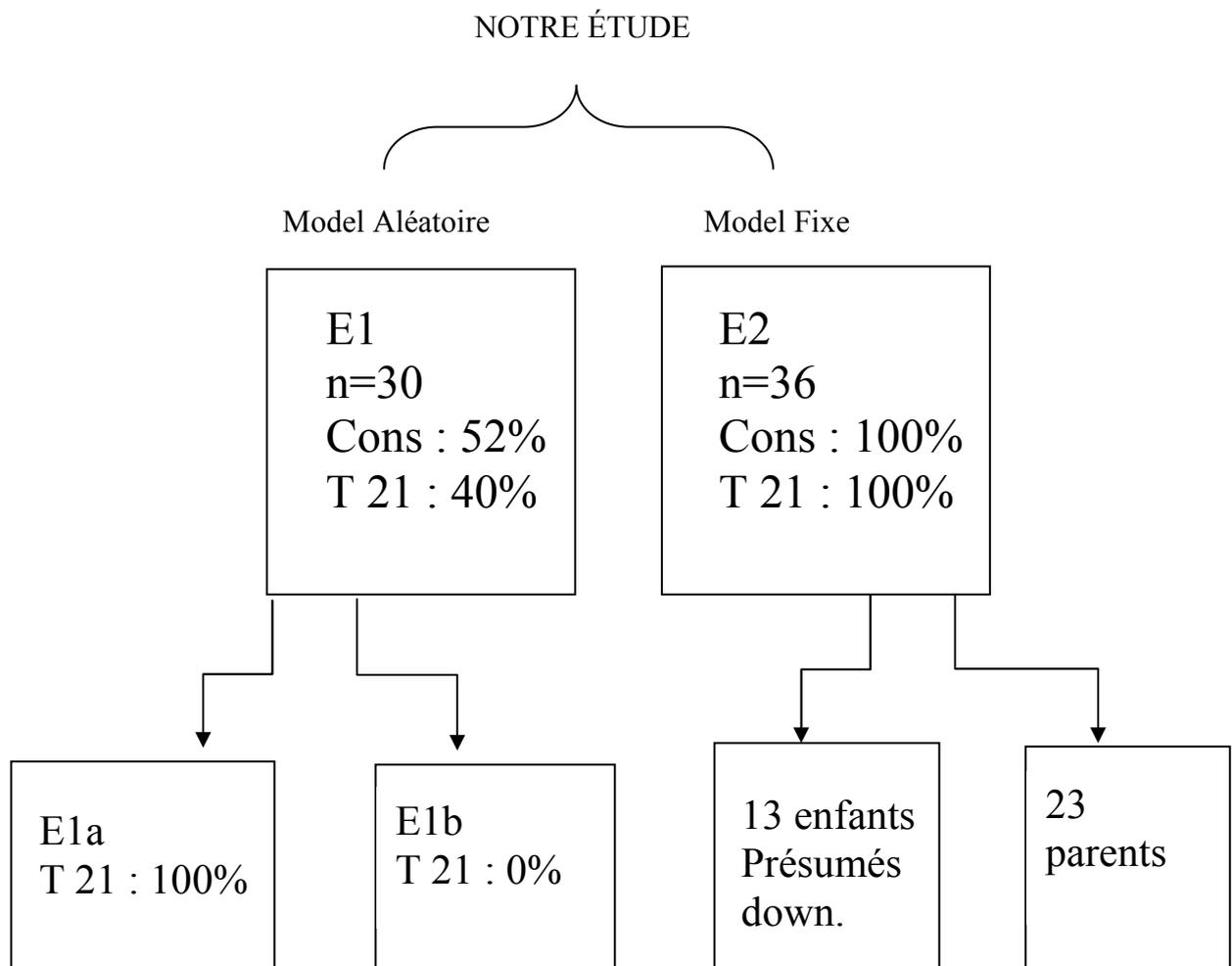


Figure 10 : Répartition de nos échantillons selon notre étude.

1. Etude du premier échantillon

Le premier échantillon (E1) comprend 30 patients (voir tableau IV) qui se sont présentés pour établir leurs caryotypes. Tous les individus présentent une anomalie génétique. Ils viennent de différentes localités du territoire national mais plus particulièrement du nord ouest.

La trisomie 21 représente l'aberration chromosomique la plus fréquente et de plus, elle est la principale cause d'arriération mentale (**Fattorusso et Ritter, 1986**). Cette affection congénitale modifie non seulement le génotype et le phénotype de tout individu atteint, mais influence par surcroît la vie et la qualité de vie de celui-ci.

D'après cet échantillon (E1) nous remarquons bien que la consultation pour l'établissement du caryotype touche plus spécifiquement les individus atteints de certaines malformations congénitales ou de l'absence du développement de caractères sexuels secondaires comme l'absence des règles chez les filles ou face à un problème de stérilité.

Dans tous ces cas les parents sont en demande d'un diagnostic au vue de l'inquiétude que suscitent les anomalies apparues chez leur progéniture. La demande vient assez souvent aux premiers mois de la vie du nouveau né dont le phénotype est très révélateur.

Nous observons aussi que c'est le syndrome de Down qui est le plus répandu dans notre échantillon ce qui est conforme a la littérature (voir figure 11).

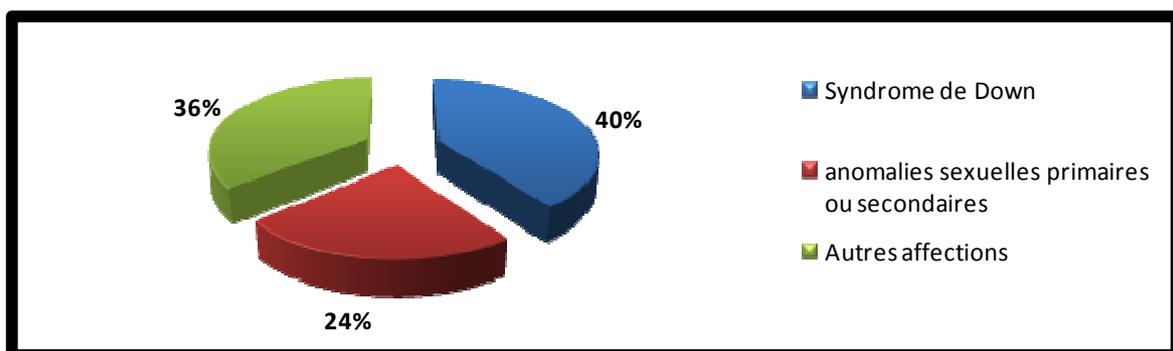


Figure 11 : Taux des différentes affections.

Tableau IV
Présentation de l'échantillon 1

N°	Age	Sexe	maladie génétique suspectée	Résultats
1	5 mois	Masculine	Trisomie 21	47, XY +21
2	28 ans	Féminin	Avortement répétés	46, XX
3	16 mois	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
4	14 mois	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
5	21 ans	Féminin	Aménorrhée I	46, X marqueur
6	44 ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
7	28 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
8	33ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
9	10 ans	Masculin	Dysmorphie cranio-faciale + hectopie testiculaire	46, XY
10	29 ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
11	2 mois	Masculin	Ambiguïté sexuelle stade V	46, XY
12	34 ans	Féminin	Aménorrhée II	46, XX
13	14 mois	Féminin	RSP/Dysmorphie cranio-faciale	45,X0
14	23 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
15	1 an	Masculin	Hypospadiase	46, XY
16	2 ans	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
17	18 mois	Féminin	Trisomie 21	47, XX +21
18	2 mois	Féminin	Trisomie 21	47, XX +21
19	4 ans	Masculin	IMC	46, XY
20	2 ans	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
21	3 mois	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
22	11 ans	Féminin	RSP	46, XX
23	5 ans	Masculin	Obésité + RPM	46, XY
24	3 ans	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
25	23 ans	Féminin	Avortements répétés	46, XX
26	16 mois	Masculin	Syndrome polymalformatif	46, XY
27	3.5 ans	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
28	1 mois	Masculin	Ambiguïté sexuelle	46, XY
29	2 ans	Masculin	Ambiguïté sexuelle	ND*
30	19 ans	Féminin	Aménorrhée I + hypogonadisme	ND*

ND* : non déterminé

Le taux élevé des individus atteints du syndrome de Down est du au fait qu'il s'agit d'une maladie facilement identifiable et le test cytogénétique est demandé pour une confirmation du diagnostic en d'autres termes tous les individus atteints de ce syndrome sont identifiés à l'inverse d'autres maladies génétiques. Mais ce taux est aussi du au fait qu'il s'agit de l'affection aneuploïde la plus répandues en raison de sa compatibilité avec la survie jusqu'au terme en effet elle affecte une naissance vivante sur 800 à 1000 (Jorde *et al.*, 2004).

Le taux élevé, des individus atteints du syndrome de Down, nous a conduit à nous intéresser plus précisément à ce syndrome afin de définir les causes de son apparition élevée dans la population. Nous savons que ce syndrome est du à la présence de trois chromosomes 21, de trois bras longs seulement ou de trois copies du tiers du bras long de ce même chromosome et plus précisément la région qui s'étend de q22.1-qter ce qui représente 225 gènes au total. Cinq gènes, sans doute associés au phénotype de la trisomie 21, ont été localisés dans une petite région du bras long (q) du chromosome 21 (Patterson, 1994), Ces gènes sont présentés dans la figure 12.

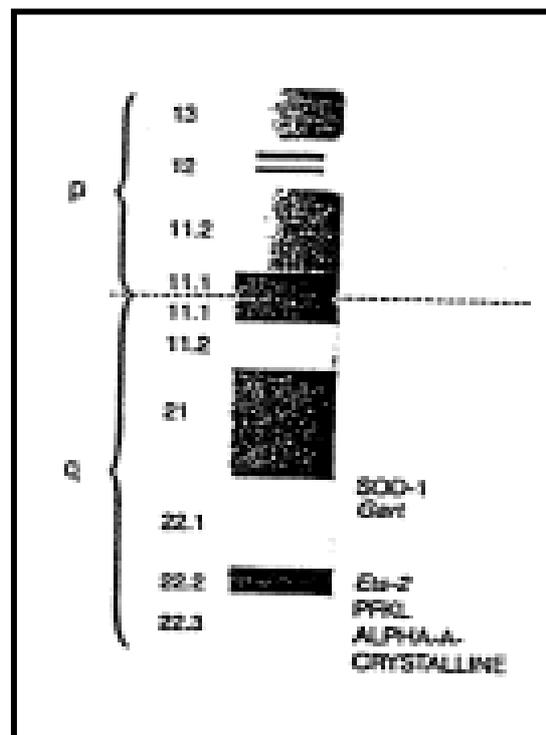


Figure 12 : Gènes associés au phénotype de la trisomie 21 (Patterson, 1994).

Nous savons aussi, que l'anomalie génétique, peut être due à la non disjonction des chromosomes 21, lors de la formation des gamètes, dans 92,5% des cas ou à la présence de chromosomes transloqués chez les parents dans 4,8% des cas (**Giraud et Mattei, 1975**)

1.1. Etude de consanguinité

Notre 1^{er} échantillon présente un taux de consanguinité relativement élevé de 52% voir figure 13. Cette élévation du taux de consanguinité dans notre échantillon est interprétée par la concentration des consultants dirigés vers un unique laboratoire de cytogénétique pour tout l'ouest algérien.

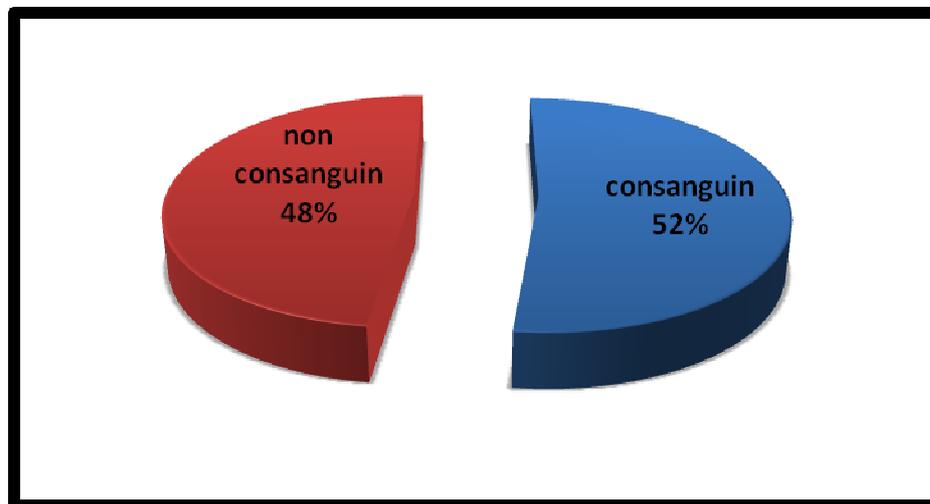


Figure 13 : Taux de consanguinité.

Nous nous sommes aussi posés la question si le taux élevé de ce syndrome n'était pas du en partie au taux de consanguinité élevé dans les populations algériennes. Pour cela nous avons mené l'étude sur l'échantillon 2.

A l'intérieur de notre 1^{er} échantillon nous avons pris le sous-échantillon constitué seulement de trisomiques 21. On a remarqué aussi qu'il y avait un taux de consanguinité de 30%, partagé entre 1^{er} degré dans 67% des cas et 2^{ème} degré dans 33% des cas voir figure 14.

