

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE A. MIRA BEJAIA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique

Spécialité : Génétique Fondamentale et Appliquée



Réf :.....

Mémoire de fin d'étude  
En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

# Etablissement des caryotypes de quelques patients atteints de maladies génétiques

Réalisé par :

**AZZOUG Meriem & CHOUAL Fayrouz**

Les membres du jury :

- **Présidente** Mme ATMANI. D Professeur, A. Mira
- **Promotrice** Mme BENMESSAOUD.Y MCB, A. Mira
- **Co-encadreur** Mme BOUAFFAD. Z MA, CHU
- **Examinatrice** Mme RAHMANI M. MAA, A. Mira

2022/2023

# *Dédicace*

*C'est avec un grand plaisir que je dédie ce modeste travail :*

*À l'être le plus cher de ma vie, ma chère mère Saïda.*

*À mon cher père Smail.*

*À mes chers frères (IDRIS, ABDERRAHMAN) et sœurs (CHAIMA et AMINA).*

*À ma chère promotrice D<sup>r</sup> KARTOUT. Epse BENMESSAOUD -Y.*

*À toutes mes amies de la promotion de Master Génétique Fondamentale et Appliquée,*

*Toute personne qui occupe une place dans mon cœur (NADIA, SARA, CHARIHAN,  
IMAN, SILYA).*

*À tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom AZZOUG et  
LETRECHE, je dédie ce modeste travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite,*

*À ma binôme FAYROUZ et sa famille.*

*AZZOUG MERIEM....*

## *Dédicace*

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect,  
La reconnaissance. Aussi, c'est tout simplement que : Je dédie ce  
Modeste travail à...*

*À la personne qui est toujours avec moi, mon très cher père **Rabeh** qui  
a Sacrifié ses jours et ses nuits pour mon éducation et mon bien être, et  
Pour tout ce qu'il a fait pour moi.*

*À ma très chère et douce maman **Zahoua***

*Merci d'avoir été toujours là pour moi*

*A mes très chers frères **Farid** et sa petite famille (**Khadra, Assil,**  
**Kawthar** et **Adam**), **Faham** et sa femme **Fatíha***

*A mes sœurs **Fayza** et sa famille (**Athman, Aya** et **Amel**), **Fatíha** et sa  
petite famille (**Zaydi** et **Rahim**).*

*Qui m'ont toujours soutenue et répondu présents pour moi.*

*À mon fiancé **TARIK** qui a toujours été à mes côtés, ainsi qu'à ma  
belle-famille à commencer par ma belle-mère **Fatíma**, à mon beau père  
**Ali** et à mes belles sœurs **Hassina, Lamia, Fatma, Theldja** et mes  
beaux-frères **Halim** et sa petite famille,*

*A ma très chère enseignante et promotrice Mme **KARTOUT -**  
**BENMESSAOUD.Y.***

*A tous mes enseignants qui m'ont enseigné*

*A toute mes amies principalement, **Yasmina, Fairouz**, en souvenir des  
agréables moments partagés*

*À toi **Meriem** et à toute ta famille, c'est un grand plaisir de travailler  
avec toi.*

*À toute la promo de génétique 2022-2023.*

***Choual Fayrouz***

# *Remerciements*

Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement du **D<sup>f</sup> KARTOUT Epse BENMESSAOUD Yasmine**, nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience et sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire.

Nos sincères remerciements s'adressent également à notre chère Co-encadreur **D<sup>f</sup> BOUAFFAD Zohra** et toute son équipe du service d'Histologie Embryologie et Génétique Clinique du CHU de Tizi Ouzou ; à Mme GUERBAS Lamia, Nawal, Dr FERNANE, Dr CHENANE, AIACHE et Mme MATOUB et principalement les techniciens : **Assia, Nouara et Ourida**.

Nous adressons également nos remerciements au **D<sup>f</sup> ARIZKI M.** pour son aide pratique, son soutien moral et ses encouragements.

Nous adressons également nos remerciements aux membres du jury, à commencer par Mme la présidente Mme ATMANI ainsi que notre examinatrice Mme Rahmani, pour l'honneur qu'elles nous ont fait en acceptant d'évaluer ce travail et de participer à la soutenance.

À tous, nous présentons nos remerciements, notre respect et notre gratitude.

# **Table des matières**

## **Table des matières**

Dédicace	
Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction .....	1

### **Chapitre I: Recherche bibliographique**

I/ La cytogénétique.....	2
I.1/ Historique.....	2
I.2/Définition .....	2
I.3/ Types de la cytogénétique.....	2
I. 3.1/ Cytogénétique conventionnelle .....	2
I.3.2/Cytogénétique constitutionnelle .....	2
I.3.2.1 Types de prélèvement .....	2
I.3.3/Cytogénétique moléculaire .....	3
I.4/Cycle cellulaire (Mitose et interphase) .....	3
I.4/Structure des chromosomes.....	4
I.4.1/ Morphologie du chromosome métaphasique.....	4
I.5/ Caryotype humain .....	6
I.5.1/Techniques de marquage chromosomique .....	7
I.6/Anomalies chromosomiques .....	8
I.6.1/Anomalie de nombre .....	8
I.6.1.1/Polyploïdie .....	8
I.6.1.2/Aneuploïdie.....	9
I.6.2/Anomalie de structure.....	10

### **Chapitre II: Matériels et Méthode**

II.1 / Lieu du stage.....	15
II.2/ Matériel.....	16
II.2.1/Matériel biologique .....	16
II.2.2/ Matériel non biologique .....	16
II.3/Protocole de réalisation d'un caryotype.....	16
II.3.1/ Culture cellulaire .....	16
II.3.1.1 Préparation du milieu de culture.....	16
II.3.1.2/Arrêt de la culture .....	17

II.3.2/ Choc hypotonique .....	18
II.3.2.1/Méthode du choc hypotonique .....	18
II.3.3/ La Fixation .....	19
II.3.3.1/Préparation du fixateur .....	19
II.3.3.2/La préfixation .....	19
II.3.3.3/La première fixation .....	20
II.3.3.4/ Deuxième fixation .....	21
II.3.3.5/ Troisième fixation .....	21
II.4/Etalement des lames.....	22
II.5/ Marquage chromosomique (technique de Banding).....	23
II.5.1/Bandes RHG.....	23
II.6/Coloration des lames.....	23
II.7/Lecture microscopique et établissement d'un caryotype .....	24
<b>Chapitre III: Résultats et Discussion</b>	
III / Résultats et Discussion.....	26
III.1/ Présentation des cas.....	26
III.1.1/ Patient 1 .....	26
III.1.2/ Patient 2 .....	26
III.2/ Résultats .....	27
III.2.1/Patient 1 .....	27
III.2.2/Patient 2 .....	29
III.3/ Discussion.....	34
III.3.1/Patient 1 .....	34
III.3.2/ Patient 2 .....	35
Conclusion.....	38
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

## **Liste des tableaux**

**Tableau I** : Anomalies chromosomiques de structure.....11

**Tableau II** : Description cytogénétique comparative de deux cas atteints de ST..36



## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> Différentes phases du cycle cellulaire (la mitose et l'interphase) .....	4
<b>Figure02:</b> Schéma d'un chromosome métaphasique.....	5
<b>Figure 03 :</b> Classification des chromosomes selon l'indice centromérique.....	5
<b>Figure 04 :</b> Caryotype normal en bande R .....	6
<b>Figure05 :</b> Classification des chromosomes.....	7
<b>Figure06:</b> Caryotype caractérisé par une triploïdie ( <b>69, XXX</b> ) .....	8
<b>Figure07 :</b> Caryotype caractérisé par une tétraploïdie ( <b>92, XXYY</b> ) .....	9
<b>Figure08 :</b> les phénotypes d'un patient atteint du syndrome de patau.....	10
<b>Figure 09 :</b> Récapitulatif des anomalies chromosomiques de structure.....	12
<b>Figure10 :</b> Quelques phénotypes d'une patiente atteinte du syndrome de Turner.....	13
<b>Figure11 :</b> Formation d'un chromosome en anneaux.....	14
<b>Figure12 :</b> Centre de transfusion sanguine.....	15
<b>Figure13 :</b> Etapes de la culture cellulaire.....	17
<b>Figure14 :</b> Arrêt de la culture cellulaire par la colchicine.....	18
<b>Figure15 :</b> Etapes du choc hypotonique.....	19
<b>Figure16:</b> Etapes de la préfixation.....	20
<b>Figure17:</b> La première fixation.....	20
<b>Figure18 :</b> Etape de la deuxième fixation.....	21

<b>Figure 19</b> : Etapes de la dernière fixation.....	22
<b>Figure 20</b> : Etapes de l'étalement.....	23
<b>Figure 21</b> : Coloration des lames.....	24
<b>Figure 22</b> : Microscope photonique relié à un appareil photo numérique (QICAM FAST-1394) .....	25
<b>Figure 23</b> : Métaphase d'un nourrisson de sexe masculin âgé de 10 jours atteint d'une trisomie 13.....	27
<b>Figure 24</b> : Caryotype d'un nourrisson de 10 jours atteint de trisomie 13 homogène ( <b>47, XY+13</b> ) en bandes <b>R</b> .....	28
<b>Figure 25</b> : Métaphases d'une fille âgée de 20 ans atteinte du syndrome de Turner présentant ( <b>46, X r (X)</b> ).....	29
<b>Figure 26</b> : Métaphases d'une fille âgée de 20 ans atteinte du syndrome de Turner présentant ( <b>45, X0</b> ) .....	30
<b>Figure 27</b> : Caryotype normal ( <b>46, XX</b> ) d'une fille saine âgée de 20 ans en bande R.....	31
<b>Figure 28</b> : Caryotype ( <b>46, Xr (X)</b> ) de la fille atteinte du syndrome de Turner en bandes R .....	32
<b>Figure 29</b> : Caryotype ( <b>45, X0</b> ) de la fille atteinte du Syndrome de Turner en bandes R .....	33

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribose nucléique.

**FBS** : Foetal Bovine Serum

**FISH** : hybridation *in situ* en fluorescence.

**H<sub>2</sub>NaO<sub>4</sub>P** : Dihydrogen monosodium phosphate.

**Phase G1** : (gap1) pré-synthèse d'ADN.

**Phase G2** : (gap2) post-synthèse d'ADN.

**KCl** : chlorure de potassium.

**NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : phosphate de sodium monobasique.

**p** : bras court.

**PAR1** : Région pseudo-autosomale 1.

**PAR2** : Région pseudo-autosomale 2.

**POF** : Prematur ovarienne Failure.

**q** : bras long.

**RPMI**: Roswell Pork Mémorial Institute.

**RHG**: Reverse banding using heat and Giemsa.

**RT**: Translocation Robertsenienne.

**Phase S** : Phase de Synthèse d'AND.

**SHOX**: Short Stature Homeobox-contaming Gene.

**ST** : Syndrome de Turner.

**Ts 13** : Trisomie 13.

**Xist**: Inactif Gene of X chromosome.

# **Introduction**

La génétique est la science qui étudie l'hérédité chez les individus. C'est une science relativement jeune, elle a été mise en évidence par Mandel en 1865 (**Elaine, 2008**). La génétique joue un rôle plus ou moins important dans toutes les maladies. En effet, les modifications et les anomalies intervenant sur l'ADN entraînent un dysfonctionnement de l'organisme et engendrent un processus pathologique (maladies génétiques) (**Maria, 2023**).

La cytogénétique est une discipline de la génétique spécialisée dans l'étude des chromosomes, de leurs anomalies génétiques et des maladies liées aux défauts chromosomiques. Elle montre la contribution des aberrations chromosomiques à l'infertilité, aux fausses couches, au trouble du développement et aux malformations congénitales chez le nouveau-né (**Beger, 2006 ; Béri, 2018**).

Le caryotype est décrit depuis 1959, c'est une analyse de référence en cytogénétique. Grâce à cette technique, une étude pangénomique a été réalisée pour la première fois permettant ainsi une analyse globale du génome. La cytogénétique est aussi utilisée pour dépister les anomalies chromosomiques présentes dans les cellules de l'organisme à la naissance et même après (**Lynn, 2004**).

Toutefois, le présent travail a pour but de démontrer que la cytogénétique médicale conventionnelle est toujours d'actualité face aux techniques moléculaires et est considérée comme un outil efficace pour le dépistage des anomalies chromosomiques et génétiques. Ces dernières sont présentes dans toutes les cellules de l'organisme, qu'elles soient constitutionnelles ou acquises ; des anomalies de nombre telles que les aneuploïdies (trisomie 13) ou des anomalies de structure ; qui peuvent être équilibrées ou déséquilibrées (tel le syndrome de Turner associé à un chromosome X en anneau).