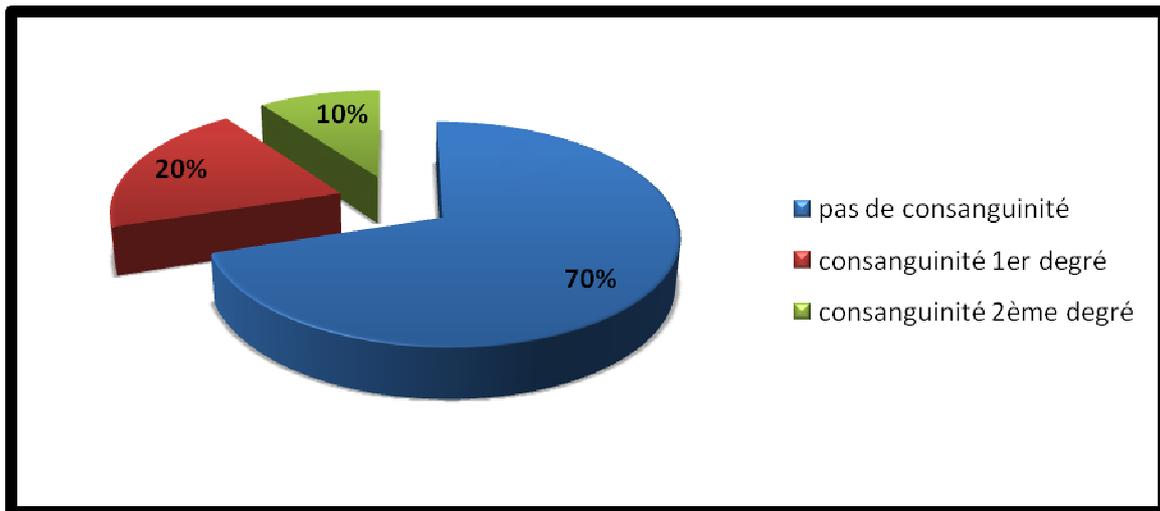


Figure 14 : Taux de consanguinité.

La moyenne de consanguinité en Algérie est de 38,80% selon la Fondation nationale pour la promotion de la santé et le développement de la recherche (FOREM). Selon les résultats de cette enquête, première du genre en Algérie, le taux de consanguinité varie d'une wilaya (département) à une autre.

Si le taux de consanguinité en Algérie est plus élevé que celui du Maroc, pays voisin, qui est de 19,87%, il est cependant moins important par rapport à plusieurs pays arabes, dont le Bahrein (39,40%), l'Arabie saoudite (50%), le Koweït (54%) et la Jordanie (55%).

Pour certains spécialistes, les malformations, les maladies génétiques ou les arriérations mentales seraient légèrement plus fréquentes chez les enfants issus d'une union consanguine et le risque de fausses couches serait augmenté. La FOREM a tenté à travers cette enquête réalisée dans 21 communes réparties sur 12 wilayas du pays :

- 3 wilayas du Sud (El Oued, Biskra et Ghardaïa),
- 4 du Centre (Alger, Boumerdès, Bouira et Béjaïa),
- 3 de l'Est (Bordj Bou Arréridj, Tébessa et Annaba)
- 2 de l'Ouest (Oran et Aïn Defla)

de montrer l'ampleur de ce phénomène. Elle s'est déroulée dans les PMI où a été opéré le captage des 2600 mamans à la faveur des visites de vaccination.

Les résultats de l'enquête ont ainsi révélé que le taux de consanguinité à l'échelle nationale est de 38,30%. « Ce taux varie selon les wilayas et donc les communes choisies », le taux le plus élevé a été retrouvé dans la commune de Bir El Ater, dans la wilaya de Tébessa, avec 88%. Elle sera suivie par la wilaya de Ghardaïa avec un taux de 56%, Aïn Defla avec 52%, Béjaïa avec 50,6%, Bouira 42,5%, Boumerdès 42%, Biskra 34%, Annaba 32,5%, Bordj Bou Arréridj 27% et El Oued 22,5%. La wilaya d'Alger est considérée au-dessous de la moyenne avec un taux de consanguinité de 29,25% alors que le taux le plus bas est retrouvé à Oran, 18,5%. S'agissant de la consanguinité du deuxième degré, qui est la plus marquée dans certaines wilayas, elle est plus importante à Boumerdès, Aïn Defla et Bordj Bou Arréridj avec des taux respectivement de 85,71%, 76,3% et 75,92%. Elle est de bas niveau dans la wilaya d'Oran avec 18,91%.

Concernant les anomalies congénitales observées à la naissance, les enquêteurs de la FOREM ont recensé une série de malformations et de maladies. Il s'agit entre autres du bec de lièvre, la maladie du Duchenne, les cardiopathies, l'agénésie des membres, la trisomie 21 et les mucoviscidoses. Ces anomalies sont très fréquentes avec des taux très élevés (6,52%) soit presque deux à trois fois les taux admis qui sont de 2 à 3%.

Dans notre 1^{er} échantillon, nous avons pris en considération l'âge maternel lors de la naissance de l'enfant atteint, ce qui nous a conduit vers les observations suivantes : 44% des femmes qui ont eu un enfant atteint d'une maladie génétique étaient âgées de moins de 35 ans (figure 15). Cette observation nous permet de conclure que l'âge maternel avancé n'influence pas d'une manière forte la survenue de tous les types de maladies génétiques. En effet la littérature cite que c'est surtout les anomalies génétiques du type trisomie qui sont étroitement liées à l'âge avancé de la mère (**Robert et al., 1977 ; Gelehrter et Collins, 1992 ; Jorde et al., 2004**).

L'âge de 35 ans chez les femmes est considéré comme critique par toute la littérature étant donné que le taux des maladies génétiques est en constante augmentation à partir de cet âge (**Jorde et al., 2004**). Pour cela nous avons choisi de séparer l'échantillon en deux sous groupes avec les moins de 35 ans et les plus de 35 ans.

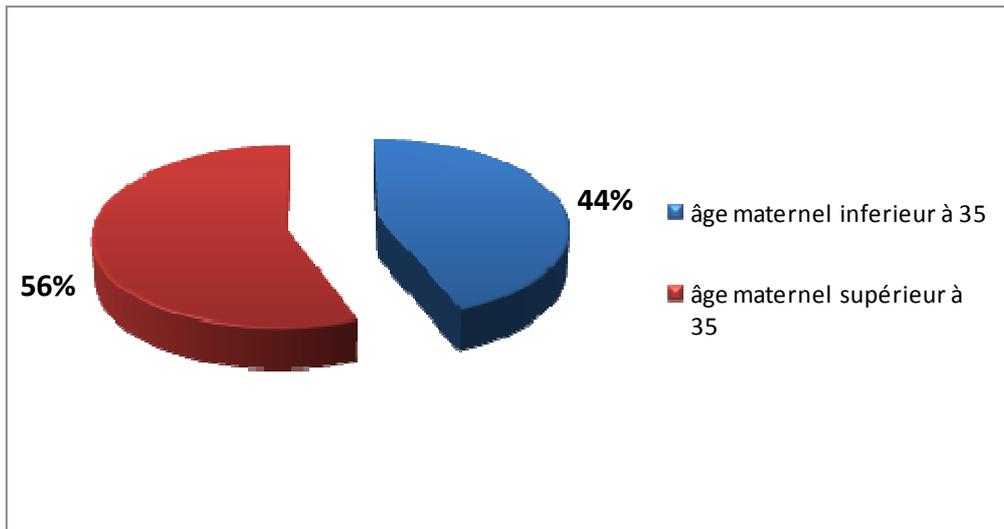


Figure 15 : distribution de l'âge maternel dans l'échantillon 1.

Par contre on a aussi remarqué que les femmes âgées de moins de 35 appartiennent à l'échantillon dont le taux de consanguinité est de 73%, contrairement aux femmes qui étaient âgées de plus de 35 ans et qui présentent des liens de parenté avec leurs conjoints à un taux de 27% (figure 16).

Ce résultat nous permet de dire que le taux de consanguinité influence d'avantage le sous-échantillon des femmes à moins de 35 ans, par contre le sous échantillon des femmes de plus de 35 ans est influencé par d'autres facteurs comme la qualité des ovules et plus précisément l'âge de ces derniers.

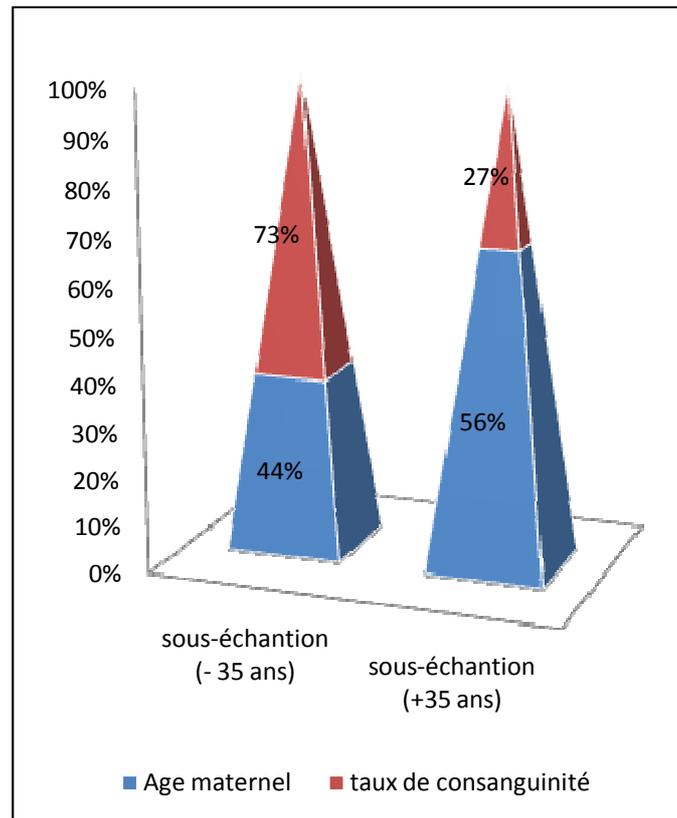


Figure 16 : Taux de consanguinité en fonction des tranches d'âge.

1.2. L'âge maternel en question :

Notre échantillon E1 qui présente un taux de consanguinité d'environ 50% peut être subdivisé en 2 sous-échantillons. L'un présente 100% de consanguinité renfermant des femmes ayant un enfant atteint d'une maladie génétique. Et l'autre présentant 0% de consanguinité renfermant des femmes possédant un enfant atteint.

L'âge moyen dans E1 est de 34,44 ans, cette moyenne diffère relativement du groupe des femmes avec consanguinité et s'éloigne de manière non significative statistiquement (après le calcul de Student $T_{Obs} = 0.27$ alors la différence est non significative) du groupe des femmes sans consanguinité qui ont une moyenne d'âge de 36,25 voir figure 17. Alors que le calcul de l'écart-type entre ces deux sous-échantillons montre qu'ils ont presque la même distribution autour de la moyenne (**Voir annexe III**)

D'après cette comparaisons des âges maternels ont a remarqué que la présence de la consanguinité influence l'âge moyen des femmes autrement dit, la consanguinité réduit l'âge auquel une femme peut avoir des enfants atteint d'une maladie génétique mais d'une manière non significative. L'augmentation de notre échantillon pourra trancher sur cette influence de la consanguinité sur l'âge maternel moyen d'avoir des enfants atteints de maladies génétiques.

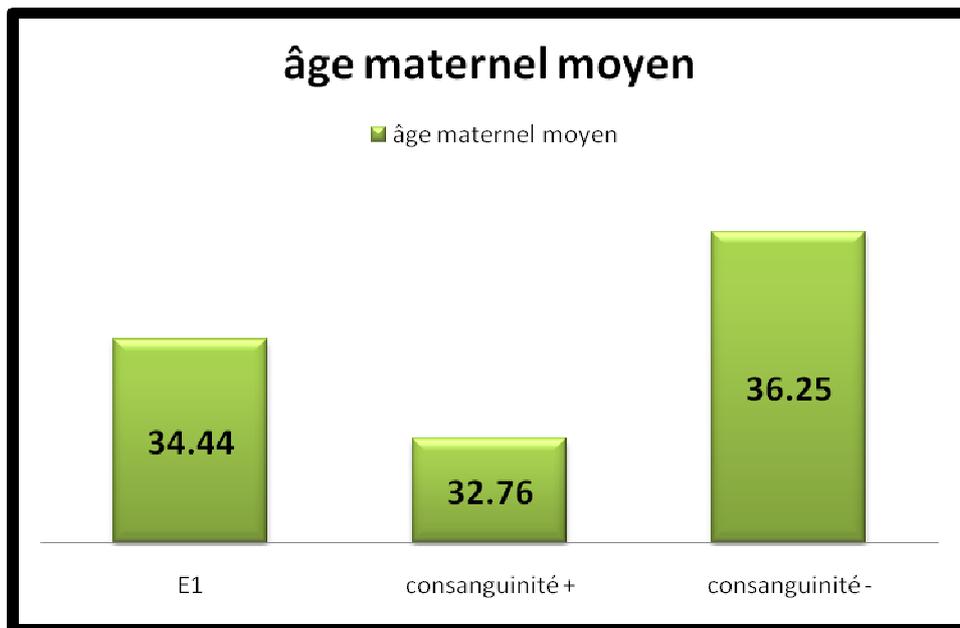


Figure 17 : comparaison des âges maternels moyens.

Dans une population où le taux de consanguinité, est presque nul (exemple d'une population caucasienne), le risque de voir naître un enfant trisomique 21 augmente de façon exponentielle avec l'âge maternel. Il est de 1 sur 2000 à 20 ans; il augmente peu jusqu'à 30 ans; il est de 1 sur 300 à 35 ans; de 1 sur 100 entre 40 et 45 ans; il atteint 1 sur 50 après 45 ans (Penrose, 1933; Lilienfeld *et* Benesch, 1969; Mikkelsen, 1972)

Les facteurs de risques associés à l'âge maternel de même que la fréquence (%) des cas de syndrome de Down par rapport à d'autres anomalies chromosomiques peuvent être consultés dans l'annexe IV (Hook, 1981).

Après étude cytogénétique des ovocytes humains selon Pellestor (1990), il s'avère que le pourcentage global d'anomalies chromosomiques, chromosomes surnuméraires ou sous-numéraires s'élève à 24%, soit beaucoup plus qu'au niveau des spermatozoïdes. Un rôle

majeur a été attribué au sexe féminin dans la genèse des anomalies chromosomiques de l'œuf fécondé. Les données les plus significatives, concernant la trisomie 21 dans la littérature, sont liées à l'effet maternel, en effet chez 80% des sujets atteints, le chromosome surnuméraire provient de la mère.

La spermatogenèse diffère de l'ovogenèse par le renouvellement constant des spermatozoïdes, contrairement aux ovocytes stagnant dans l'ovaire dès le stade de l'enfance, ce qui peut engendrer un ovocyte vieillissant vers la fin de l'âge fertile. L'hypothèse formulée est basée sur le fait que l'ovogenèse débute par une très longue prophase méiotique et que les ovocytes produits à la fin de la vie fertile comportent une proportion plus élevée d'anomalies chromosomiques.

Une deuxième hypothèse suggère que l'âge maternel n'influe pas tant sur le processus de ségrégation chromosomique que sur la nidation et la survie « *in utero* » des fœtus aneuploïdes. Par conséquent, la corrélation observée entre le vieillissement maternel et l'aneuploïdie résulterait d'une diminution de l'efficacité du mécanisme de sélection intra-utérin à l'égard des conceptus anormaux. La signification de cette hypothèse est que dans le phénomène de la sélection naturelle, la plupart des malformations congénitales sont automatiquement éliminées dans un produit d'avortât. Cependant, les mères plus âgées mènent à terme les enfants trisomiques 21 car elles posséderaient un processus diminué d'élimination naturelle d'enfants anormaux (**Serre *et al*, 1983**).

On peut aussi aborder un autre point de vue de notre échantillon E1, cela concerne la comparaison du taux de consanguinité entre les familles n'ayant que la trisomie 21 comme maladie génétique (E1.a) et les familles avec toutes les maladies génétiques sauf la trisomie 21(E1.b) (**voir diagramme : Annexe II**)

Cela nous a menés à faire les remarques suivantes :

Dans notre échantillon E1 la répartition de la consanguinité entre E1.a et E1.b relève de l'inégalité, mais aussi renforce notre conclusion précédente qu'une consanguinité élevée réduit l'âge moyen des femmes ayant des enfants atteints (voir figure 18). Ces observations rejoignent l'hypothèse qui stipule qu'il existe très probablement un gène qui favorise la non-disjonction des chromosomes. Ce même type de gènes a déjà été observé chez d'autres organismes comme le maïs (**Robert *et al*, 1977**).

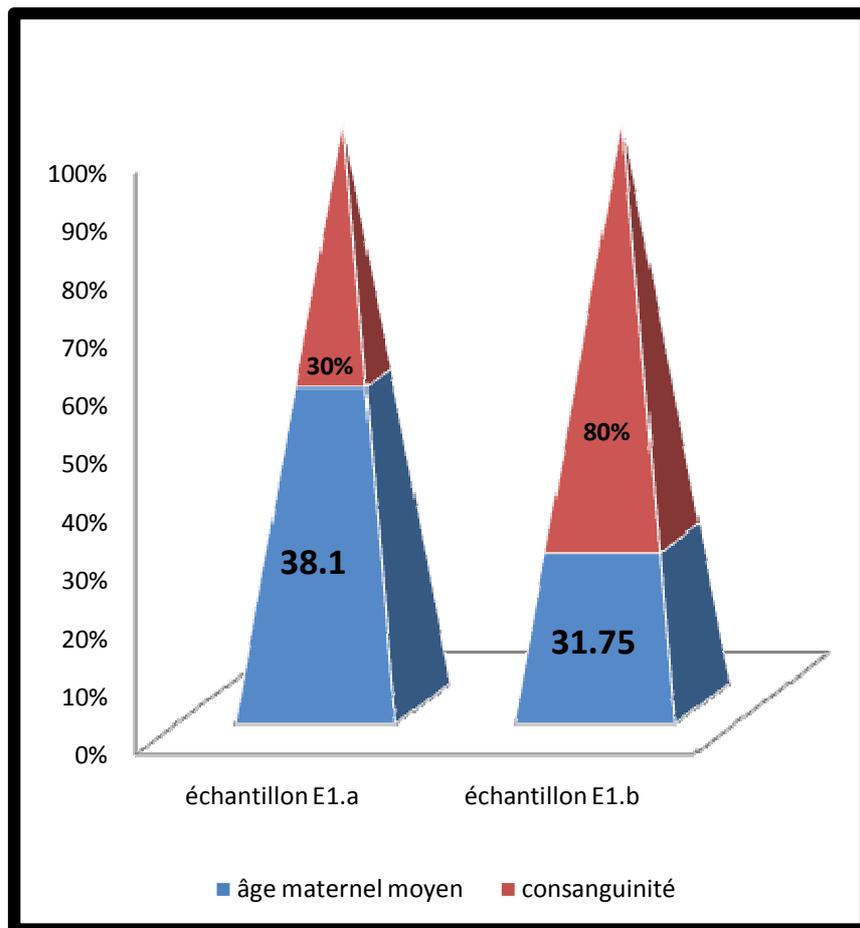


Figure 18 : relation entre l'âge maternel moyen et la consanguinité.

Nous pouvons interpréter ces résultats aussi sous un autre angle qui peut être une réalité dans notre population Algérienne beaucoup plus qu'un fait scientifique. Ainsi Au lendemain de l'indépendance, l'Algérie a enregistré un taux de fécondité maximum, notamment au début des années soixante-dix. Une proportion expliquée par l'abaissement de l'âge au mariage qui était estimé à moins de 19 ans. A la fin des années soixante-dix, où le gouvernement s'est engagé dans une politique de limitation des naissances, la fécondité algérienne a connue une chute très importante, causée dans les deux tiers par la réduction de la nuptialité.

Aujourd'hui, les femmes algériennes restent en moyenne célibataires 11 ans de plus qu'il y a quarante ans : après la baisse observée entre 1966 et 1970, l'âge moyen au premier

mariage n'a cessé d'augmenter pour atteindre 29,9 ans en 2006 contre 18,3 ans en 1966 et ce, selon les résultats d'une étude réalisée par le ministère de la Santé avec l'appui de l'Unicef.

Cette étude, qui a exposé le calendrier actuel de la nuptialité en Algérie, a aussi estimé à 33,5 ans l'âge moyen au premier mariage pour les hommes. Par ailleurs, cette enquête a mis en relief la relation entre l'âge du premier mariage et le niveau d'instruction. Plus la personne est instruite, plus l'âge de l'union est retardé et ce quel que soit le sexe.

Pour ce qui des femmes ayant un niveau d'instruction supérieur, l'âge moyen au premier mariage a atteint les 33,1 ans, un délai jugé un peu tardif comparé à celui des femmes sans instruction qui se marient généralement à 28,7 ans. Parallèlement, l'Algérie estime actuellement le taux de fécondité à 2,29 enfants par femmes et un âge moyen de maternité de plus de 31 ans.

2 Etude du deuxième échantillon

Deuxième échantillon (E2), il comprend 36 personnes atteintes du syndrome de Down et de leurs parents. Dans cet échantillon tous les enfants sont issus de mariages consanguins (voir tableau V)

Pour ce deuxième échantillon, nous avons-nous même réalisé les caryotypes au sein du service de cytogénétique de la clinique d'ophtalmologie d'Oran.

Nous observons dans l'échantillon 2 que l'anomalie en cause du syndrome de Down est toujours la trisomie 21 libre cette même remarque peut être faite pour le premier échantillon qui ne présente que la trisomie 21 libre dans le cas des individus atteints du syndrome de Down. Ces résultats rejoignent la bibliographie qui décrit que la majorité des trisomies 21 sont des trisomies libres pouvant être considérées comme des accidents isolés. Une trisomie 21 libre est présente dans 92,5 % des cas. Elle résulte d'une non-disjonction survenant lors de la première division méiotique (métaphase 1) ou de la seconde division méiotique (métaphase 2) maternelle ou paternelle (**Giraud et Mattei, 1975**). Des auteurs ont démontré que 40 % des non-disjonctions sont d'origine paternelle (**Bott et al., 1975; Hara et al., 1975**).

Tableau V
Présentation de l'échantillon 2

N°	Age	Sexe	maladie génétique suspectée	Résultats
1	38 ans	Masculin	Hypogonadisme	47, XXY
2	27 ans	Féminin	Ambiguïté sexuelle	46, XX
3	6 mois	Masculin	Trisomie 21	ND*
4	6 mois	Masculin	Pour bilan	ND*
5	41 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
6	41 ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
7	19 mois	Féminin	Trisomie 21	ND*
8	34 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
9	35 ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
10	16 ans	Masculin	Cri de chat	ND*
11	38 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
12	10 mois	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
13	25 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
14	30 ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
15	42 ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
16	41 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
17	46 ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
18	4 mois	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
19	2 ans	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
20	42 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
21	43 ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
22	1 an	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
23	2,5 ans	Féminin	Trisomie 21	ND*
24	41 ans	Masculin	Pour bilan	46, XY
25	43 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
26	3 mois	Masculin	Trisomie 21	47, XY +21
27	N/née	Féminin	Ambiguïté sexuelle	ND*
28	43 ans	Féminin	Pour bilan	ND*
29	57 ans	Masculin	Pour bilan	ND*
30	16 mois	Masculin	Trisomie 21	ND*
31	47 ans	Féminin	Pour bilan	46, XX
32	9 mois	Féminin	Trisomie 21	47, XX +21
33	5 mois	Féminin	Trisomie 21	ND*
34	11 mois	Masculin	Trisomie 21	ND*
35	5 ans	Féminin	Turner (nanisme)	ND*
36	9 mois	Masculin	Trisomie 21	ND*

ND* : Non Déterminé

C'est Bridges en 1916 qui a fait la découverte de la non-disjonction. Plusieurs facteurs peuvent influencer ce phénomène : facteurs environnementaux, virus, radiations, produits chimiques ainsi que des facteurs génétiques (Alfi *et al.*, 1980; Roberts *et al.*, 1991). L'hypothèse de la génétique formulée par ces auteurs serait l'existence d'un gène qui influencerait la non-disjonction dans l'œuf fertilisé chez les homozygotes issus d'une union consanguine. Cependant d'autres chercheurs rejettent cette hypothèse (Basaran *et al.*, 1992; Martinez-Frias, 1993).

La figure 19 visualise le phénomène de non-disjonction dans les métaphases 1 et 2 de la méiose.

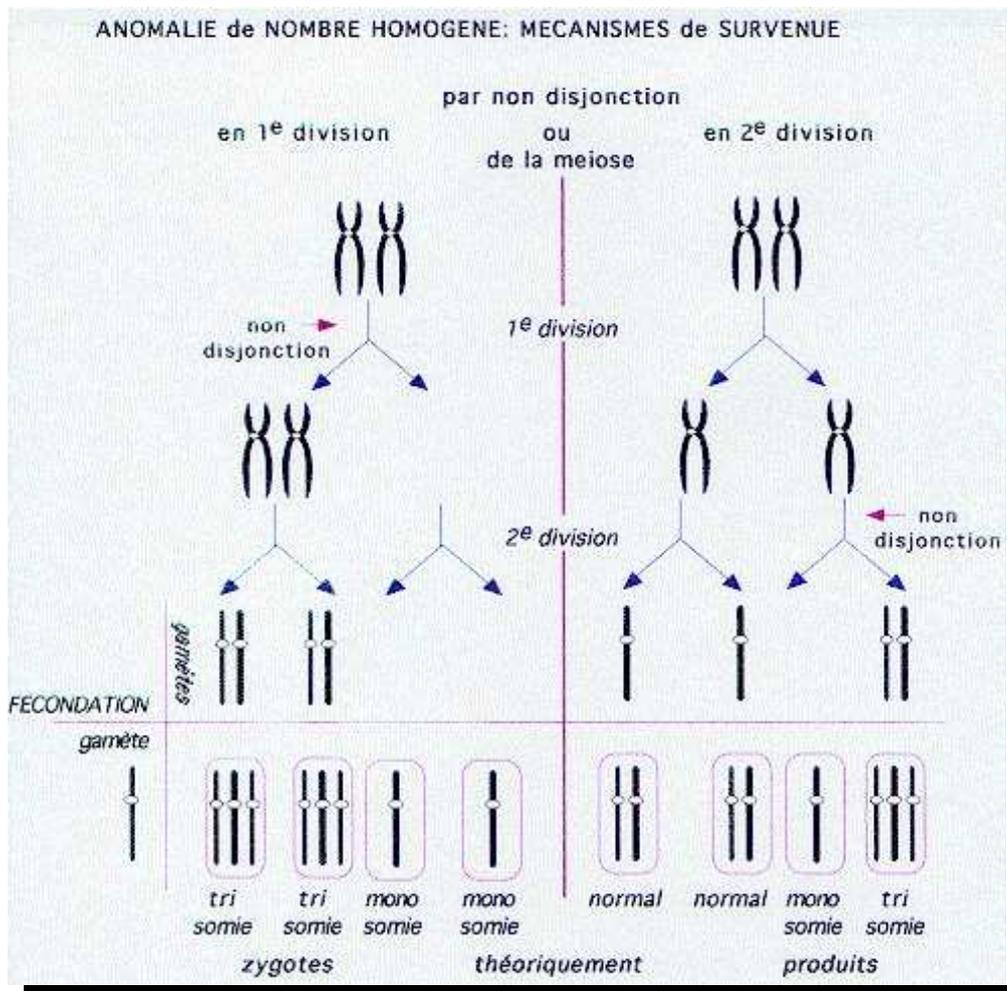


Figure 19 : non-disjonction dans les métaphases 1 et 2 de la méiose. (Alberts et al, 2004).