Cependant, les chapitres suivants seront axés sur un aspect pratique de la cytogénétique classique. Tout d'abord, nous allons exposer dans le premier chapitre des généralités sur la cytogénétique et les anomalies chromosomiques numériques et de structure incriminées en pathologie humaine. Pour le deuxième chapitre, nous allons citer les techniques utilisées pour la réalisation d'un caryotype tel que la culture cellulaire, la technique de marquage RHG ainsi que les étapes indispensables à l'établissement du caryotype. Enfin, le dernier chapitre sera consacré à la présentation des résultats obtenus que nous discuterons puis nous les comparons avec d'autres cas.

# **Chapitre I**

## **Recherche bibliographique**

## I/ La cytogénétique

### I.1/ Historique

Après la découverte de la chromatine par Fleming en 1879 (**Serre *et al.*, 2013**), la cytogénétique est née pratiquement à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle et qui permet de détecter les anomalies chromosomiques (**Chhil, 2016**). En 1952, Hsu a découvert le choc hypotonique après de multiples analyses et en 1956, la formule chromosomique de l'homme a été précisée par Tijo et Levan (**Dutrillaux *et al.*, 1981**). Lejeune et ses collaborateurs ont décrit la première anomalie chromosomique en 1959 (**Dutrillaux *et al.*, 1981**).

### I.2/Définition

La cytogénétique est une discipline médicale et biologique qui étudie le matériel génétique organisé sous forme de chromosomes structurés, visibles et individualisés. Elle permet ainsi de comprendre l'organisation de la chromatine et la ségrégation du matériel génétique ainsi que la caractérisation (par réalisation de caryotypes) des anomalies chromosomiques de nombre ou de structure de certaines maladies génétiques (**Gorenflot *et al.*, 1980**).

### I.3/ Types de la cytogénétique

#### I. 3.1/ Cytogénétique conventionnelle

La cytogénétique conventionnelle ou classique est une technique qui consiste à réaliser un caryotype qui permet de détecter toutes les anomalies cytogénétiques numériques et structurelles (**Pouw, 2021**).

#### I.3.2/Cytogénétique constitutionnelle

La cytogénétique constitutionnelle étudie la constitution chromosomique de l'individu en période prénatale et postnatale (**Coulibaly, 2020**).

##### I.3.2.1 Types de prélèvement

###### ❖ Prénatal

Le caryotype prénatal étudie la constitution chromosomique du fœtus. Il peut être pratiqué sur 3 types de prélèvements et donc de cellules selon l'âge du fœtus. La technique la plus utilisée est l'amniocentèse réalisée vers 15-16 semaines d'aménorrhée (**Dupont, 2020**).

### ❖ Postnatal

Le caryotype postnatal permet la détection d'un déséquilibre chromosomique, délétion ou duplication (**Caignec, 2011**). Il est réalisé à partir de cellules lymphocytaires, de fibroblastes et de la moelle osseuse.

### I.3.3/Cytogénétique moléculaire

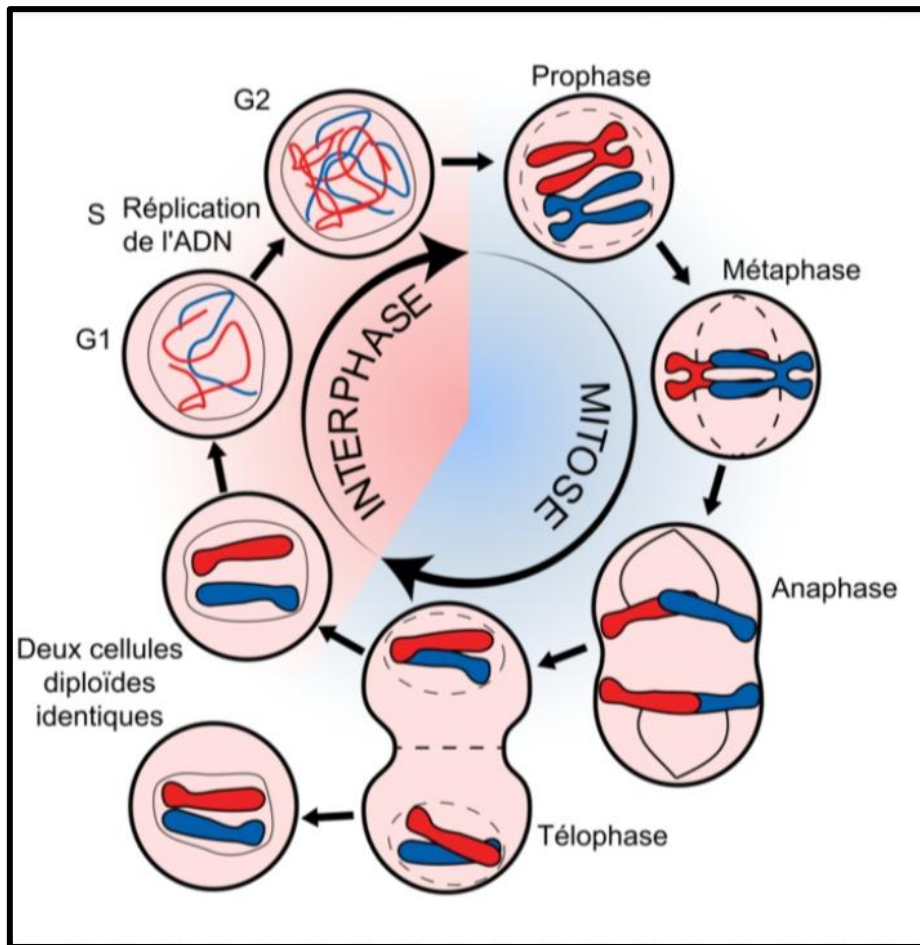
La cytogénétique moléculaire utilise des sondes d'ADN marquées spécifiques, complémentaires à des régions chromosomiques qu'on veut explorer. Elle peut s'appliquer également sur des noyaux interphasiques pour détecter des anomalies de nombre et de structure (**Strachan et al., 2012**).

### I.4/Cycle cellulaire (Mitose et interphase)

**La mitose** est un mécanisme particulier de la division nucléaire qui permet aux cellules filles de recevoir un lot chromosomique diploïde ( $2n$ ) identique à celui que possède la cellule mère (**Lints, 1991**). Ce processus se produit au niveau des cellules somatiques (**Pasternak et al., 2003**) et occupe 10% du cycle cellulaire. C'est la phase de production et de division des chromosomes avant la séparation des cellules filles (cytodiérèse) (**Singer et al., 1992**).

**L'interphase** est la phase qui occupe 90% du cycle cellulaire, elle se compose de trois étapes G1, S et G2. C'est la phase de duplication du matériel génétique (**Singer et al., 1992**). La figure ci-dessous montre le déroulement du cycle cellulaire (**Figure 01**).





**Figure 01** : Différentes phases du cycle cellulaire (la mitose et l'interphase) (National Center for Biotechnology Information, 2013).

## I.4/Structure des chromosomes

### I.4.1/ Morphologie du chromosome métaphasique

Le chromosome métaphasique est constitué de deux chromatides identiques attachées par le centromère (constriction primaire). Les chromosomes métaphasiques diffèrent par leur taille, la disposition de leurs centromères et la présence de satellite (constrictions secondaires) (Figure 02) (Stewart, 2010).

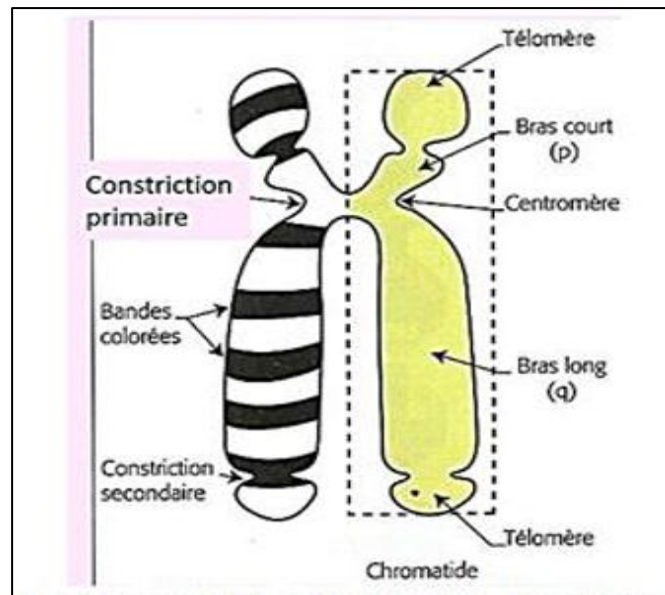


Figure 02 : Schéma d'un chromosome métaphasique (Rezgoun-Chellat, 2020)

Le centromère divise le chromosome en bras long (q) et en bras court (p). Il existe trois types de chromosomes dans l'espèce humaine :

**Métacentrique ou Médiocentrique** : quand le centromère est central, les bras p et q sont égaux ( $p=q$ ). C'est le cas des chromosomes 1, 3, 16, 19 et 20 chez l'homme (Abairrou, 2013).

**Submétacentrique** : quand le bras p est légèrement plus petit que le bras q. C'est le cas du chromosome 2 (Abairrou, 2013).

**Acrocentrique** : quand le centromère se trouve près de l'une des extrémités. C'est le cas des chromosomes : 13, 14, 15, 21, 22 et Y (Abairrou, 2013).

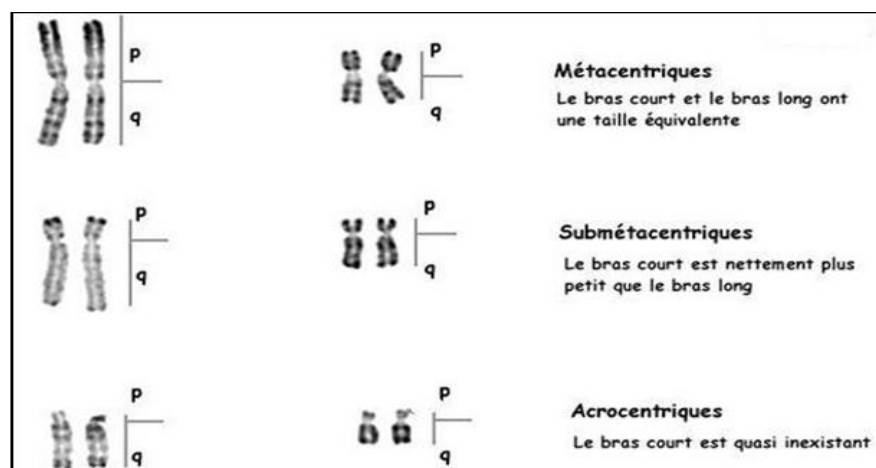
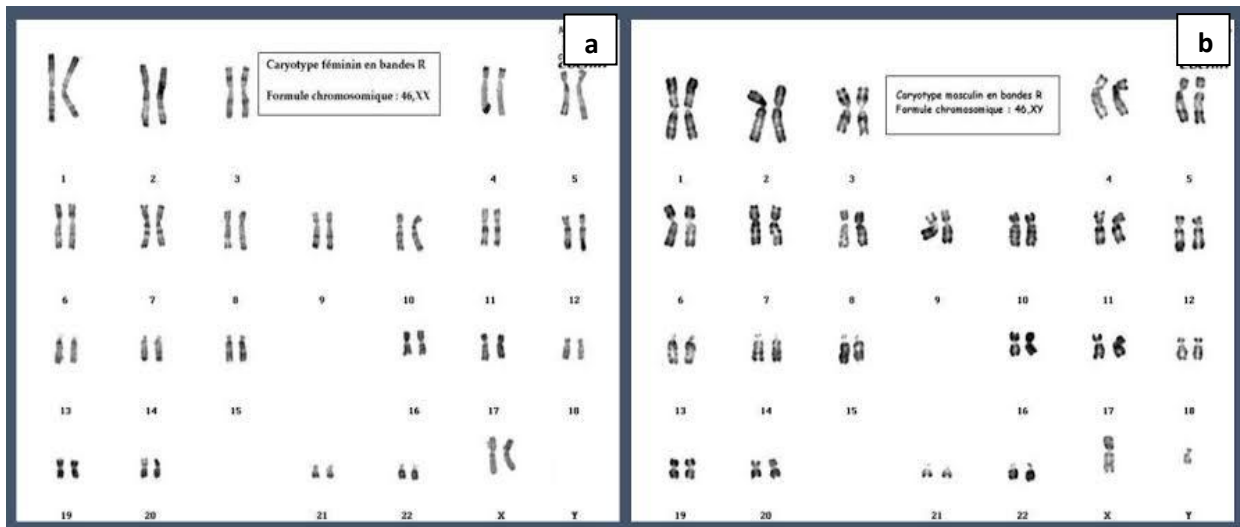


Figure 03 : Classification des chromosomes selon l'indice centromérique (Shaffer et al., 2013).