3. Mise au point de la technique d'obtention du caryotype

L'étude du caryotype peut se faire avec des chromosomes colorés au giemsa (coloration simple) dans ce cas seules les anomalies de nombre seront très bien identifiées. Mais il existe d'autres techniques de coloration qu'on appelle banding (G, Q, R..) qui permettent d'identifier des régions plus précises sur les chromosomes, dans ce cas les anomalies de structure seront aussi identifiées.

La technique la plus courante est celle qui permet l'obtention et donc l'observation du caryotype standard. Cette technique permet de visualiser les anomalies du nombre de chromosomes surtout.

Pour nos cultures nous avons utilisé le Roswell Park Memorial Institute medium 1640 (RPMI 1640) sans L-Glutamine (voir le tableau VI). Il est traditionnellement utilisé pour la culture de cellules humaines.

Tableau VI

Composition du milieu RPMI 1640

L-Asparagine Anhydrous	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	50 mg/l
L-Tyrosine Disodium Salt Dihydrate	C ₉ H ₁₁ N ₀₃ +2Na+2H ₂ O	28.83 mg/l
L-Leucine	C ₆ H ₁₃ N ₀₂	50 mg/l
L-Proline	C ₅ H ₉ N ₀₂	20 mg/l
Glycine	C ₂ H ₅ N ₀₂	10 mg/l
L-Valine	C ₅ H ₁₁ N ₀₂	20 mg/l
L-Isoleucine	C ₆ H ₁₃ N ₀₂	50 mg/l
L-Phenylalanine	C ₉ H ₁₁ N ₀₂	15 mg/l
L-Aspartic acid	C ₄ H ₇ N ₀₄	20 mg/l
L-Tryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	5 mg/l
L-Glutamic Acid	C ₅ H ₉ N ₀₄	20 mg/l
L-Hydroxy-L-Proline	C ₅ H ₉ N ₀₃	20 mg/l
L-Methionine	C ₅ H ₁₁ N ₀₂ S	15 mg/l
L-Threonine	C ₄ H ₉ N ₀₃	20 mg/l
L-Cystine Dihydrochloride	C ₆ H ₁₂ N ₂ O ₄ S ₂ .2HCL	65.2 mg/l
L-Arginine Free Base	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	200 mg/l
L-Histidine	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	15 mg/l
L-Lysine Monohydrochloride	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂ .HCL	40 mg/l
L-Serine	C ₃ H ₇ N ₀₃	30 mg/l

La composition en sels inorganiques d'un milieu de culture avec L-glutamine, incorpore cette dernière à 300 mg/l ce qui signifie que cette concentration demeure très élevée par rapport aux autres acides aminés qui sont introduits à des concentrations presque physiologique.

Nous avons testé différentes concentrations en L-glutamine pour la culture des lymphocytes afin d'identifier le rôle de cette dernière.

La L-Glutamine est un acide aminé essentiel et qui est aussi une composante cruciale pour les milieux de culture et qui sert comme principale source d'énergie pour les cellules en culture.

La L-Glutamine est très stable sous la forme d'une poudre sèche et en solution congelée. Dans les milieux liquides ou des solutions aqueuses, la L-Glutamine se dégrade assez rapidement. En raison de son instabilité en solution aqueuse la L-glutamine se vend séparément du milieu de culture.

L'importance physiologique de l'acide aminé L-glutamine pour le développement et le maintien de la fonction cellulaire est maintenant largement acceptée (figure 20). L'importance de la glutamine à la survie et la prolifération cellulaire in vitro a été d'abord rapporté par **Ehrensvar** *et al.* (1949), mais a été plus amplement décrite par **Eagle** *et al.* (1966). La glutamine doit être présente en terme de concentration 10 à 100 fois supérieure à tout autre acide aminé dans la culture et ne peut pas être remplacée par l'acide glutamique ou le glucose. Les travaux cités précédemment ont conduit au développement du premier milieu de culture qui contenait des facteurs de croissance essentiels, le glucose, 19 acides aminés essentiels et non essentiels à des concentrations environ physiologique, et une forte concentration en glutamine (2 mmol / l).

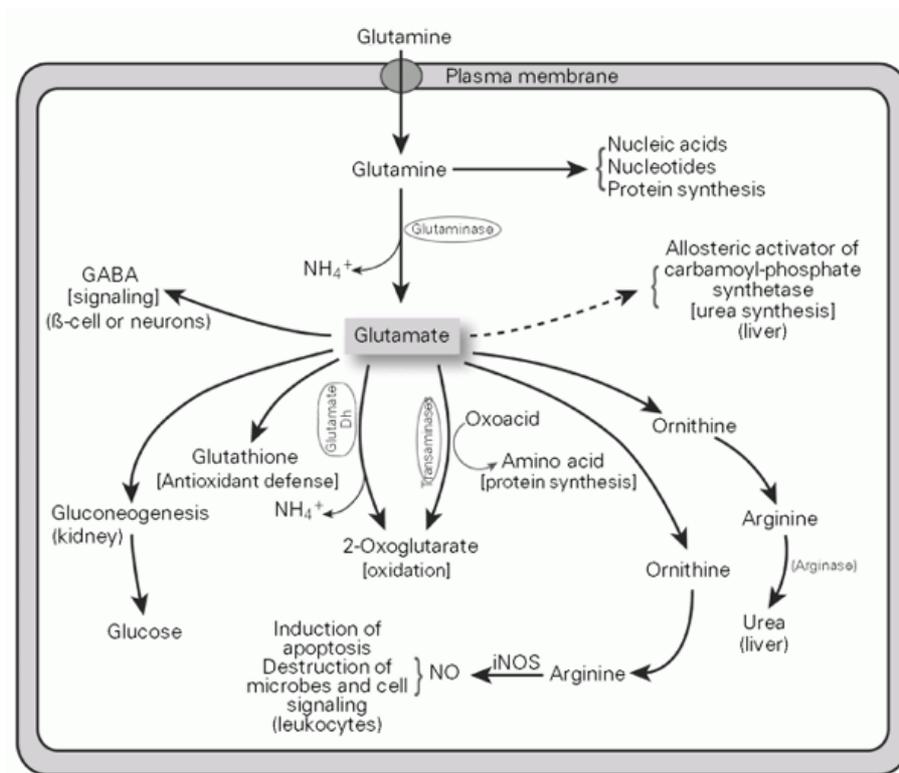


Figure 20 : Métabolisme de la glutamine et du glutamate dans les cellules de mammifères. (Eagle *et al*, 1966).

Il est maintenant largement accepté que la glutamine est utilisée à des taux élevés par des cellules isolées du système immunitaire comme les lymphocytes, les macrophages et les neutrophiles (Ardawi *et Newsholme*, 1983; Curi *et al*, 1997).

La glutamine a été aussi reconnu pour améliorer de nombreux paramètres fonctionnels des cellules immunitaires telles que la prolifération des cellules T, des lymphocytes B la différenciation, la phagocytose des macrophages, la présentation des antigènes et de la production de cytokines (Newsholme, 2001; Moinard *et al*, 1999), ainsi que la production de superoxyde et l'apoptose des polynucléaires neutrophiles (Garcia *et al*, 1999 ; Pithon-Curi *et al*, 2002).

La glutamine est l'acide aminé le plus abondant dans le plasma sanguin (Williamson *et Brosnan*, 1974). Il est un transporteur majeur de l'azote à partir des sites de synthèse de la

glutamine (muscle squelettique, foie, poumon) à des sites d'utilisation, y compris les reins, les intestins, les neurones, les cellules du système immunitaire et, dans des conditions appropriées d'équilibre acido-basique (Newsholme *et al*, 1989).

Pour cela sur les 2 premiers échantillons nous avons testé 3 concentrations différentes 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml et une culture témoin (sans addition de glutamine) (figure 21)

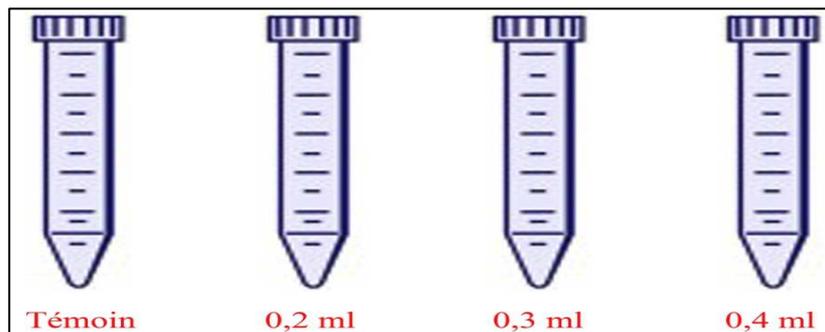


Figure 21 : Différentes concentrations en L-glutamine.

Dans la culture témoin et celle où on a mis 0,2 ml de l-glutamine nous avons observé une absence totale des métaphases à l'inverse dans la culture où nous avons ajouté 0,3 ml les métaphases étaient de bonne qualité.

Cette étape nous a permis de dire que la concentration qui permet d'obtenir des cultures riches en métaphases est de 0,3 ml/5ml de milieu de culture et qu'une concentration au delà de 0,3 ml/5ml de milieu de culture ne donne aucun résultat aussi. Il est donc nécessaire de rajouter la glutamine à la concentration adéquate pour avoir des cultures des cellules lymphocytaires humaines exploitables.

4. Présentation de quelques cas :

Nous avons respecté fidèlement les procédures concernant la confidentialité des dossiers répertoriés aux archives de la clinique d'ophtalmologie d'Oran. Chaque dossier répertorié a été assujetti à une identification numérique dans le but de conserver cette confidentialité.

4.1. 1^{er} cas : N° 3, 4, 5 et 6 (échantillon E2)

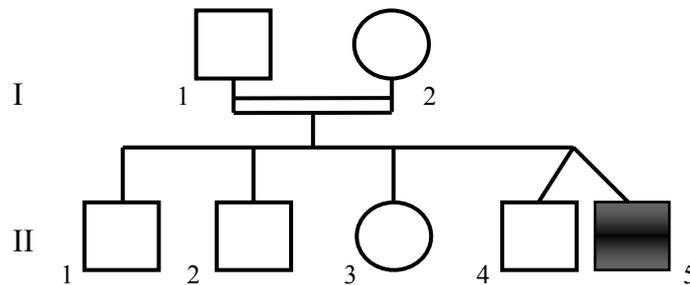


Figure 22 : Arbre généalogique des cas N° 3, 4, 5 et 6.

4.1.1 Aspect clinique

Pour le 1^{er} cas, il s'agit d'un couple consanguin du 1^{er} degré, originaire de Sidi Bel abbès, avec un âge maternel de 41 ans. Qui consulte chez un pédiatre à l'occasion d'un accouchement d'une grossesse jumelaire où l'un des faux jumeaux présente tous les signes cliniques et morphologiques d'un syndrome de DOWN (Figure 22).

Il est aussi signalé, après étude phénotypique, que l'autre jumeau n'est pas trisomique.

Des grossesses multiples (jumeaux, triplés, quadruplés) se produisent régulièrement dans de nombreuses espèces animales. Dans l'espèce humaine, l'échographie détecte une gémellité dans environ 40 grossesses, mais environ 1 grossesse sur 80 donne naissance à des jumeaux vivants. La différence est due à la mort intra-utérine précoce d'un des jumeaux, suivie de sa résorption. La fréquence est très variable allant d'environ 6 pour 1000 en Asie, à 10-20 pour 1000 en Europe, et 40 pour 1000 en Afrique. Les jumeaux peuvent provenir de la division d'un œuf unique (jumeaux monozygotes génétiquement identiques, MZ) ou de deux œufs différents (jumeaux dizygotes, DZ). Cette distinction a été proposée pour la première fois en **1874 par Dareste**. Le taux de naissance de jumeaux monozygotes est relativement constant. Les premières recherches sur les jumeaux ont été entreprises en **1876 par Galion**. Des comparaisons multiples et systématiques de jumeaux MZ et DZ on tenté de démêler la contribution des facteurs génétiques et environnementaux à l'étiologie des maladies, à la susceptibilité aux maladies, aux capacités intellectuelles et aux comportements, aux malformations congénitales, etc... Bien que les résultats restent controversés sur de nombreux aspects, la recherche sur les jumeaux peut apporter un éclairage nouveau sur la possibilité

d'une contribution génétique à certains caractères complexes, comme les maladies multifactorielles, et le comportement humain (**Bouchard, 1990**).