### I.5/ Caryotype humain

Un caryotype est l'ensemble complet diploïde des chromosomes d'une espèce, d'une cellule, classé par paire et par ordre décroissant de taille et établi sur des cellules somatiques à partir de chromosomes métaphasiques. La cellule humaine a 46 chromosomes (23 paires : 22 paires d'autosomes et une paire de gonosomes (XX pour la femme et XY pour l'homme) (**Figure 04**).



**Figure 04 :** Caryotype humain normal en bande **R** (a) caryotype féminin, (b) caryotype masculin (Amélie *et al.*, 2002).

Dans le caryotype humain normal, les chromosomes sont classés en 7 groupes du plus grand au plus petit (**Figure 05**) :

- Groupe **A** : 1, 2, 3. • Groupe **B** : 4, 5. • Groupe **C** : 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X.
- Groupe **D** : 13, 14, 15. • Groupe **E** : 16, 17, 18. • Groupe **F** : 19, 20.
- Groupe **G** : 21, 22, Y (Abairrou, 2013).

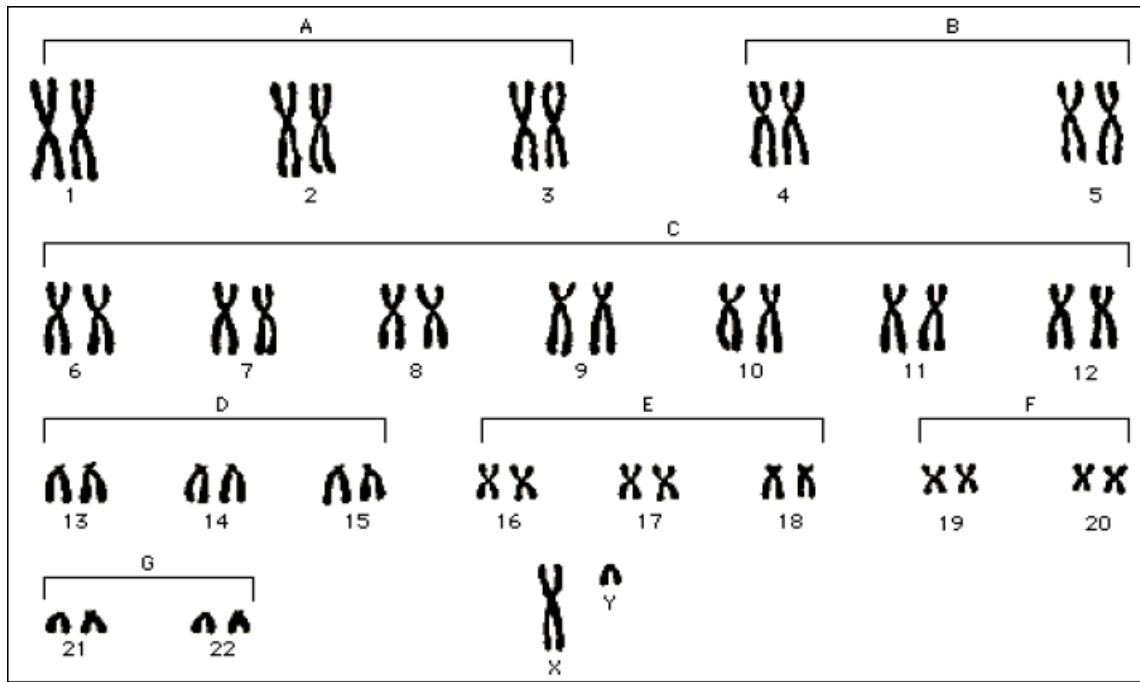


Figure 05 : Classification des chromosomes (Hamerton, 2013).

Un caryotype anormal montre un chromosome en plus (trisomie) ou un chromosome en moins (monosomie) (Jorde *et al.*, 2004).

### I.5.1/Techniques de marquage chromosomique

La classification des chromosomes selon la position des centromères et la longueur des bras a été rapidement dépassée depuis l'apparition des techniques de marquage en 1970. Ces techniques de bandes permettent d'individualiser chaque chromosome par des bandes caractéristiques et permet une classification précise (Muleris *et al.*, 1996).

Ces méthodes permettent de visualiser 300 à 500 bandes par lot haploïde de chromosomes :

❖ **Les bandes Q** : ce sont les bandes fluorescentes à la quinacrine, l'observation se fait avec un microscope à rayons UV. Il apparaît une alternance de bandes fluorescentes et de bandes non fluorescentes. Le banding Q colore les régions riches en Adénine et Thymines (Strachan, 2012).

❖ **Les bandes G** : Les chromosomes sont traités à la trypsine (enzyme) puis colorés au Giemsa. Ils sont ensuite observés au microscope optique ordinaire. Les résultats sont les mêmes que le banding Q (bandes sombres correspondant aux bandes fluorescentes et bandes claires aux bandes non fluorescentes) (Jorde *et al.*, 2004).

❖ **Les bandes R (Reverse) :** Les chromosomes sont traités par la chaleur puis colorés au Giemsa. Les bandes obtenues sont inverses par rapport aux deux techniques précédentes, elle colore ainsi les régions riches en Cytosine et Guanine (GC) (**Echard, 1973**).

❖ **Les bandes C (Centromère) :** C'est une technique qui colore surtout les centromères et la partie distale du chromosome Y (**Strachan, 2012**).

❖ **Les bandes T (Téломère) :** C'est une technique qui colore surtout les télomères (extrémités des chromosomes) (**krahn, 2016**).

## I.6/Anomalies chromosomiques

Les anomalies chromosomiques sont des mutations rares qui entraînent des changements du **nombre** ou de la **structure** des chromosomes (**Viotti, 2020**).

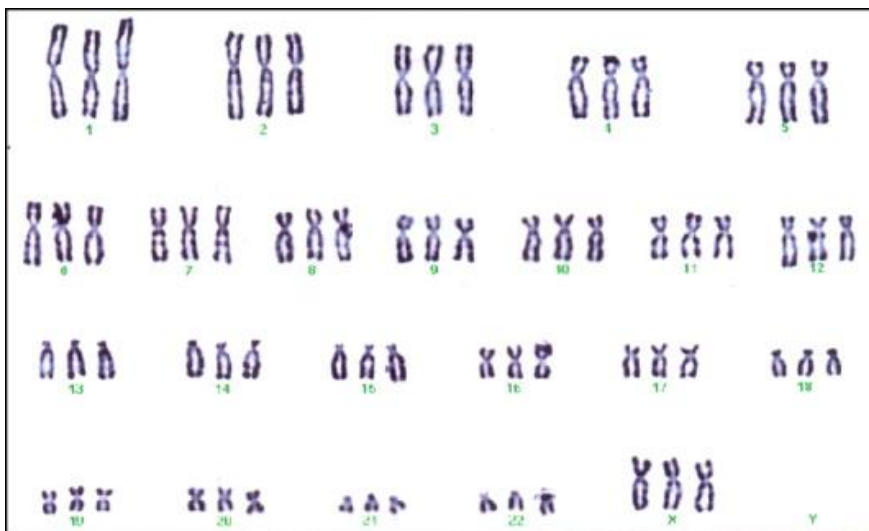
### I.6.1/Anomalie de nombre

#### I.6.1.1/Polyploïdie

La polyploïdie est définie par la présence d'un nombre total de chromosomes multiple entier supérieur à deux par rapport au lot haploïde (23 chromosomes, X). Ces anomalies sont létales (**Jorde et al., 2004**).

#### ❖ Triploïdie

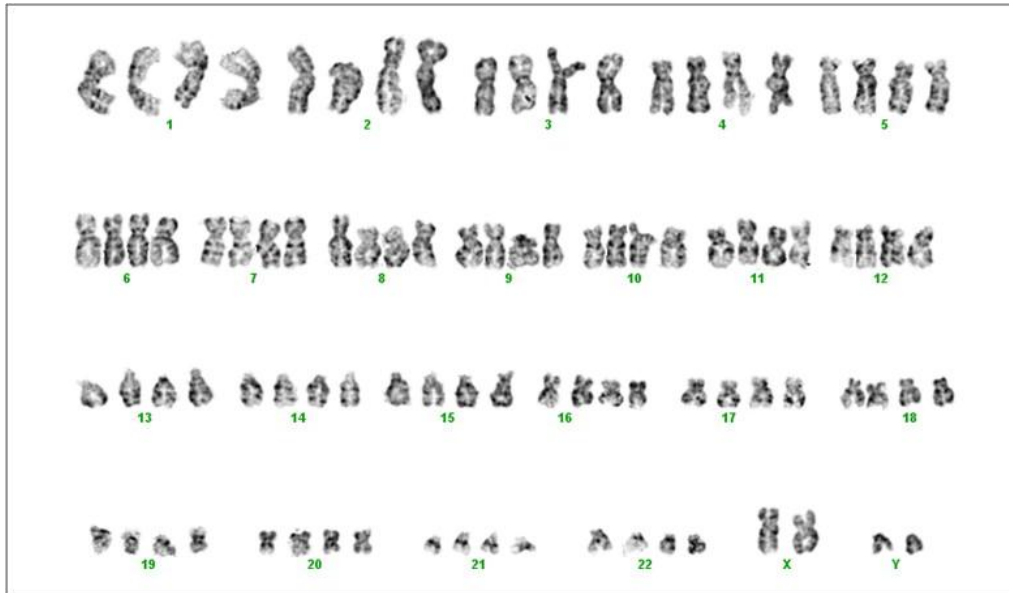
Présence de trois jeux complets de chromosomes (69 chromosomes) dans chaque noyau cellulaire (**Figure 06**) (**Donnai, 2009**).



**Figure 06 :** Caryotype caractérisé par une triploïdie (69, XXX) (**Ben hamouda et al., 2010**)

### ❖ Tétraploïdie

La tétraploïdie est la présence de quatre jeux complets de chromosomes (92) dans chaque noyau cellulaire (**Figure 07**) (**Jorde et al., 2004**).



**Figure 07** : Caryotype caractérisé par une tétraploïdie (92, XXYY) (**Bothur, 2013**).

### I.6.1.2/Aneuploïdie

L'aneuploïdie se définit par la présence d'un nombre total de chromosomes anormal mais différent d'un multiple entier du lot haploïde (**Strachan et al. 2012**).

#### ❖ Monosomie

La monosomie est la présence d'une seule copie d'un chromosome dans une cellule diploïde non viable à l'exception du syndrome de Turner (ST) (45, X0) (**Jorde et al., 2004**).

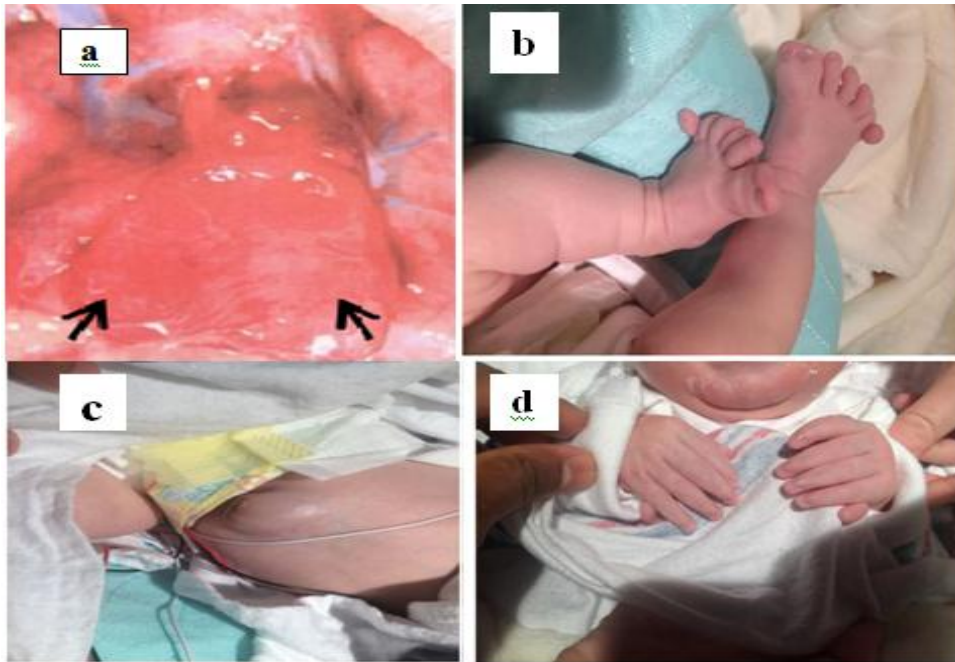
#### ❖ Trisomie

La trisomie est la présence de trois copies d'un chromosome dans une cellule diploïde généralement non viable sauf la trisomie 21, 18 et rarement la trisomie 13 (47, XX +13) ou (47, XY+13) (**Strachan et al., 2012**).

#### La trisomie 13

La trisomie 13 ou le syndrome de Patau (**Gill et al., 2022**) est une maladie génétique chromosomique très rare (**Satgé et al., 2017**), découverte en 1960 par le Dr américain Klaus Patau (**Merritt, 2013**). Il s'agit d'un chromosome supplémentaire présent dans le matériel

génétique des cellules de l'enfant dans la phase fœtale (Merritt, 2013), ce chromosome est le 13. Cette maladie touche 1/10000-20000 des naissances (Slavotink *et al.*, 2021). Elle est associée à de graves anomalies physiques dans le corps tel que les malformations cardiaques, les anomalies du cerveau et la moelle épinière, les enfants atteints de la T13 ont des yeux très petits ou mal développés, des doigts et des orteils en plus ; une ouverture dans la lèvre (fente labiale) et des cas avec une ouverture dans le palais (fente palatine) et naissent généralement avec un faible tonus musculaire (hypotonie) (Figure 08) (Lamy, 1998 ; Merritt, 2013).



**Figure 08:** Phénotypes d'un patient atteint du syndrome de patau. (a) troubles cardiaques, (b) polydactylie postaxiale et syndactylie des pieds, (c) omphalocèle non remplu, (d) ongles hyperconvexes et polydactylie posaxiale des mains (Staso *et al.*, 2017).

Les enfants trisomiques ont un caryotype de 47, XY+13 pour les mâles et de 47, XX+13 pour les femelles (Génétique médicale, 2009), qui signifie que c'est une maladie chromosomique de nombre (Traore *et al.*, 1997). La plupart des enfants atteints meurent dans les premiers jours ou les premières semaines de leur vie, seulement 5-10% qui vivent jusqu'à l'âge de 6 mois et rarement à l'âge de plus d'un an (Staso *et al.*, 2018 ; Pauline *et al.*, 2020 ; Foguet *et al.*, 2008).

### I.6.2/Anomalie de structure

Les anomalies de structure sont la conséquence d'un réarrangement du matériel chromosomique (tableau I), (Stewart, 2010).

❖ **Anomalies équilibrées** : elles ne modifient pas le contenu génétique des cellules et ne se traduisent pas par une anomalie du phénotype (**Donnai *et al.*, 2008**).

❖ **Anomalies déséquilibrées** : elles se traduisent par une anomalie du phénotype, manifestations cliniques d'autant plus marquées que le déséquilibre est important (**Huret *et al.*, 2021**).

On différencie les anomalies de structure touchant un seul chromosome, des anomalies de structure touchant deux chromosomes qui impliquent un échange de matériel génomique.

**Tableau 1** : Anomalies chromosomiques de structure (**Jorde, 2004 ; Strachan, 2012**).

(A.S : anomalie de structure)

A.S	Nom	Définition	Type
Un seul chromosome	<b>Délétion</b>	Perte d'un fragment de chromosome <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Interstitielle</b> fragment intermédiaire, deux points de cassure</li> <li>• <b>Terminale</b> l'extrémité d'un bras, un seul point de cassure</li> </ul>	déséquilibrée
	<b>Duplication</b>	Présence en double exemplaire d'une région chromosomique	déséquilibrée
	<b>Inversion</b>	Résulte de deux cassures sur un même chromosome suivi de réparation après inversion du segment intermédiaire <ul style="list-style-type: none"> <li>• Inversion péricentrique les points de cassure sont localisés de part et d'autre du centromère</li> <li>• Inversion paracentrique les cassures sont localisées sur un même bras chromosomique</li> </ul>	équilibrée
	<b>anneau</b>	Un chromosome de forme circulaire	déséquilibrée
Deux chromosomes	<b>isochromosome</b>	Malformation chromosomique relativement fréquente au niveau du chromosome X. Résultat de la division transversale et non pas longitudinale, constitué soit de deux bras longs ou deux bras courts	déséquilibrée



	<b>Translocation réciproque</b>	<p>Impliquant deux chromosomes, après cassure sur chacun des chromosomes impliqués</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Perte</li> </ul>	équilibrée
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Non perte</li> </ul>	Déséquilibrée
	<b>Translocation robertsonienne</b>	<p>Impliquant deux chromosomes acrocentriques 13, 14, 15, 21, 22. Elle consiste en une fusion des chromosomes avec perte des bars courts.</p>	Equilibrée
	<b>Insertion</b>	<p>Cas particulier de translocation où un fragment de chromosome est inséré au sien d'un autre (nécessite trois points de cassure).</p>	équilibrée

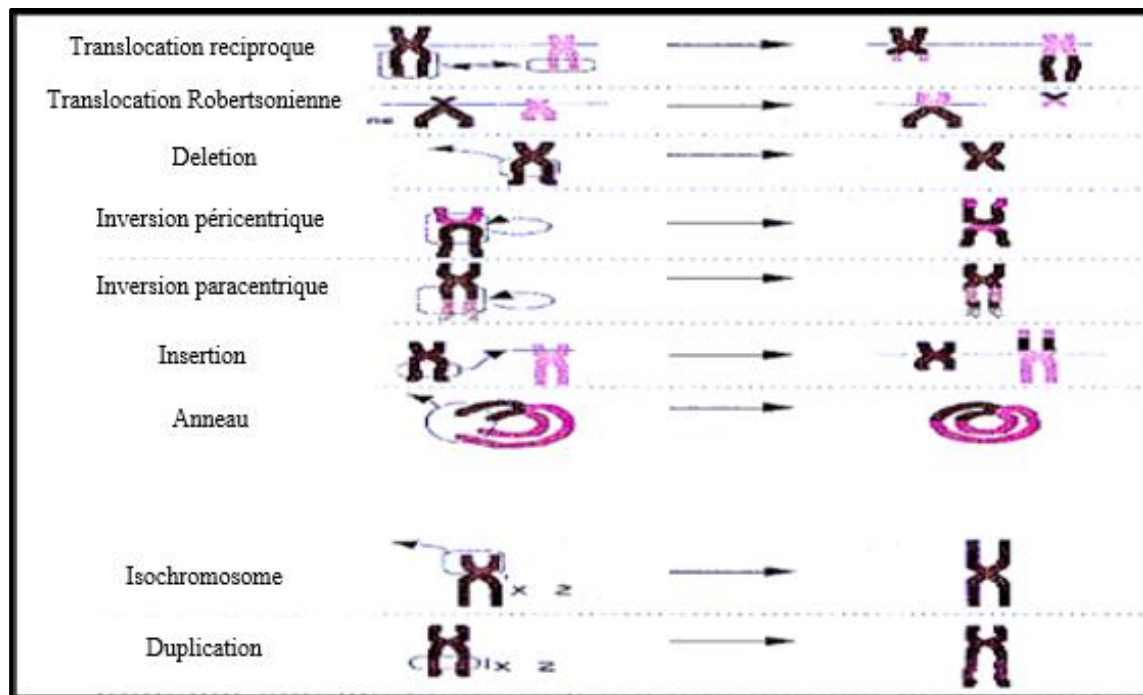


Figure 09 : Récapitulatif des anomalies chromosomiques de structure (Huret *et al.*, 2012).

❖ **Syndrome de Turner (ST)**

Le syndrome de Turner a été découvert par le médecin américain Henri TURNER en 1938 (Yelouassi, 2021). Le ST ou monosomie X, est une maladie génétique rare, associée à une

anomalie au niveau du chromosome sexuel (**Groupe de Boeck, 2009**). Elle est définie par la perte totale ou partielle du deuxième gonosome X (**Ramirez, 2016**). Elle touche environ 1/2500 nouveau-nés féminins (**Karhn et al., 2016**).

#### ❖ Phénotype

Le ST appelé aussi dysgénésie gonadique, une maladie accompagnée d'une insuffisance ovarienne et d'un retard structural (**Cronshaw et al., 2019**), d'une petite taille, d'un lymphœdème des mains et des pieds, d'un cou palmé et des malformations cardiaques et rénales (**Figure 10**) (**Karhn et al., 2016**).



**Figure 10** : Quelques phénotypes d'une patiente atteinte du syndrome de Turner. (a) petite taille, obésité, cou palmé, raccourcissement des membres, hyperlordose, thorax bombé, (b) visage : oreilles basses, lèvres pleines, strabisme divergent des yeux, (c) lymphœdème des mains apparaît dès la naissance (**Rodríguez et al., 2023**).

Cette anomalie chromosomique survient avant ou pendant la division cellulaire et peut entraîner une perte complète ou partielle du deuxième chromosome sexuel. Plusieurs variantes de caryotypes existent notamment, la délétion du bras court ou long,

l'isochromosome et le mosaïsme (une combinaison de deux lignées cellulaires (45, X0 / 46, XX)) (Karhn *et al.*, 2016).

Nous avons l'X en anneau (46, Xr (X)) (ring chromosome), est une anomalie formée par des ruptures terminales des deux bras du chromosome (avec perte de matériel génétique) formant un anneau court. Comme il peut être formé par la fusion des deux télomères sans délétion induisant la formation d'un anneau complet (Figure 11) (Jorder *et al.*, 2016).

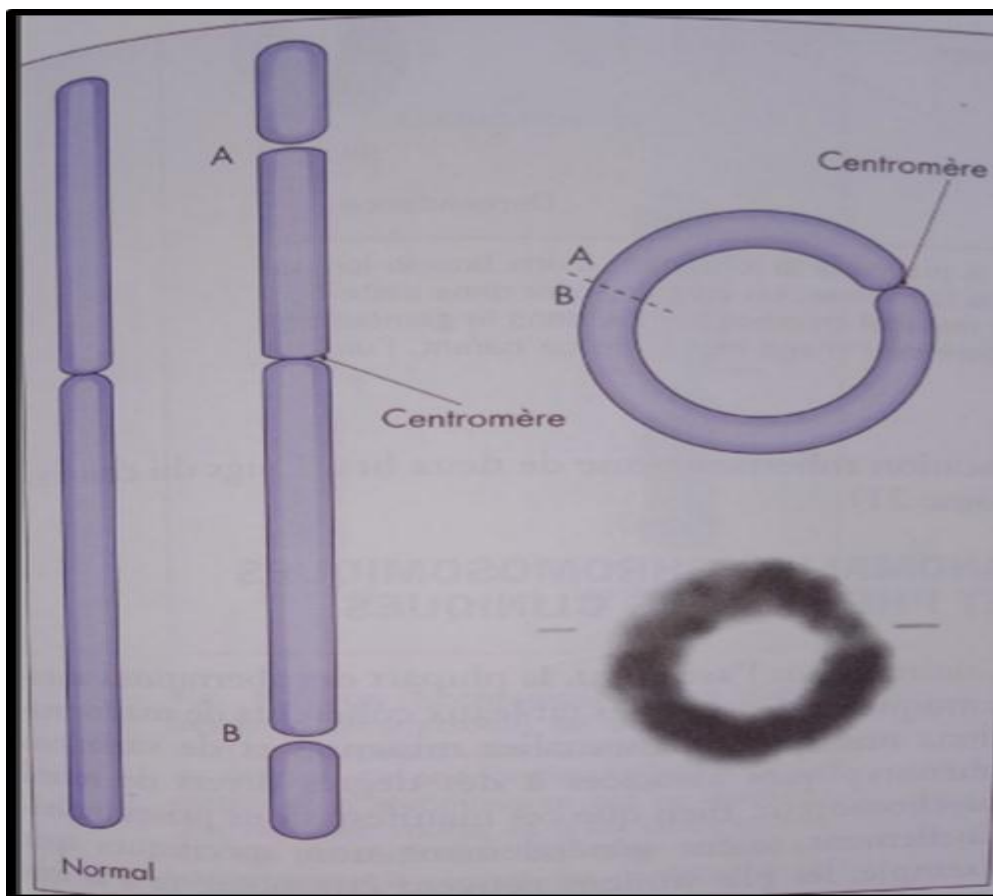


Figure 11 : Formation d'un chromosome en anneau (Jorder *et al.*, 2004).

# **Chapitre II**

## **Matériels et Méthode**

## II.1 / Lieu du stage

Le centre hospitalier dans lequel nous avons travaillé se situe à la rue LAMALI Ahmed dans la wilaya de TIZI-OUZOU. C'est un établissement public sanitaire et social. Créé en 2008, composé de plusieurs services : Toxicologie, Histologie Embryologie et Génétique clinique, Centre de transfusion sanguine, un laboratoire d'Immuno- Hématologie, et un laboratoire de Contrôle de qualité et de Sérologie (**Figure 12**).



**Figure 12** : Centre de transfusion sanguine (photo originale).

Nous avons travaillé au service d'Histologie Embryologie et Génétique clinique qui est dirigé par Dr. BOUAFFAD Zohra (médecin chef) depuis 2017 jusqu'aujourd'hui.

Le service se situe au deuxième étage du centre de transfusion sanguine.

Les objectifs de ce service sont d'établir des caryotypes pour répondre aux besoins de prise en charge médico-sociale et sanitaire des personnes.

## II.2/ Matériel

### II.2.1/Matériel biologique

Pour réaliser un caryotype, il est nécessaire d'obtenir des cellules en voie de division, à un stade où les chromosomes sont déposés pour être séparés les uns des autres (plaque métaphasique).