Les parents :

4.1.2 Culture cellulaire :

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités pour I.1 et I.2.

4.1.3 Interprétation du caryotype :

Le caryotype est euploïde (46,XY) pour I.1 (cas n°6), ne présentant aucune anomalie de nombre. Le résultat a été confirmé après étude de 20 mitoses et la réalisation de 5 classements (Nos résultats sont présentés en figures 23 et 24).

Le caryotype est euploïde (46,XX) pour I.2 (cas n°5), ne présentant aucune anomalie de nombre. Le résultat a été confirmé après étude de 20 mitoses et la réalisation de 5 classements (Nos résultats sont présentés en figure 25 et 26)

A ce stade et pour les deux parents, il semble qu'il serait intéressant de continuer notre investigation par la réalisation d'un marquage en bandes pour déceler les éventuelles translocations équilibrées.

Dans le cas des deux parents les caryotypes sont normaux et donc l'anomalie présentée par l'un des jumeaux est due à la non disjonction des gamètes chez l'un des deux parents, lors de la formation des gamètes et ceci pendant la mitose réductionnelle ou équationnelle. Des études par RFLP des génomes des deux parents et du descendant trisomique permettront de définir chez quel parent et pendant quelle division l'anomalie a eu lieu.

Cas n° 6



Figure 23: Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 1000.

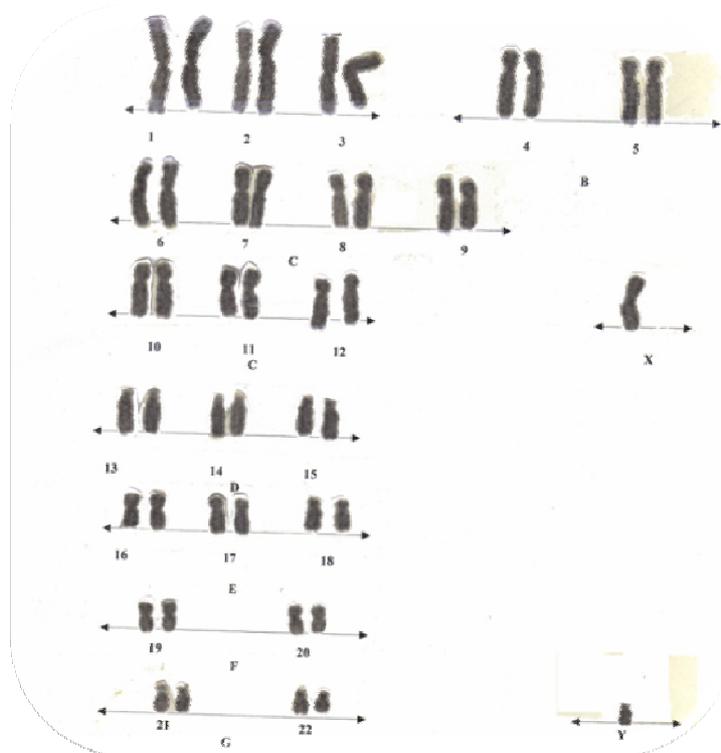


Figure 24 : Caryotype standard, cas n° 6 : 46,XY.

Cas n° 5

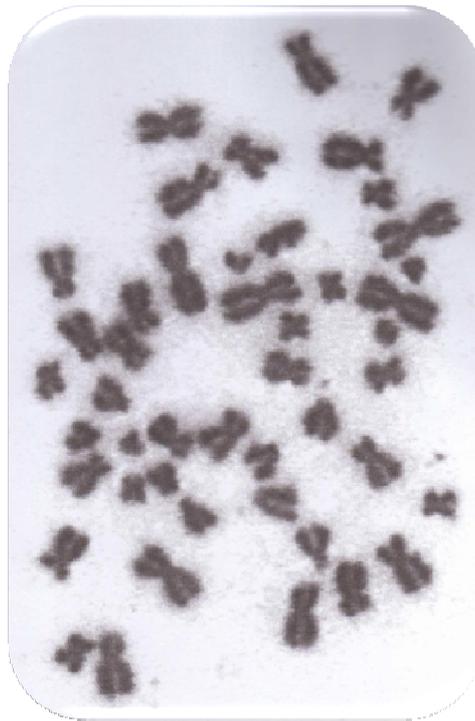


Figure 25: Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 1000.

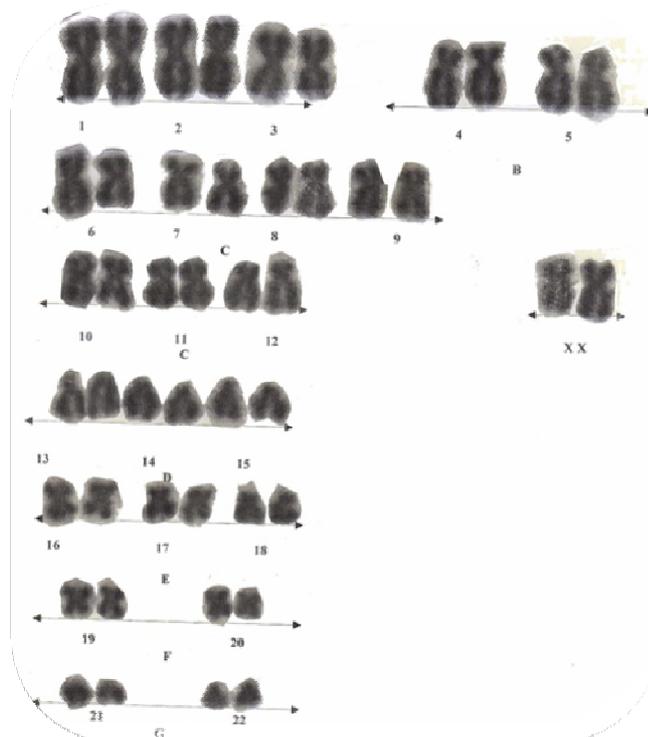


Figure 26 : Caryotype standard, cas n° 5 : 46,XX

Les jumeaux :

Culture cellulaire :

- Aspect normal du prélèvement.

La 1ere culture réalisée en utilisant le RPMI1640, présente de petits noyaux et de très rares mitoses (Index mitotique presque nul) pour les deux jumeaux (II.4 et II.5), les lames ne contenaient presque pas de métaphases. On a imputé ce résultat à l'administration d'antibiotiques pour ces derniers. Alors nous avons procédé à un autre prélèvement sanguin en donnant la recommandation d'arrêter tout traitement antibiotique. En effet il a été constaté dans le cas des patients sous traitement antibiotique, que les cultures cellulaires présentent des noyaux de mauvaise qualité.

- Pour le deuxième prélèvement et malgré les recommandations préconisées, les lames présentaient des noyaux de mauvaise qualité. Cependant nous avons pu faire la lecture de 3 métaphases pour II.4 (cas n°4) et une pour II.5 (cas n°3)

Entre ces deux expériences, le seul paramètre qui aurait pu influencer ce résultat serait l'élévation de la température

- La troisième culture réalisée avec toujours la technique standard en utilisant le RPMI n'a pas donnée de résultats. Les lames présentaient peu de métaphases d'une mauvaise qualité.

4.2.2eme cas : n° 2 (échantillon E1)

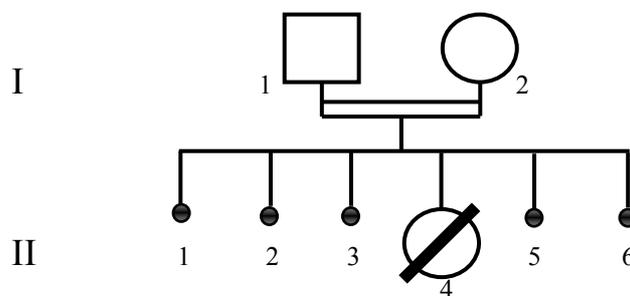


Figure 27 : Arbre généalogique du cas n°2

4.2.1. Aspect clinique

Il s'agit d'un couple consanguin du 1^{er} degré qui consulte chez un gynécologue à l'occasion d'avortement répété. La femme est âgée de 28 ans (Figure 27).

Nous avons choisi cette famille dans le but de savoir si l'un des parents est porteur d'une anomalie chromosomique équilibré. Cette famille a été retenue à partir de l'échantillon E1. Le caryotype a été réalisé pour la femme I.2.

4.2.2. Culture cellulaire :

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités.

4.2.3. Interprétation du caryotype :

Le caryotype est euploïde, ne présentant aucune anomalie de nombre. Le résultat a été confirmé après étude de 20 mitoses et la réalisation de 5 classements. (Nos résultats sont présentés en figure 28 et 29).

Cependant, ce résultat reste à confirmer et il serait intéressant de continuer notre investigation par la réalisation d'un marquage en bande ou sur un plan moléculaire par l'utilisation de la FISH pour déceler l'anomalie en cause.

Il serait judicieux aussi d'explorer le terrain du conjoint, compte tenu qu'il peut lui aussi être porteur d'une anomalie génétique.

Cas n° 2

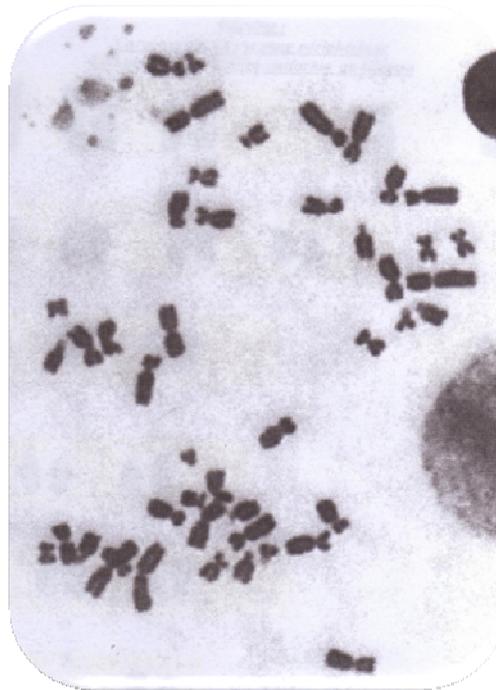


Figure 28: Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.
Grossissement X 1000.

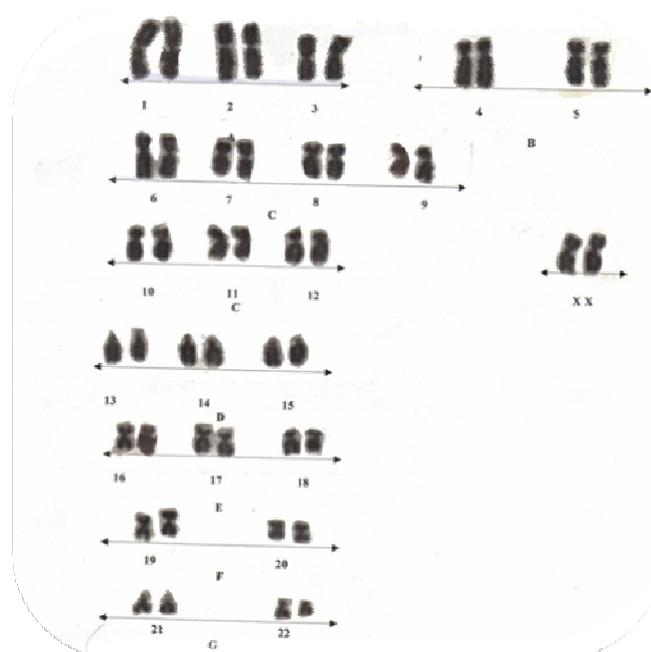


Figure 29 : Caryotype standard, cas n° 2 : 46,XX

4.3. 3^{ème} cas n° 12,13 et 14 (échantillon E2)

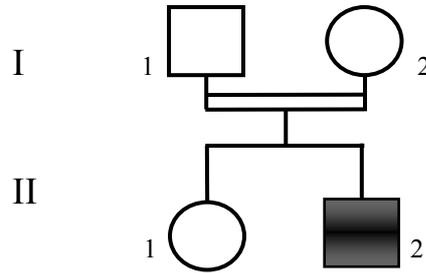


Figure 30 : Arbre généalogique des cas n° 12, 13 et 14.

4.3.1. Aspect clinique

Pour le 3^{ème} cas, il s'agit d'un couple consanguin du 1^{er} degré, originaire de Saïda, avec un âge maternel de 25 ans. Qui consulte chez un pédiatre à l'occasion d'un accouchement d'un enfant qui présente tous les signes cliniques et morphologiques d'un syndrome de DOWN (Figure 30). Cette famille a été retenue à partir de l'échantillon E2.

Les parents :

4.3.2. Culture cellulaire :

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités pour I.1 et I.2.

4.3.3. Interprétation du caryotype :

Le caryotype est euploïde (46,XY) pour I.1 (cas n° 14), ne présentant aucune anomalie de nombre. Le résultat a été confirmé après étude de 20 mitoses et la réalisation de 5 classements.