Nous utilisons soit un tissu riche en division cellulaire soit le plus souvent des cellules mises en culture issues de différents tissus (fibres de peau, le liquide amniotique tissulaire, la moelle osseuse et les cellules sanguines). Le sang est le tissu le plus fréquemment utilisé pour la simplicité du prélèvement et la rapidité de la culture.

Dans le cadre de ce travail, le prélèvement de sang total frais de deux patients ont été recueillis dans des tubes héparines.

**Patient 1** : il s'agit d'un nouveau-né de 10 jours, avec un syndrome modère, syndrome poly-malformatif et une ambiguïté sexuelle.

**Patient 2** : il s'agit d'une fille de 20 ans, née par césarienne de parents non consanguins, diagnostiquée comme atteinte du syndrome de Turner.

### II.2.2/ Matériel non biologique

(Voir annexe)

## II.3/Protocole de réalisation d'un caryotype

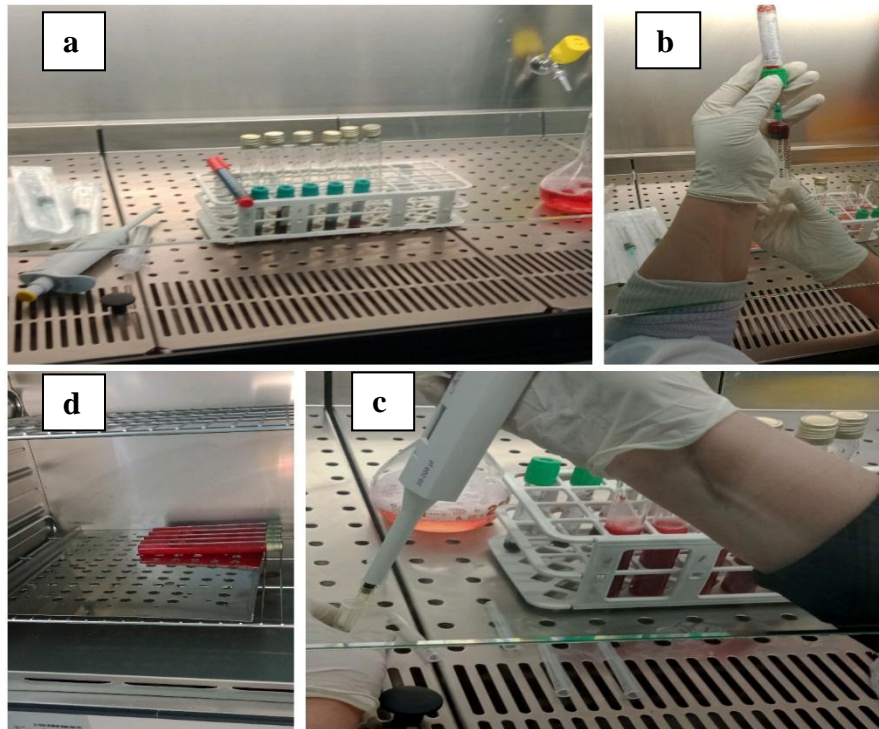
### II.3.1/ Culture cellulaire

#### II.3.1.1 Préparation du milieu de culture

(Voir annexe)

A l'aide d'une seringue, nous avons prélevé 1 ml de sang complet du patient qu'on a rajouté le dans un tube préalablement rempli de 10 ml de milieu de culture et auquel on a rajouté 150 $\mu$ l de phytohémagglutinine.

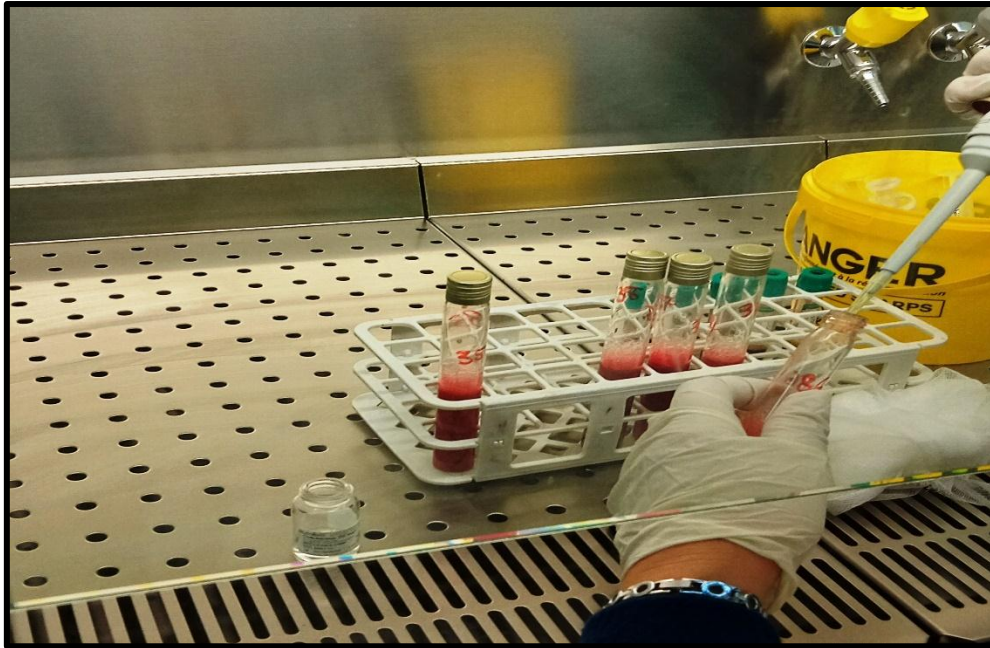
Nous avons rebouché puis agité les tubes que nous avons placé dans une étuve en position inclinée pendant 72h à 37 °C pour que les cellules atteignent leur prolifération jusqu'au stade métaphasique (**Figure 13**).



**Figure 13 :** Etapes de la culture cellulaire. (a) matériel et réactifs utilisés pour faire une culture cellulaire, (b) ajout du sang total, (c) l'ajout de la phytohérmagglutinine, (d) conservation des tubes dans l'étuve (photos originales).

### II.3.1.2/Arrêt de la culture

Après l'incubation (phase de multiplication), nous avons introduit 75 $\mu$ l de la **colchicine** dans chaque tube qu'on a mélangé puis remis dans l'étuve pendant 2h pour bloquer la formation du fuseau mitotique (Figure 14).



**Figure 14** : Arrêt de la culture cellulaire par la colchicine (**photo originale**).

**NB** : colchicine inhibe la polymérisation des microtubules (bloque les chromosomes en métaphase)

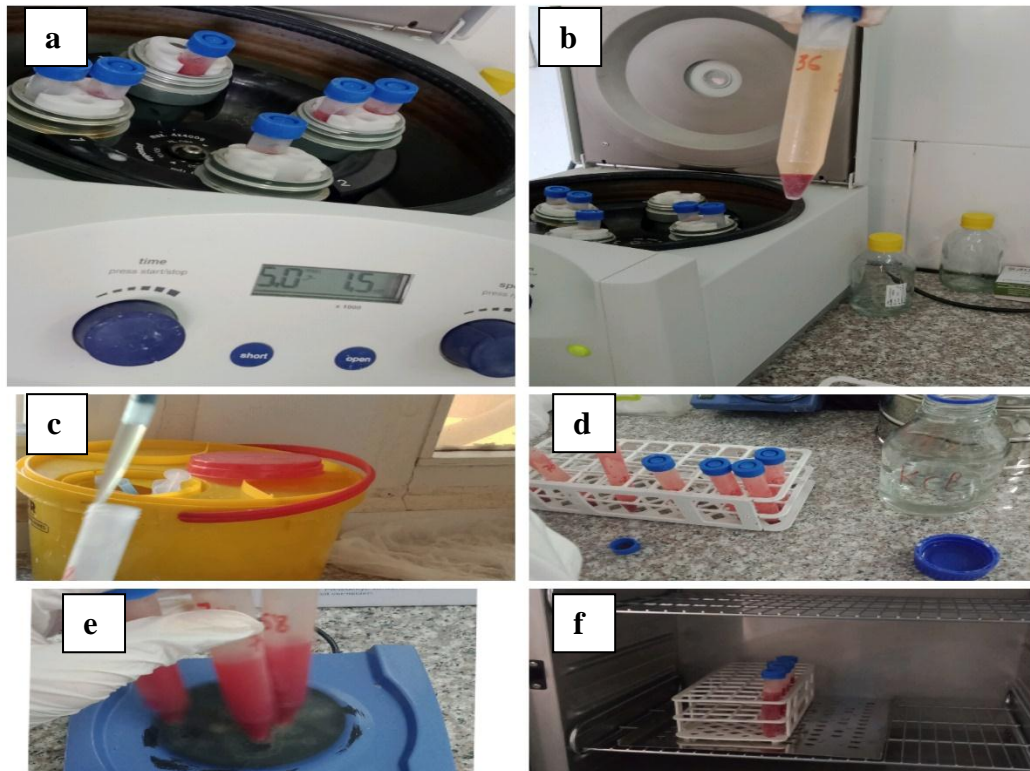
### **II.3.2/ Choc hypotonique**

La solution de chlorure de potassium(KCl) est une solution hypotonique utilisée pour le gonflement des cellules et l'éclatement de la membrane nucléaire afin d'obtenir une distribution adéquate des chromosomes pendant la métaphase.

#### **II.3.2.1/Méthode du choc hypotonique**

Après l'incubation, nous avons récupéré les tubes qu'on a versé dans d'autres tubes jetables puis on les a centrifugés durant 5 min à 1500 tours/min. Nous avons éliminé le surnageant et on a gardé le culot auquel on a rajouté 2 ml de KCl dans chaque tube pour la première étape. Nous avons très bien agité avec un agitateur. En deuxième étape on a ajouté 8 ml de KCl et on les a agités encore une fois jusqu'à l'obtention d'une solution homogène. Les tubes ont été remis dans l'étuve pendant 25 min (**Figure 15**).





**Figure 15** : Etapes du choc hypotonique, (a) centrifugation des tubes, (b, c) élimination du surnageant, (d) ajout de KCl, (e) agitation des tubes, (f) mise des tubes dans l'étuve (**Photo originale**)

### II.3.3/ La Fixation

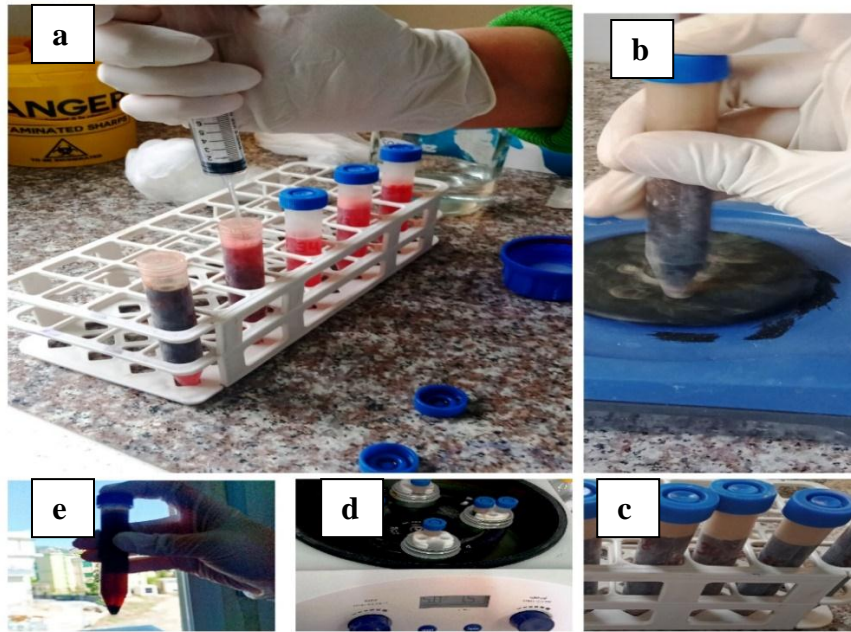
La fixation se fait en quatre étapes :

#### II.3.3.1/Préparation du fixateur

(Voir annexe)

#### II.3.3.2/La préfixation

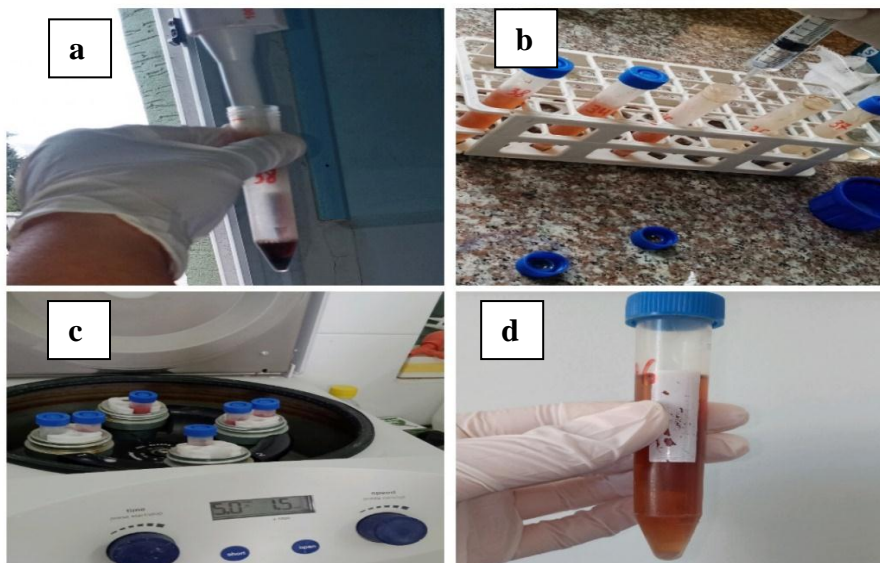
Nous avons ajouté 2 ml du fixateur dans tous les tubes en même temps et on les a laissés au repos pendant 5 min sur la paillasse puis on les a centrifugés à 1500 tours/5 min. Après la centrifugation, nous avons éliminé le surnageant (**figure 16**).