A ce stade il semble qu'il serait intéressant de continuer notre investigation par la réalisation d'un marquage en bande ou sur un plan moléculaire par la technique FISH pour déceler l'anomalie en cause.

Le caryotype est euploïde (46,XX) pour I.2 (cas n° 13), ne présentant aucune anomalie de nombre. Le résultat a été confirmé après l'étude de 20 mitoses et la réalisation de 5 classements.

A ce stade il semble qu'il serait intéressant de continuer notre investigation par la réalisation d'un marquage en bande ou sur un plan moléculaire (FISH) pour déceler l'anomalie en cause.

L'enfant II.2 (cas n° 12):

Culture cellulaire :

- Aspect normal du prélèvement.

Les lames étaient de richesse moyenne avec des mitoses de différentes qualités pour. Ces dernières sont présentées ci-dessous.

Interprétation du caryotype :

Les résultats donnent un caryotype aneuploïde, présentant une anomalie de nombre concernant les autosomes, avec un chromosome 21 surnuméraire, après étude de 20 mitoses. Il s'agit d'un syndrome de DOWN (Nos résultats sont présentés en figure 31 et 32).

Vu l'âge de la mère (25 ans), il serait très intéressant de définir les causes qui ont entraîné l'apparition de cet enfant trisomique 21. Sachant qu'une hypothèse explique l'implication d'un gène dans la non-disjonction des chromosomes dans les cas de parents jeunes et présentant des liens de parenté de 1^{er} degré.

Nous remarquons que dans ce deuxième échantillon comme pour le premier tous les individus atteints du syndrome de Down sont des trisomiques 21. Il s'agit donc toujours d'une anomalie du type non-disjonction des chromosomes. Comme nous l'avons déjà cité, cette non-disjonction peut survenir lors de la première ou de la deuxième division méiotique. Ces résultats ne sont pas surprenants puisque la littérature cite que 95% des cas de syndrome de Down sont provoqués par des non-disjonctions. Pendant très longtemps, cette anomalie a été attribuée à la mère, de nos jours elle a été mieux évaluée grâce à la comparaison du polymorphisme des microsatellites et la preuve a été apportée que c'est l'ovule qui porte le

Cas n° 12



Figure 31: Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. Grossissement X 1000.

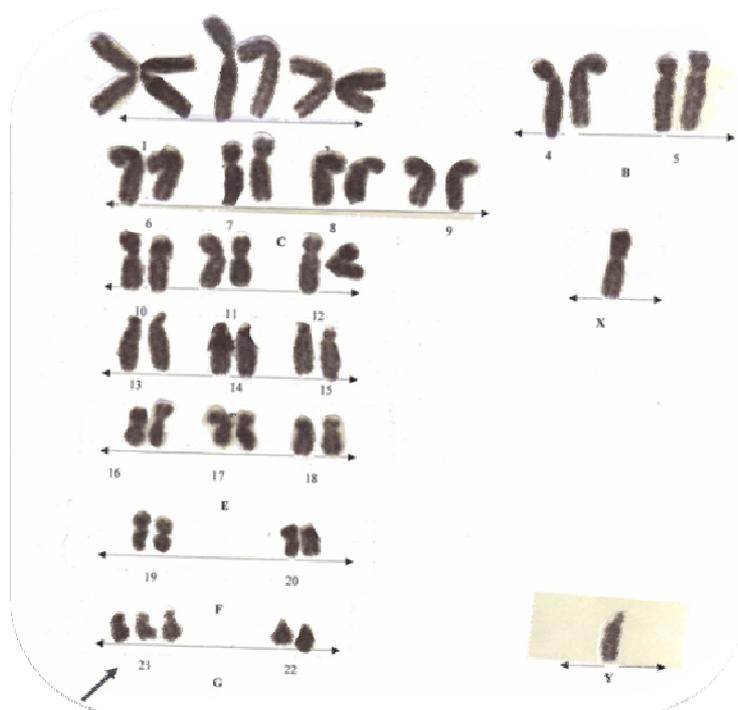


Figure 32 : Caryotype standard, cas n° 12 : 47,XY(+21)

chromosome surnuméraire dans 90 à 95% des cas. De plus 75% des non-disjonctions maternelles ont lieu lors de la méiose I, le reste survenant lors de la méiose II.

En s'appuyant aussi sur une autre théorie, impliquant souvent les femmes dans la survenue de la trisomie 21, on parle de l'âge maternel avancée l'homme peut aussi être responsable par l'apport lors de la fécondation d'un gamète porteur d'une aberration chromosomique. **Crow** a pu démontrer en **2000**, qu'en moyenne, chez un homme de 30 ans, 380 réplifications chromosomiques ont eu lieu dans les cellules précurseurs des spermatozoïdes, et environ 610 chez un homme de 40 ans. Au total, il se produit environ 25 fois plus de divisions cellulaires au cours de la spermatogenèse qu'au cours de l'ovogenèse. Cela rend probablement compte du taux de mutation plus élevé chez les hommes, taux qui augmente en particulier avec l'âge paternel. Chez la femme, il y a en moyenne 22 divisions cellulaires avant la méiose, ce qui représente un total de 23 réplifications chromosomiques. (**Hurst et Ellegren, 1998**).

Conclusion
&
Perspectives



Le syndrome de Down est la maladie génétique la plus répandue dans toutes les populations en raison de sa compatibilité avec la survie. Ce syndrome présente la prévalence la plus élevée et donc constitue en même temps l'une des préoccupations les plus importantes en santé humaine, vus tous les signes cliniques qui se déclenchent (cardiopathie, cataracte, maladie d'Alzheimer...).

Nous avons mené notre étude sur deux échantillons, le premier constitué de 30 individus atteint de différentes maladies génétiques, par contre le deuxième est constitué de 36 individus atteints du syndrome de Down et de leurs parents.

Nous avons constaté que c'est le syndrome de Down qui est la maladie génétique la plus répandue dans la population que nous avons étudiée. En effet, ce syndrome représente 40% de l'ensemble des maladies génétiques diagnostiquées à la clinique ophtalmologique d'Oran

Notre 1^{er} échantillon présente un taux de consanguinité relativement élevé de 52%. Cette élévation du taux de consanguinité dans notre échantillon est interprétée par la concentration des consultants dirigés vers un unique laboratoire de cytogénétique pour tout l'ouest algérien. Beaucoup de familles présentent le même profil, il s'agit d'une population particulière. D'autre part il est possible que le taux de consanguinité de la population influe sur l'apparition des maladies génétiques

Dans notre étude sur le 1^{er} échantillon, nous avons pris en considération l'âge maternel lors de la naissance de l'enfant atteint, ce qui nous a conduits vers les observations suivantes : 44% des femmes qui ont eu un enfant atteint d'une maladie génétique étaient âgées de moins de 35 ans. Cette observation nous permet de conclure que l'âge maternel avancé n'influence pas d'une manière forte la survenue de maladies génétiques contrairement à ce qui est décrit dans la littérature. Par contre il existe d'autres facteurs tels que la consanguinité. En effet ce facteur a tendance à diminuer, en dessous de 35 ans, l'âge maternel de survenue de descendants atteints de maladies génétiques. Cette observation est en faveur de l'hypothèse qui décrit l'existence d'un gène récessif favorisant les non-disjonctions.

Une comparaison des âges maternels dans cette étude nous conduit à remarquer que la présence de la consanguinité influence l'âge moyen des femmes autrement dit, la

consanguinité réduit l'âge auquel une femme peut avoir des enfants atteints d'une maladie génétique mais d'une manière qui ne semble pas être significative. L'augmentation de notre échantillon pourra trancher sur l'influence de la consanguinité sur l'âge maternel moyen.

Au cours de notre étude nous avons abordé d'un autre point de vue notre échantillon E1, cela concerne la comparaison du taux de consanguinité entre les familles n'ayant que la trisomie 21 comme maladie génétique (E1.a) et les familles avec toutes les maladies génétiques sauf la trisomie 21(E1.b). Cela nous a permis de conclure que dans notre échantillon E1 la répartition de la consanguinité entre E1.a et E1.b relève de l'inégalité, mais aussi renforce notre conclusion précédente qu'une consanguinité élevée réduit l'âge moyen des femmes ayant des enfants atteints de maladies génétiques du type trisomie.

La méthodologie utilisée pour cette étude s'est avérée efficace pour établir un diagnostic fidèle de trisomie 21. Les caryotypes se sont révélés être une source d'information précise pour atteindre l'objectif visé. Ainsi, au cours de cette recherche nous avons fait varier la concentration de la L-Glutamine et elle nous a permis de dire que la concentration la plus adéquate était celle de 0,3 ml/5ml de milieu RPMI 1640 et qu'une concentration au delà de celle-ci ne donne aucun résultat.

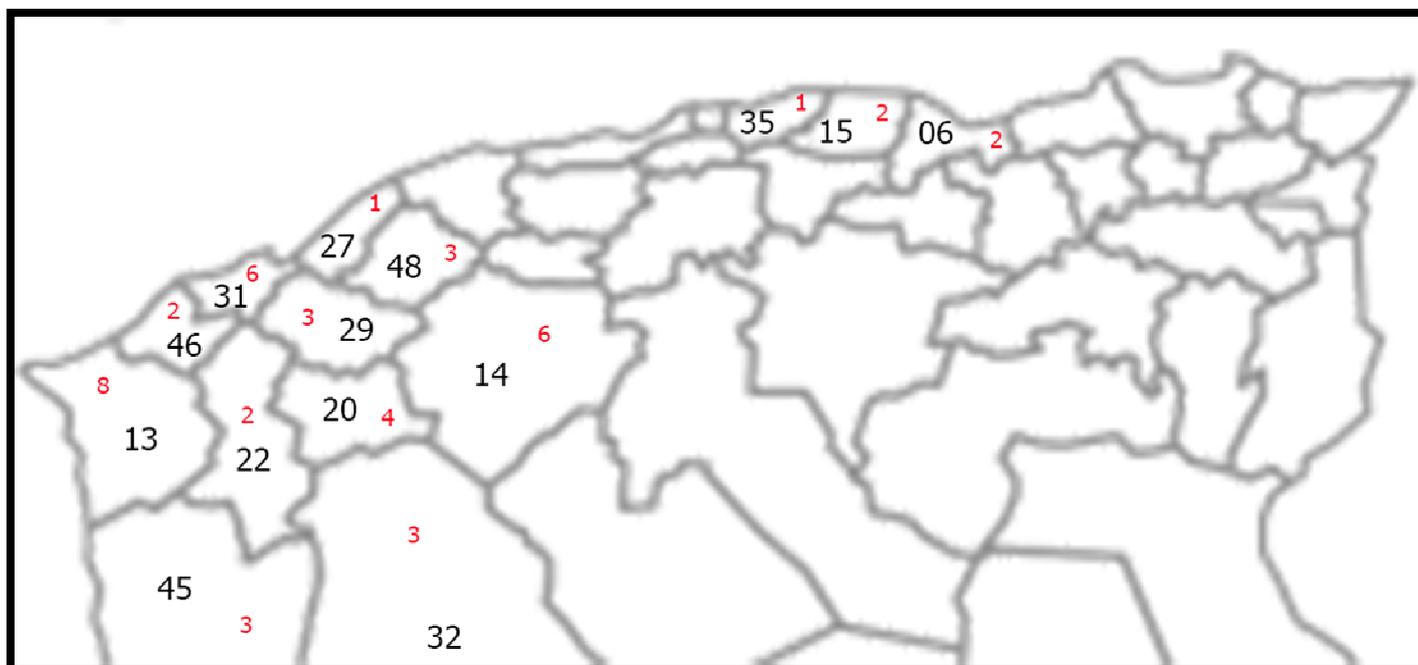
L'étude de la pathologie globale du syndrome de Down a permis d'observer certains aspects méthodologiques, d'où l'intérêt du passage aux techniques du banding au niveau du laboratoire de cytogénétique d'Oran aussi souvent que les cas le nécessitent, en vue de détecter une anomalie de structure non décelable par une simple coloration.

Chez tous les trisomiques de notre population il serait intéressant de définir avec précision chez quel parent la non-disjonction n'a pas eu lieu même si nous savons que dans la plupart des cas il s'agit de la mère. Des techniques comme la FISH et l'étude des RFLP pourraient apporter ces précisions et aussi nous permettre de savoir si c'est à la méiose I ou II que la disjonction des chromosomes homologues n'a pas eu lieu.

Annexes



Annexe I



Annexe II : Distribution de nos cas pour l'étude caryotypique selon l'origine géographique en Algérie.