**Figure 16 :** Etapes de la préfixation, (a) ajout de fixateur, (b) agitation des tubes, (c) laisse en repos, (d) centrifugation, (e) tube après centrifugation (**Photos originales**).

### II.3.3.3/La première fixation

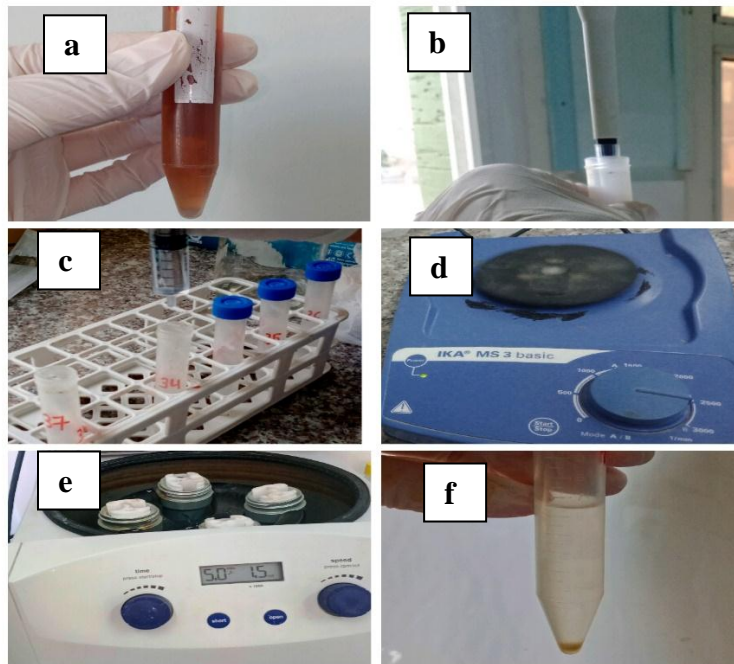
Nous avons ajouté 10 ml de fixateur et on a laissé les tubes 15 min sur la paillasse. On les a centrifugés à 1500tours/5 min puis nous avons éliminé le surnageant (**figure 13**).



**Figure 17 :** la première fixation (a) élimination de surnageant, (b) ajout du fixateur, (c) centrifugation des tubes, (d) tube après centrifugation (**photos originales**).

### II.3.3.4/ Deuxième fixation

Pendant cette étape, nous avons rajouté 10 ml de fixateur (en une seule fois) puis on a laissé les tubes au repos pendant 5 min ensuite on les a centrifugés puis on a éliminé le surnageant (**Figure 18**).

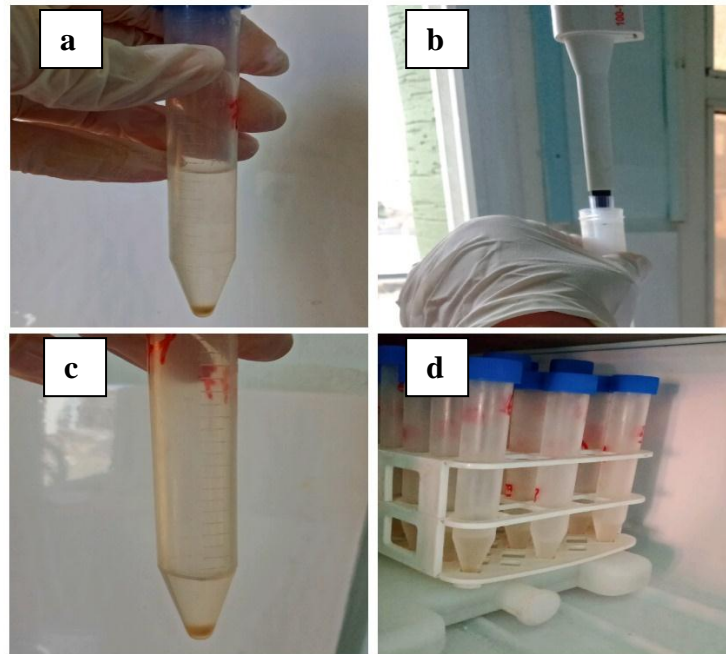


**Figure 18** : étape de la deuxième fixation, (a, b) élimination du surnageant, (c) ajout de fixateur, (d) agitation, (e) centrifugation, (f) tube après centrifugation (**photos originales**).

### II.3.3.5/ Troisième fixation

Pour la dernière étape de fixation, on a rajouté 5 ml de fixateur puis on a laissé en repos pendant 5 min (facultatif). Nous avons centrifugé les tubes à 1500t/5 min puis on a éliminé une partie du surnageant tout en gardant un volume égal à deux fois le volume du culot (**figure 19**).

**NB** : Après chaque dose de fixateur on agite bien à l'aide d'un agitateur.



**Figure 19** : Etapes de la dernière fixation, (a) tube après centrifugation, (b) élimination du surnageant, (c) le volume de surnageant égal à deux fois le volume de culot, (d) mise au congélateur (**photos originales**).

#### II.4/Etalement des lames

Le culot obtenu après la dernière fixation sert pour l'étalement des métaphases sur lames de verre, humidifier (la chambre humide thermothron).

La préparation est alors étalée à l'aide d'une pipette pasteur en laissant tomber quelques gouttes (1 à 4) de la suspension cellulaire sur une lame propre placée sur un bac à glace à une distance de 30 cm (pour la bonne dispersion des chromosomes) et avec un angle de 45°. Ensuite les lames doivent être séchées avec un bec benzène puis conservées dans un endroit stérile pendant 24h ainsi on peut passer à l'étape de la coloration (**figure 20**).



**Figure 20 :** Etapes de l'étalement, (a) numérotation des lames, (b) pipetage de la solution, (c) dépôt des gouttes sur la lame, (d) séchage de la lame (photos originales).

## II.5/ Marquage chromosomique (technique de Banding)

### II.5.1/Bandes RHG

#### Principe

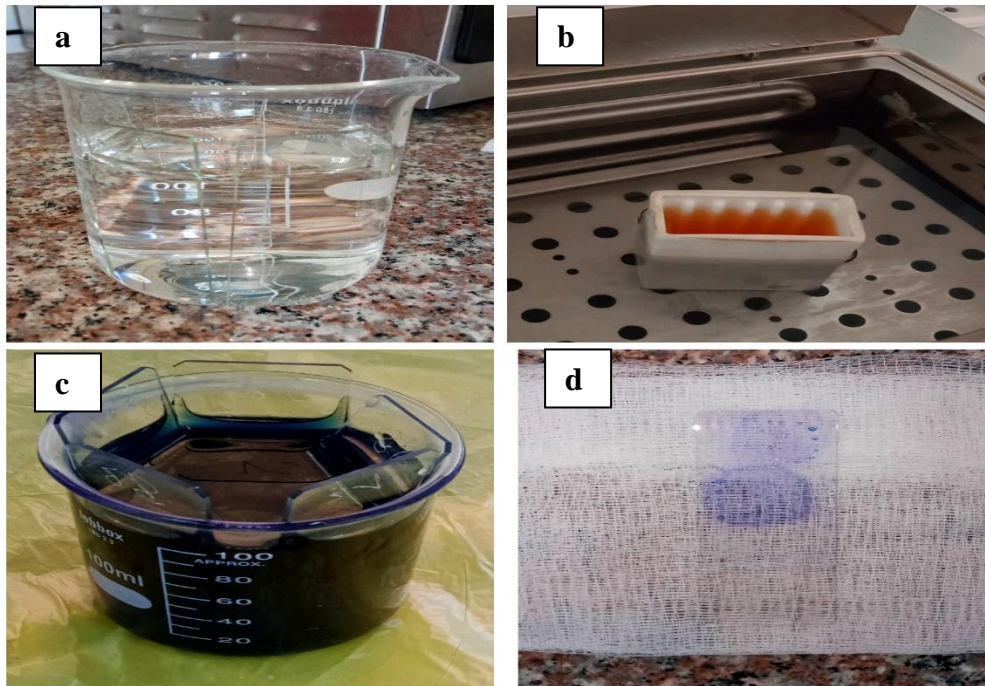
La RHG-banding est une méthode apparue dans les années 70, qui a permis d'obtenir des bandes sombres et claires par une dénaturation thermique à 85°C et une coloration au Giemsa. Elle cible les régions riches en AT (par la cassure des liaisons entre l'adénine et la thymine au niveau des bandes R des chromosomes) (Strachan *et al.*, 2012).

Cette technique a été réalisée dans un bain-marie avec une température de 88.9 °C et une solution saline équilibrée d'Earle qui permet la dénaturation des chromosomes suivie d'une coloration au Giemsa.

### II.6/Coloration des lames

Il existe des colorants qui permettent de visualiser la chromatine grâce à leur affinité pour l'ADN ou les protéines qui lui sont associées. Le plus couramment utilisé est le Giemsa qui est une association de trois colorants de base et qui donne une coloration rose violacée de la chromatine en lumière visible (Dolan, 2011).

Nous avons mis les lames dans un bécher rempli d'eau distillée tiède pendant 20 min, puis dans une solution saline pendant 1h, après nous les avons fait sortir puis rincé légèrement avec de l'eau distillée. Ensuite, on les a déposés dans la solution de coloration pendant 10 min, après on les a rincés avec l'eau distillée. Enfin, les lames étaient prêtes pour lecture microscopique (**Figure 21**).



**Figure 21** : Coloration des lames (a) hydratation des lames, (b) placement des lames dans un bain marie, (c) coloration avec du Giemsa, (d) lame colorée après séchage (**photos originale**).

### II.7/Lecture microscopique et établissement d'un caryotype

Les lames ont été ensuite analysées au microscope (Olympus BX61) spécifique à contraste de phase, afin d'estimer le nombre et la qualité des chromosomes. Les métaphases sont photographiées et acquises par la caméra et l'ordinateur annexés au microscope. Les chromosomes sont classés automatiquement grâce à un logiciel particulier de caryotypage (Lucky 5) (**Figure 22**).



Figure 22 : Microscope photonique annexé d'un appareil photo numérique (photo originale).

# **Chapitre III**

## **Résultats et Discussion**



### **III / Résultats et Discussion**

#### **III.1/ Présentation des cas**

##### **III.1.1/ Patient 1**

Il s'agit d'un nouveau-né de 10 jours né en milieu hospitalier par césarienne administré au service d'Histologie Embryologie et Génétique Clinique du CHU de Tizi Ouzou à cause d'un syndrome modéré avec un polymalformatif et une ambiguïté sexuelle.

##### **Symptômes et antécédents**

Présence d'un hématome sous durale.

Présence d'une hydronéphrose (Distension des cavités excrétrices du rein par accumulation d'urine) et une cécité (absence partielle ou totale de la vision).

Sa mère avait 41 ans, présentant un diabète gestationnel et un RPM (rupture prématurée des membranes).

Sa mère n'a suivi aucun traitement médicamenteux pendant la gestation.

Absence de cas de trisomiques dans sa famille.

##### **III.1.2/ Patient 2**

Il s'agit d'une fille âgée de 20 ans, née en milieu hospitalier par césarienne, administrée au service d'Histologie Embryologie et Génétique Clinique du CHU de Tizi Ouzou à cause d'un retard de croissance et un problème ovarien.

##### **Symptômes et antécédents**

Petite taille, phénotype normal.

Ménarchie à l'âge de 12 ans et un cycle régulier jusqu'à l'âge de 16 ans (mise sous traitement).

Bilan hormonal anormal (des taux FSH et LH).

L'échographie montre un abdomen pelvien et une insuffisance ovarienne bilatérale.

Sa mère n'a suivi aucun traitement médicamenteux pendant la gestation.

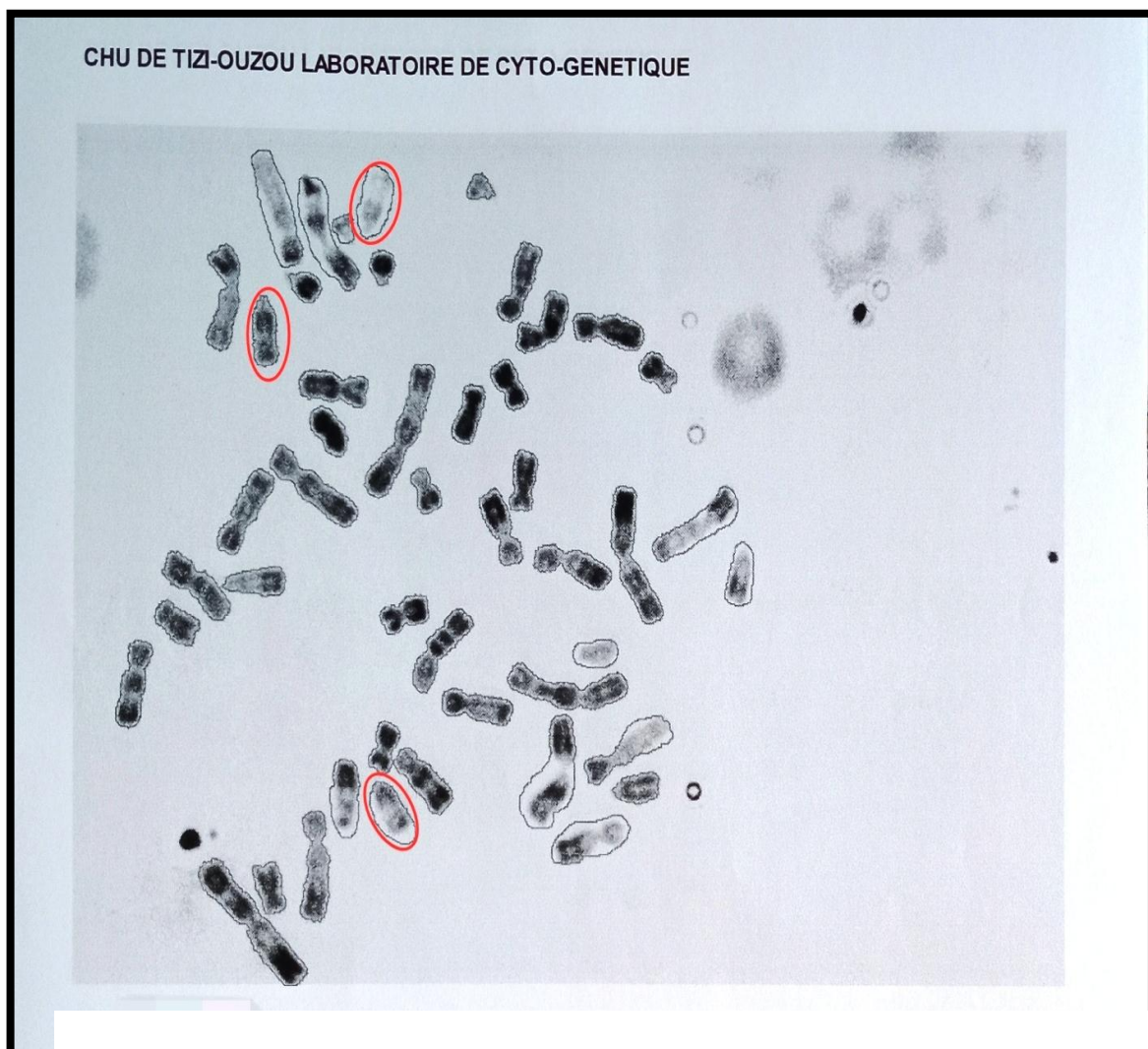
Ses parents sont non consanguins.

## III.2/ Résultats

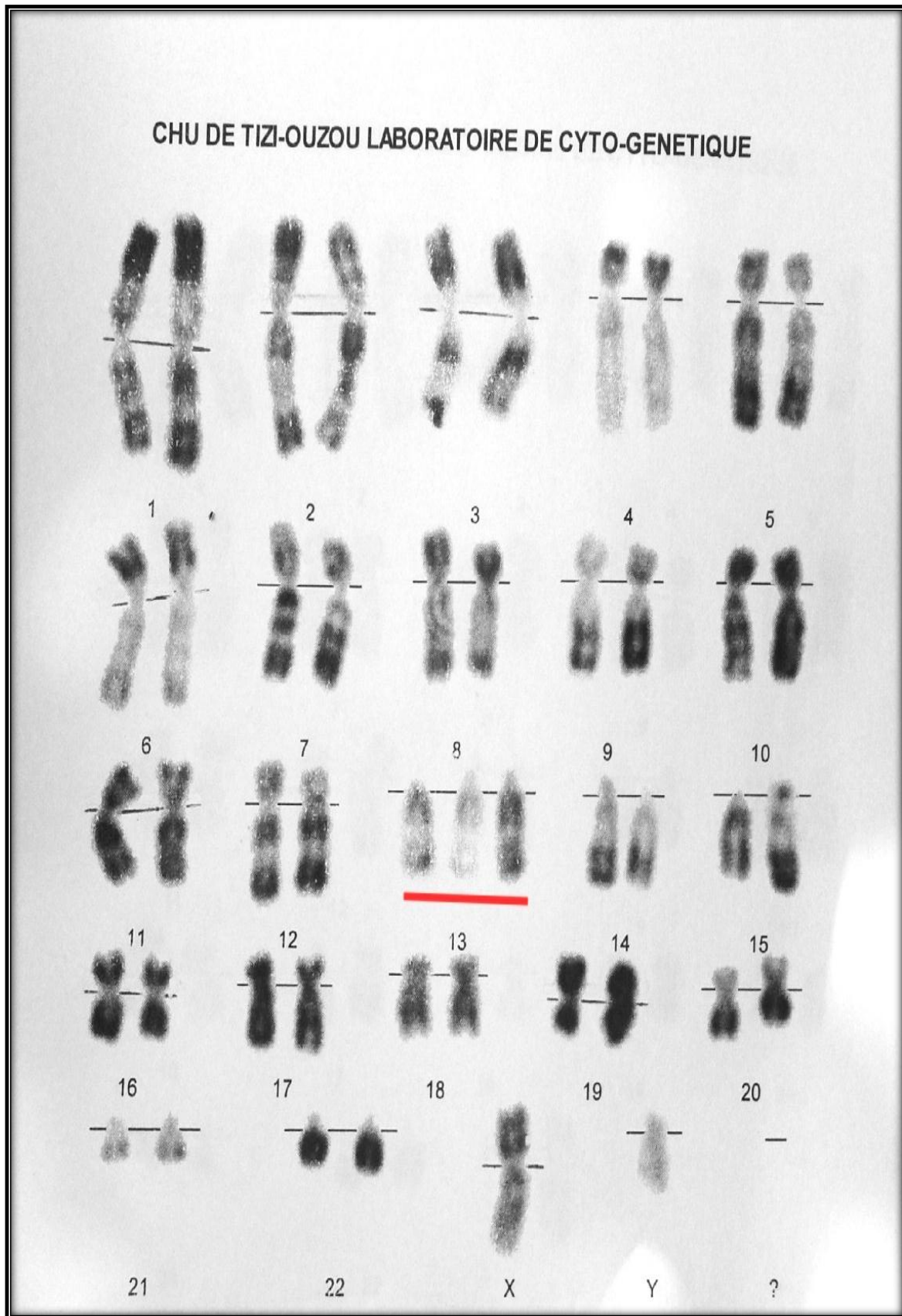
### III.2.1/Patient 1

Au sein du laboratoire su-cité, nous avons établi des caryotypes à partir de prélèvements sanguins. En effet, nous avons réalisé une culture des cellules sanguines suivie de la technique de marquage chromosomique (bandes RHG). Sur les 30 métaphases analysées, les 12 meilleures ont été prises en photos (**Figure 23**).

Le caryotype établi chez ce garçon nous a permis de détecter une anomalie de nombre caractérisée par une trisomie 13 libre et homogène, qui présente cette formule (**47, XY+13**) (**Figure 24**).



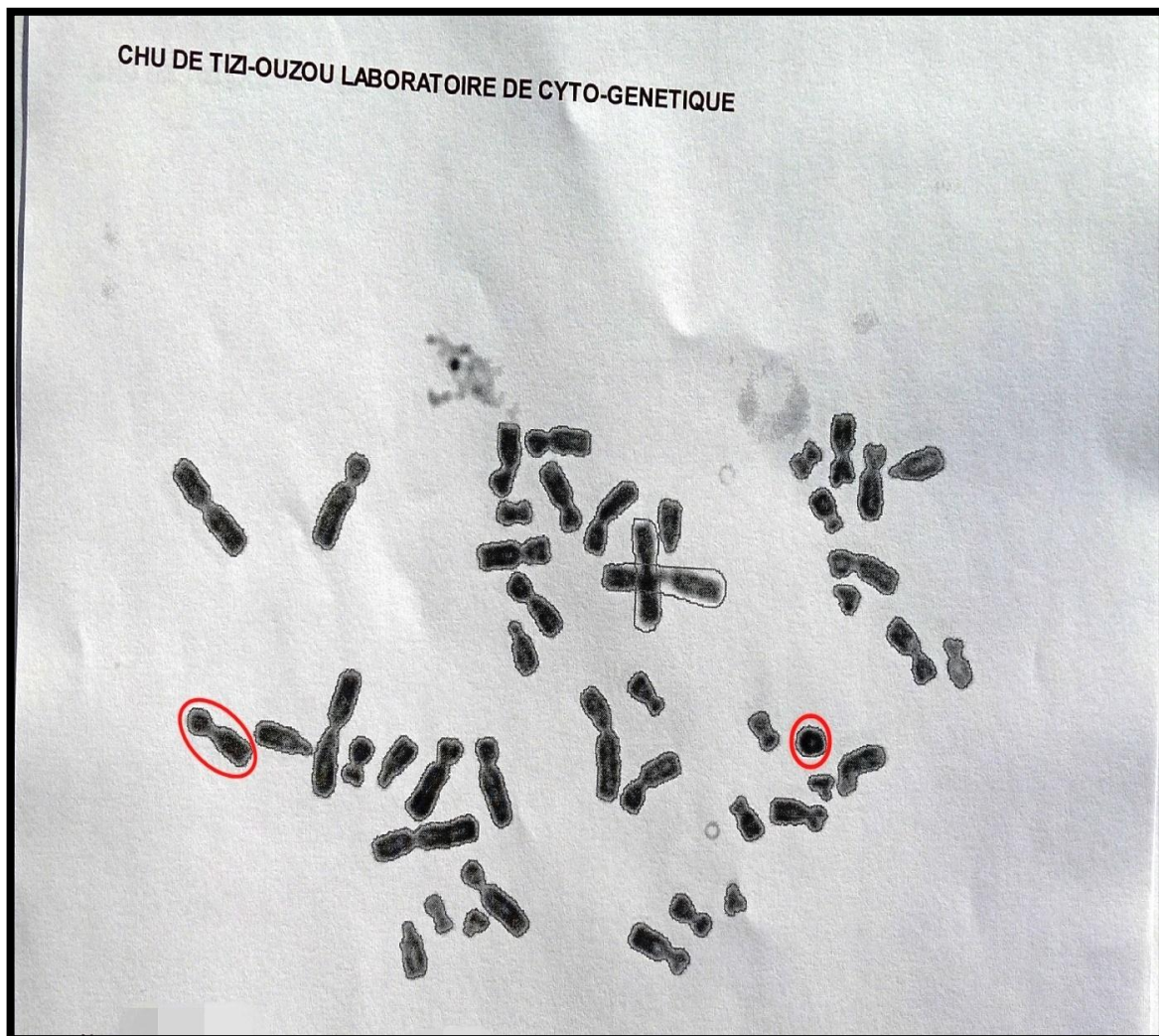
**Figure 23:** Métaphase d'un nourrisson de sexe masculin âgé de 10 jours atteint d'une trisomie 13 (les 3 chromosomes 13 sont entourés en rouges) (**photo originale**).



**Figure 24 :** Caryotype d'un nourrisson de 10 jours atteint d'une trisomie 13 homogène (**47, XY+13**) en bandes **R** (photo originale).

### III.2.2/Patient 2

Au sein du même laboratoire, la technique de cytogénétique conventionnelle en bandes R a été réalisée à partir d'un prélèvement sanguin. Nous avons analysé environ 100 métaphases (**Figure 25, 26**), dont 40 ont été caryotypées. Les caryotypes établis chez cette fille nous ont permis de détecter une anomalie de nombre en mosaïque en rapport avec le syndrome de Turner associée à une anomalie de structure s'agissant d'un X en anneau. Les métaphases à 46 chromosomes présentent deux lignées cellulaires mosaïques : la première lignée présente la formule **(46, X r(X))** (**Figure 28**) et la deuxième lignée présente la formule **(45, X0)** (**Figure 29**). La **Figure 27** représente un caryotype normal **(46, XX)** d'une fille saine âgée de 20 ans (à titre comparatif).