Legende Annex II

N° en noir représente le code de la willaya

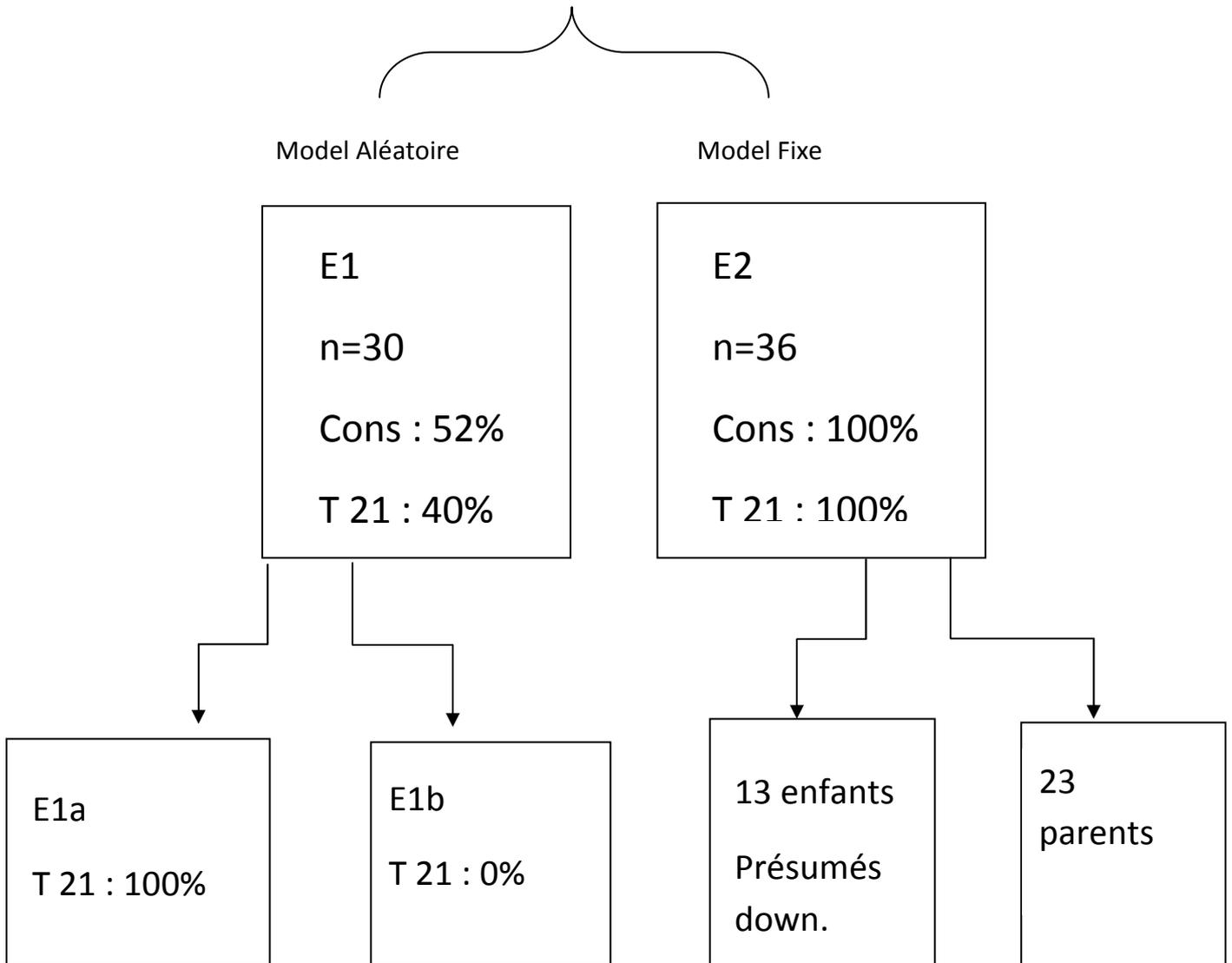
N° en rouge représente le nombre de cas par willaya

Code willaya :

6 Bedjaïa 13 Tlemcen 14 Tiaret 15 Tizi-ouzou 20 Saïda 22 Sidi Beladdes
27 Mostaghanem 29 Mascara 31 Oran 32 El-beyad 35 Bordj-Bouariridj 45 Naâma
46 Aïn-temouchent 48 Relizen

Annexe II

NOTRE ÉTUDE



Annexe III

	E1		
	19		
	23		
	24		
	26		
	28		
	28		
	28		
	28		
	28		
	30		
	33		
	35	E1 Cons +	
	36	23	E2 Cons -
	36	24	19
	38	28	26
	38	28	28
	39	28	35
	40	28	36
	41	30	36
	41	33	38
	43	38	41
	43	39	43
	44	40	43
	46	41	44
	46	46	46
Ecart-type	7,77860313	7,25894673	8,22551463
Moyenne	34,44	32,7692308	36,25
Variance	60,5066667	52,6923077	67,6590909

Annexe IV

RISQUES ASSOCIÉS À L'ÂGE MATERNEL, DE MÊME QUE LA FRÉQUENCE (%) DU SYNDROME DE DOWN PAR RAPPORT À D'AUTRES ANOMALIES

ÂGE MATERNEL	SYNDROME DE DOWN (Moyenne/1000)	% DE RISQUE	SYNDROME DE DOWN % PAR RAPPORT AUX AUTRES ANOMALIES
20	0,6	0,6	32
21	0,6	0,6	32
22	0,7	0,7	35
23	0,7	0,7	35
24	0,8	0,8	38
25	0,8	0,8	38
26	0,85	0,9	40
27	0,9	0,9	41
28	0,95	0,10	41
30	1,05	0,11	40
31	1,10	0,11	42
32	1,30	0,13	42
33	1,65	0,17	47
34	2,15	0,22	53
35	3,2	0,32	57
36	4,1	0,41	61
37	5,25	0,53	65
38	6,6	0,67	69
39	8,55	0,90	69
40	11,1	1,1	70
41	14,4	1,4	70
42	18,6	1,9	73
43	24,1	2,4	74
44	31,3	3,1	75
45	40,5	4,1	75
46	52,5	5,3	76
47	68,0	6,8	76
48	88,2	8,9	77
49	114,3	11,4	77

Les anomalies chromosomiques représentées dans ce tableau sont la trisomie 18 (Syndrome d'Edwards), la trisomie 13 (Syndrome de Patau), le Syndrome de Klinefelter (XXY), le Syndrome du double X mâle (XYY), le Syndrome de Turner (X0).

Source : (Hook B. 1981)

Références bibliographiques



- Abdulbari bener, Srdjan Denic, Mariam Al-Mazrouei. (2001). Consanguinity and family history of cancer in children with leukemia and lymphomas. *American Cancer Society*, 92(1):1-6.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M.(2004) : *Biologie moléculaire de la cellule*. 4e ed. Paris, Flammarion Médecine-Sciences.C.
- Alfi OS, Chang R, Azen SP. (1980). Evidence for genetic control of nondisjunction in man. *Am J Hum Genet* 32:477_483.
- Anahory T, Andreo B, Regnier-Vigouroux G, et al. (2003). Sequential multiple probe fluorescence in-situ hybridization analysis of human oocytes and polar bodies by combining centromeric labelling and whole chromosome painting. *Mol Hum Reprod*; 9 : 577-85.
- Angell R. (1997). First-meiotic-division nondisjunction in human ovocytes. *Am J Hum Genet*; 61 : 23-32.
- Ardawi MSM & Newsholme EA (1983). Glutamine metabolism in lymphocytes of the rat. *Biochemical Journal*,212: 835-842.
- Basaran N., Cenania A., Sayli B.S., Ozkinay C , Artan S., Seven H., Basaran A., Dinçer S. (1992). Consanguineous marriages among parents of Down patients. *Clin. Genet.*, vol. 42, p. 13-15.
- Becker S.M., Al Halees Z., Molina C., Paterson R.M. (2001). Consanguinity and congenital heart disease in Saudi Arabia. *American Journal of Medical Genetics*, 99:8-13.
- Behre HM, Greb RR, Mempel A. (2005). Significance of a common single nucleotide polymorphism in exon 10 of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene for the ovarian response to FSH : a pharmacogenetic approach to controlled ovarian hyperstimulation. *Pharmacogenet Genomics* ; 15(7) : 451-6.
- Bittles AH, Neel JV. (1994). The cosis of human inbreeding and their implications for variations ai the DNA level. *Nature Genet* 8: 117-121,.
- Bittles A.H. et Black M.L. (2010). Consanguinity, human evolution, and complex diseases. *PNAS*. 107(1):1779-1786.

- Bott CE., Sekhon G.S., Lubs H.A. (1975). Unexpected high frequency of paternal origin of trisomy 21. *Hum. Genet.* October, Atlas, p. 236.
- Bouayed Abdelouma N. (2007). Apport de la cytogénétique moléculaire au diagnostic des anomalies chromosomiques. *Ann Biol Clin (Paris)*;62:629–37.
- Bouchard TJ. (1990): Sources of human psychological differences: The Minnesota study of twins reared apart. *Science* 250 : 223-228.
- Boué JG, Boué A. (1969). Frequency of chromosomal aberrations in spontaneous human abortions. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D*; 269(2) : 283-8.
- Bridges CB. (1916). Nondisjunction as proof of the chromosome theory of heredity. *Genetics*; 1 : 1-52, 107-63.
- Cavalli-Sforza LL, Bodmer WF. (1971): The genetics of human populations. WH Freeman & Co, San Francisco.
- Cavalli-Sforza LL, Menozzi P Piazza A. (1994): The History and geography of human genes. Princeton Unie Press, Princeton, New Jersey.
- Chakravarti A, Majumder PP, Slaugenhaupt SA, et al. (1989). Gene-centromere mapping and the study of non-disjunction in autosomal trisomies and ovarian teratomas. In : Hassold T, Epstein C, eds. *Molecular and cytogenetic studies of non-disjunction*. New York : Alan R. Liss: 45-79.
- Crow JF. (2000) : The origins, patterns and implications of human spontaneous mutations. *Nature Rev Genet* 1: 40-47.
- Curi TC, De Melo MP, De Azevedo RB, Zorn TMT & Curi R (1997). Glutamine utilization by rat neutrophils: presence of phosphate-dependent glutaminase. *American Journal of Physiology*, 273: C1124-C1129.
- Dailey T, Dale B, Cohen J, Munne S. (1996). Association between nondisjunction and maternal age in meiosis-II human oocytes. *Am J Hum Genet*; 59 : 176-84.
- De grouchy J., Turleau C. (1977). *Clinical atlas of human chromosomes*. John Wiley and sons, New York, pp. 164-180.

- Eagle H, Washington CL, Levy M & Cohen L (1966). The population-dependent requirement by cultured mammalian cells for metabolite, which they can synthesize. II. Glutamic acid and glutamine; aspartic acid and asparagine. *Journal of Biological Chemistry*, 10: 4994-4999.
- Ehrensvar G, Fischer A & Stjernholm R (1949). Protein metabolism of tissue cells in vitro. The chemical nature of some obligate factors of tissue cell nutrition. *Acta Physiologica Scandinavica*, 18: 218-230.
- Ehrig T, Bosron WF, Li TK. (1990). Alcohol and aldehyde dehydrogenase. *Alcohol Alcohol* ; 25(2-3) : 105-116.
- Erikson AW. (1980). (eds): Population structure and genetic disorder. Academic Press, London.
- Fattorusso V., Ritter O. (1986). *Vademecum clinique du symptôme à l'ordonnance*. Italie, Masson, 11e édition, 1661 pages.
- Garcia C, Pithon-Curi TC, De Lourdes Firmano M, Pires de Melo M, Newsholme P & Curi R (1999). Effects of adrenaline on glucose and glutamine metabolism and superoxide production by rat neutrophils. *Clinical Science*, 96: 549-555.
- Gardner R, Sutherland G. (1996). *Chromosome abnormalities and Genetic Counselling*. 2nd Ed. Oxford University Press.
- Gelehrter T.D. et Collins F.S. 1990. *Principes de génétique moléculaire et médicale*. Edition Pradel.
- Gilgenkrantz S, Schrock E, Liyanage M, du Manoir S, Ried T. (1997). Tout ce que la FISH peut faire pour vous. *Med Sci (Paris)*;13:1294–8.
- Giraud F., Mattei J.F. (1975). Aspects épidémiologiques de la trisomie 21. *Hum Genet.*, vol. 23, p. 1-30. Atlas, p. 242.
- Greb RR, Grieshaber K, Gromoll J. (2005). A common single nucleotide polymorphism in exon 10 of the human follicle-stimulating hormone receptor is a

major determinant of length and hormonal dynamics of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* ; 90(8) : 4866-72.

- Griffith AJF et al. (2000) : An introduction to genetic analysis, 7th ed. WH Freeman & Co, New York.
- Hara Y., Sasaki M. (1975). A note on the origin of extra chromosomes in trisomies 13 and 21. *Proc. Japan Acad.* vol. 51, p. 295-299.
- Hartwell L, Weinert T. (1989) : Checkpoints: Controls that ensure the order of cell cycle events. *Science* 246:629-634,
- Hassold T, Hunt P. (2001). To err (meiotically) is human : the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet* ; 2 : 280-91.
- Hassold T, Pettay D, Robinson A, Uchida I. (1992). Molecular studies of parental origin and mosaicism in 45, X conceptuses. *Hum Genet* ; 89 : 647-52.
- Hassold TJ, Sherman SL, Pettay D. (1991). XY chromosome nondisjunction in man in associated with diminished recombination in the pseudoautosomal region. *Am J Hum Genet* ; 49 : 253-60.
- Hook B. (1981). Rates of Chromosome abnormalities at Different Maternal Age. *Obstetrics & Gynecology*, vol. 58, p. 282-285.
- Hurst LD, Ellegren H. (1998) : Sex biases in the mutation rates. *Trends Genet* 14: 446-452.
- Jaber L, Halpern GJ, Shohat M. (1998) : The impact of consanguinity worldwide. *Community Genet* 1: 12-17.
- Jacobs P, Dalton P, James R, et al. (1997). Turner syndrome : a cytogenetic and molecular study. *Ann Hum Genet*; 61 : 471-83.
- Jacobs PA, Strong JA. (1959). A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature*; 183 : 302-3.
- Johannisson R et al. (1983) : Down's syndrome in the male. Reproductive pathology and meiotic studies. *Hum Genet* 63: 132-138.
- Jorde L. (2000) : Linkage disequilibrium and the search for complex diseases. *Genome Res* 10: 1435-1444.

- Jorde L.B., Carey J.C., Bamshad M.J. et White R.L. (2004). Génétique médicale. Edition ELSEVIER.
- Karsenti E, Vernes I. (2001) : The mitotic spindle: A self-made machine. *Science* 294: 543-547.
- Kevenaar ME, Laven JS, Fong SL. (2008). A functional antimullerian hormone gene polymorphism is associated with follicle number and androgen levels in polycystic ovary syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab*; 93(4) : 1310-6.
- Kimura M, Ohta T. (1971) : Theoretical aspects of population genetics. Princeton Univ Press, Princeton, New Jersey.
- Klinefelter HF, Reifenstein RC. (1942). Syndrome characterised by gynecomastia, aspermatogenesis, without a-leydigism, and increased excretion of FSH. *J Clin Endocrinol* ; 2 : 615-27.
- Lamb NE, Freeman SB, Savage-Austin A. (1996). Susceptible chiasmate configurations of chromosome 21 predispose to non-disjunction in both maternal meiosis I and meiosis II. *Nat Genet* ; 14 : 400-5.
- Leridon H (1977). *Human fertility : the basics components*. Univ of Chicago Press,
- Lilienfeld A.M., Benesch C.H. (1969). Epidemiology of mongolism. Baltimore, The Johns Hopkins Press, Atlas, p. 236.
- Martinez-Frias M.L. (1993). Consanguineous marriages among parents of patients with Down syndrome. *Clin. Genet*, vol. 44, p. 221-222.
- Mikkelsen M. (1972). The effect of maternal age on the incidence of Down's syndrome. *Hum. Genet*. vol. 16, p. 141-146. Atlas, p. 236.
- Miller JF, Williamson E, Glue J, Gordon YB, Grudzinskas JG, Sykes A (1980). Fetal loss after implantation. A prospective study. *Lancet* ; 2(8194) : 554-6.
- Miller OJ, Therman E. (2001) : *Human Chromosomes*, 4th col. Springer, New York-Berlin,

- Moinard C, Chauveau B, Walrand S, Felgines C, Chassagne J, Caldefie F, Cynober LA & Vasson MP (1999). Phagocyte functions in stressed rats: comparison of modulation by glutamine, arginine and ornithine 2-oxoglutarate. *Clinical Science*, 97: 59-65.
- Moreno-Fuenmayor H, Champin J, Alvarez-Arratia M, Sanchez O. (1993). Epidemiologia de las malformaciones congenitas en Ciudad Bolivar, Venezuela. Analisis del factor consanguinidad. *Invest Clin* 34:5_14.
- Newsholme EA, Newsholme P, Curi R, Crabtree B & Ardawi MSM. (1989). Glutamine metabolism in different tissues. Its physiological and pathological importance. In: Kinney JM & Borum PR (Editors), *Perspectives in Clinical Nutrition*. Urban, Schwarzenberg, Baltimore, MD, USA.
- Newsholme P (2001). Why is L-glutamine metabolism important to cells of immune system in health, postinjury, surgery or infection? *Journal of Nutrition*, 131: 2515-2522.
- Nicolaidis P, Petersen MB. (1998) .Origin and mechanisms of nondisjunction in human autosomal trisomies. *Hum Reprod*; 13(2) : 313-9.
- Nurse P. (2000) : A long twentieth century of the cell cycle and beyond. *Cell* 100: 71-78.
- Passarge E. (2004). Atlas de poche de génétique. Traduction (Louise Blottière). Flammarion Medecine-Sciences
- Patterson D. (1994). La trisomie 21. Dossier pour la Science, avril, p. 54-60.
- Pellestor Frank (1990). Étude cytogénétique de l'ovocyte humain, Médecine/Sciences. France: John Libbey Euroyext, décembre, vol. 6, p. 966-970.
- Penrose L.S. (1933). The relative effects of paternal and maternal age in mongolism Atlas, p. 236.

- Perez Mayorga M, Gromoll J, Behre HM, Gassner C, Nieschlag E, Simoni M. (2000). Ovarian response to follicle-stimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype. *J Clin Endocrinol Metab* ; 85(9) : 3365-9.
- Pithon-Curi TC, Schumaker IR, Freitas JJS, Lagranha C, Newsholme P, Palanch AC, Doi SQ & Curi R. (2002). Glutamine delays spontaneous apoptosis in neutrophils. *American Journal of Physiology* (in press).
- Rieder CL, Khodiakov A. (2003) : Mitosis through the micro-cope : Advances in seeing inside live dividing cells. *Science* 300: 91-96.
- Robert J.-M., Planchu H., Giraud F. et Mattei J.-F. 1977. Génétique et cytogénétique cliniques. Edition Flammarion.
- Roberts D.F., Roberts M.J., Johnston A.W. (1991). Genetic epidemiology of Down's syndrome in Shetland. *Hum. Genet.*, vol. 87, p. 57-60.
- Robinson WP, Bernasconi F, Mutirangura A. (1993). Nondisjunction of chromosome 15 : origin and recombination. *Am J Hum Genet* ; 53 : 740-51.
- Sanlaville D, Lapierre JM, Turleau C, Coquin A, Borck G, Colleaux L. (2005). Molecular karyotyping in human constitutional cytogenetics. *Eur J Med Genet*;48:214–31.
- Savage AR, Petersen MB, Pettay D. (1998). Elucidating the mechanisms of paternal non-disjunction of chromosome 21 in humans. *Hum Mol Genet* ; 7 : 1221-7.
- Schrock E, du Manoir S, Veldman T, Schoell B, Wienberg J, Ferguson-Smith MA, et al. (1996). Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science*;273:494–7.
- Serre J.-L., Feingold J., Gallano P., Boue L, Boue A. (1983). Maintien et évolution des fréquences des anomalies de structures chromosomiques : application à quelques anomalies étudiées chez l'homme. *Population* 2. p. 283-306.
- Shah NA, Antoine HJ, Pall M, Taylor KD, Azziz R, Goodarzi MO. (2008). Association of androgen receptor CAG repeat polymorphism And polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* ; 93(5) : 1939-45 ; [Epub 2008 Feb 26].

- Siffroi Jean-Pierre, Christin-Maitre Sophie (2006). Aspects moléculaires des anomalies génétiques rencontrées dans l'infertilité humaine : des chromosomes aux gènes. *mt médecine de la reproduction*, vol. 8, n° 5.
- Simoni M, Gromoll J, Hoppner W, et al. (1999). Mutational analysis of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor in normal and infertile men : identification and characterization of two discrete FSH receptor isoforms. *J Clin Endocrinol Metab* ; 84(2) : 751-5.
- Simoni M, Tempfer CB, Destenaves B, Fauser BC. (2008). Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders : part I : polycystic ovary syndrome and ovarian response. *Hum Reprod Update* ; 14(5) : 459-84 ; [Epub 2008 Jul 4].
- Solomon E. P., Davis P. W. (1981) . Anatomie et Physiologie humaine. Adaptation française Cholette C. Montréal, McGraw-Hill, 668 pages.
- Turleau C, Vekemans M. (2005). Nouvelles données en génétique chromosomique. *MEDECINE/SCIENCES* ; 21 : 940-6.
- Turnpenny P Ellard S. (1995) : Emery's elements of medical genetics, 12th ed. Elsevier-Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Vialard F., Gomes D.-M, Hammoud I, Wainer B., Bergere M., Bailly M., Clément P., de Mazancourt P., Selva J. (2008). La génétique de l'ovocyte. *mt Médecine de la Reproduction, Gynécologie Endocrinologie*; 10 (5) : 304-14
- Warren AC, Chakravarti A, Wong C, et al. (1987). Evidence for reduced recombination on the nondisjoined chromosomes 21 in Down Syndrome. *Science*; 237 : 652-4.
- Weiss M.M., Hermsen M.A.J.A., Meijer G.A., Van Grieken N.C.T., Baak J.P.A., Kuipers E.J., Van Diest P.J. (1999). Comparative genomic hybridization. *J. Clin. Pathol.: Mol. Pathol.*, 52, 243-251.
- Whitehouse LHK. (1973) : Towards an Understanding of the Mechanism of Heredity, 3rd ed. Edward Arnold, London.

- Williamson DH & Brosnan JT (1974). Concentrations of metabolites in animal tissues. In: Bergmeyer HU (Editor), *Methods in Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York and London.

ملخص

في هذا العمل ركزنا على دراسة الأمراض الوراثية الخلوية الكروموزومات الأكثر شيوعا في الغرب الجزائري وخاصة تثلث الصبغي 21، بواسطة تقنية الصبغ البسيط. وقد وجهنا عملنا إلى قسمين وفي عينتين. سمح لنا النموذج الأول لتحديد أكثر الأمراض الوراثية شيوعا في سكان الغرب الجزائري مع أو بدون الروابط الأسرية. وكانت دراسة العينة الثانية من حيث الغرض لتحديد الشذوذ الأكثر شيوعا في أحداث متلازمة داون مع الحالات ذات الروابط الأسرية. وأكد لنا أن متلازمة داون هو الأكثر شيوعا لوحظ بنسبة 40%. جميع الفحوص سمحت لنا بمعرفة نسبة زواج الأقارب وكانت عالية نسبيا: 52%. فيما بعد قارنا متوسط عمر الأمهات داخل كل من العينات، وسمح لنا أن نشير إلى أن القرابة القائمة تؤثر على متوسط عمر الأمهات بتخفيض سن المرأة لإنجاب الأطفال المصابين بأمراض وراثية، ولكن ليس بطريقة ذات دلالة إحصائية. في خطوة ثانية تباينا تركيز L-جلوتامين في وسط نمو الخلايا اللمفية. وأظهر هذا الأخير أن ml 5/ ml0,3 من وسط نمو هو التركيز الأنسب. نتائج عملنا انضمت إلى الببليوغرافية، ورفض فرضية ارتباط صلة الدم و تثلث الصبغي 21 و لم يلاحظ أي ارتفاع ذات دلالة إحصائية.

كلمات البحث: تثلث الصبغي 21، زواج الأقارب، الوراثة الخلوية، أمراض الكروموزومات، غرب الجزائر، متوسط عمر الأم، L-جلوتامين.

RESUME

Notre travail porte sur l'étude cytogénétique, par coloration simple, des maladies chromosomiques les plus répandues et plus particulièrement la trisomie 21, dans une population de l'ouest Algérien. Nous avons mené notre étude en deux temps et sur 2 échantillons. Le premier échantillon nous a permis de déterminer la maladie génétique la plus répandue dans la population algérienne avec et sans lien de parenté et le deuxième échantillon a été étudié afin de déterminer l'anomalie la plus fréquente dans l'apparition du syndrome de Down dans le cas de parents avec un lien de parenté. Nous avons confirmé que c'est le syndrome de Down qui est le plus répandu dans notre échantillon avec un taux de 40%. L'ensemble des tests réalisés nous a permis de mettre en évidence un taux de consanguinité relativement élevé de 52%. Par la suite, nous avons comparé les âges maternels moyens, ce qui nous a conduits à remarquer que la présence de la consanguinité influence l'âge moyen des femmes. Cette comparaison nous a permis de dire que la consanguinité réduit l'âge auquel une femme peut avoir des enfants atteint d'une maladie génétique mais d'une manière statistiquement non significative. Dans une seconde étape, nous avons fait varier la concentration de la L-Glutamine dans le milieu de culture des lymphocytes et elle nous a permis de dire que la concentration la plus adéquate était celle de 0,3 ml/5ml de milieu de culture et qu'une concentration au delà de celle-ci ne donne aucun résultat. Les résultats de notre étude rejoignent ceux de la bibliographie en rejetant l'hypothèse de la relation entre consanguinité et trisomie 21 et qu'aucune augmentation statistiquement significative n'a été observé.

Mots-clés : Trisomie 21, consanguinité, cytogénétique, maladies chromosomique, ouest Algérien, Age maternel moyen, L-Glutamine.

Abstract

In this work we focused on the cytogenetic study of the most common chromosomal diseases in west Algerian population particularly, trisomy 21, by a simple dye technique. We have directed our work into two parts and in two samples. The first sample allowed us to determine the most common genetic disease in the west Algerian population with or without family ties. The study of the second sample had as purpose to determine the most common abnormality in Down syndrome events with related parent's cases. We confirmed that the Down syndrome is the most commonly observed with a 40% rate. All the realized assays allowed us to figure out a relatively high consanguinity rate of 52%. In more over the compared maternal middle age inside both samples, allowed us to point out that, the existing consanguinity influences maternal middle age by reducing women's age having children with genetic diseases, however not in statistically significant manner. In a second step we varied the L-Glutamine concentration in the lymphocytes culture media. This latter showed that 0,3ml/5ml of medium is the most appropriate concentration, over which no positive result can be waited. Results of our work join bibliographic ones, rejecting the hypothesis that consanguinity and trisomy 21 are related when no significant statistical elevation has been observed.

Key words: trisomy 21, consanguinity, cytogenetic, chromosomal diseases, Algerian West, maternal middle age, L-Glutamin