**Figure 25** : Métaphase d'une fille âgée de 20 ans atteinte du syndrome de Turner présentant une formule **(46, X r(X))**. Les chromosomes X sont entourés par des cercles rouges (**photo originale**).



**Figure 26** : Métaphase d'une fille âgée de 20 ans atteinte du syndrome de Turner présentant une formule (45, X0). Le chromosome X est entouré par un cercle rouge (**photo originale**).

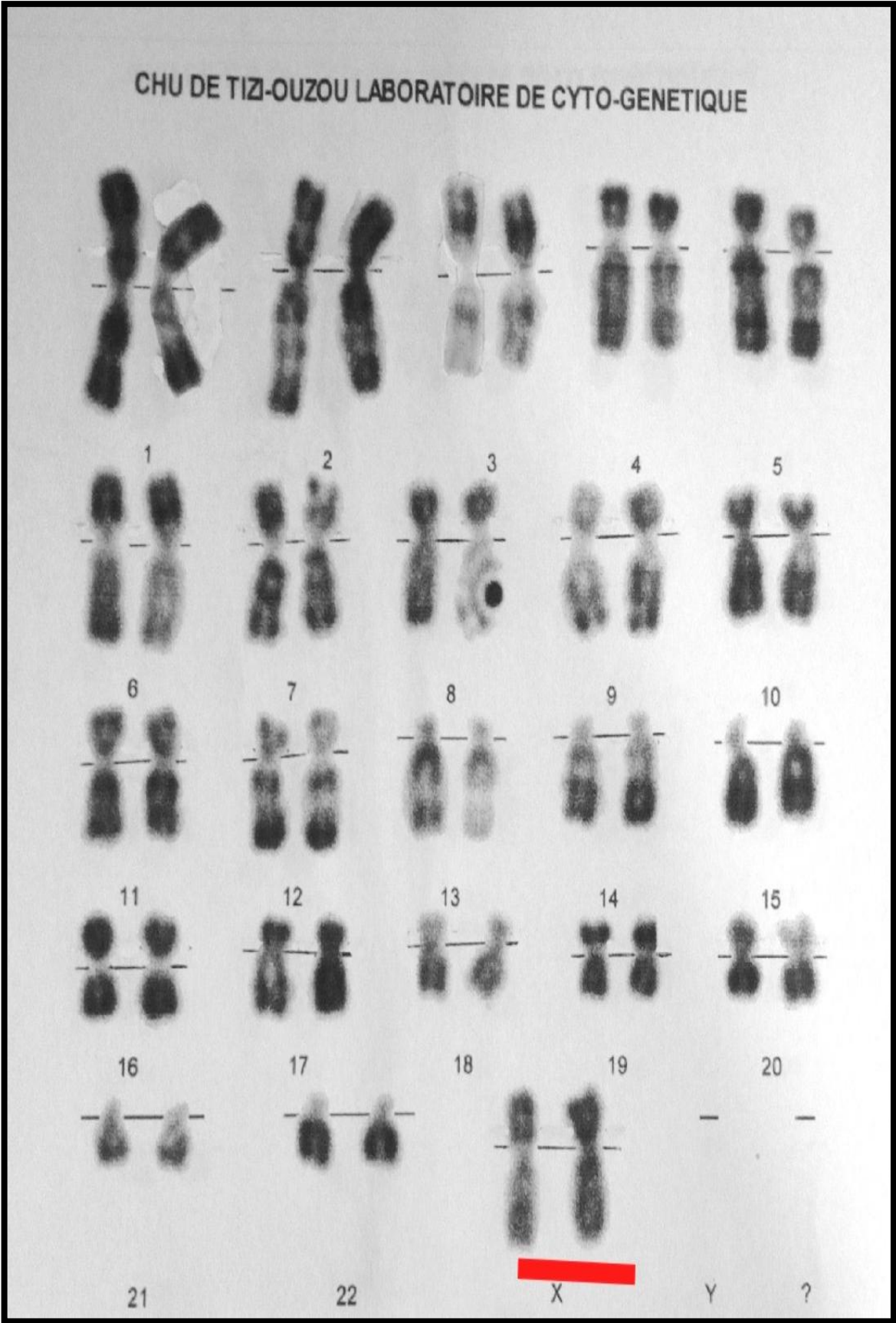


Figure 27: Caryotype normal (46, XX) d'une fille saine agée de 20 ans en bande R (photo originale).

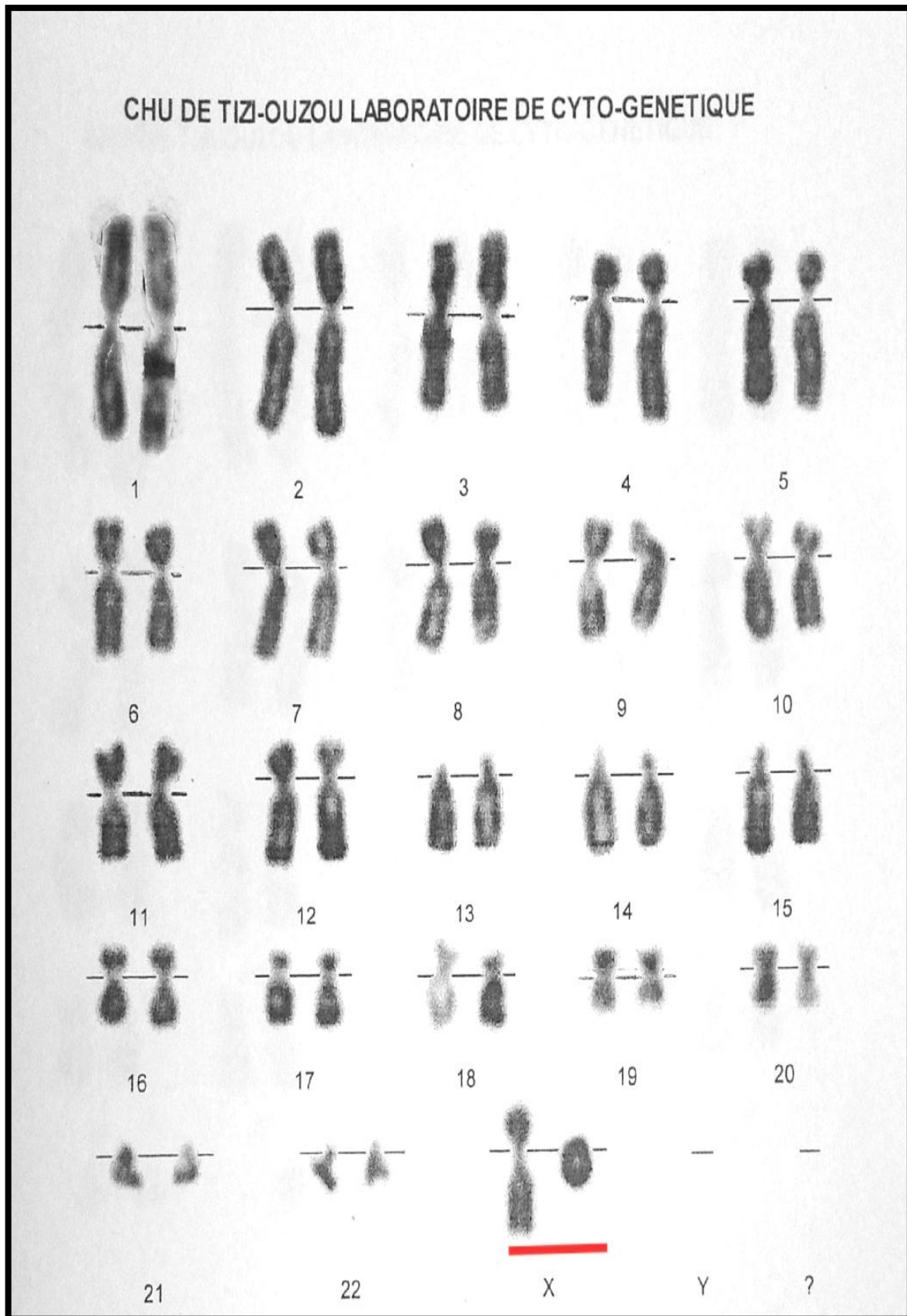


Figure 28 : Caryotype (46, Xr (X)) d'une fille atteinte du syndrome de Turner en bandes R (photo originale).

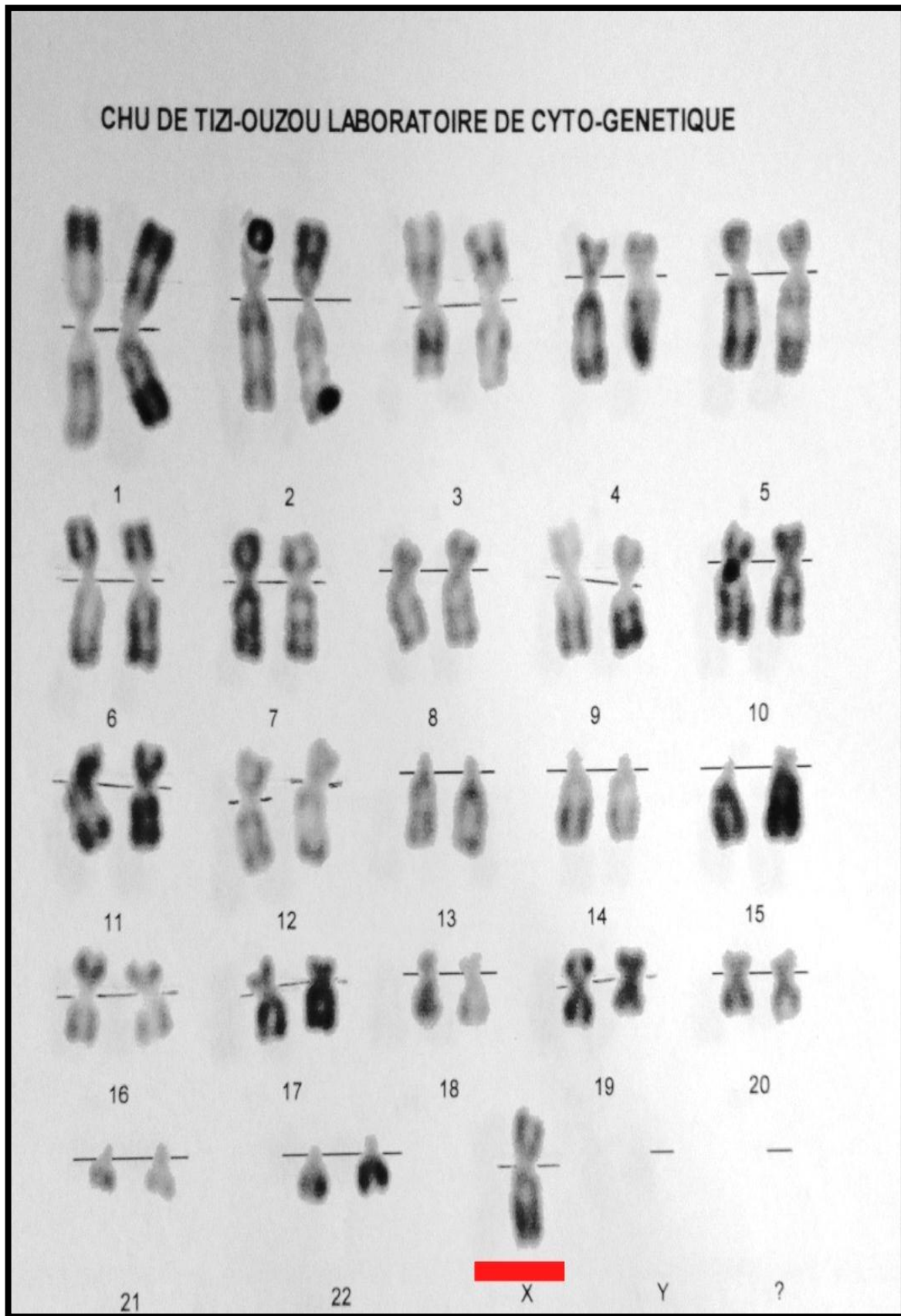


Figure 29 : Caryotype (45, X0) d'une fille atteinte du Syndrome de Turner en bandes R (photo originale).



### III.3/ Discussion

#### III.3.1/Patient 1

A l'issu des résultats obtenus, l'analyse chromosomique a montré que le nouveau-né de 10 jours de sexe masculin présente un caryotype anormal avec une formule (47, XY+13) associé à un syndrome polymalformatif et modéré.

Le chromosome surnuméraire a été identifié comme un chromosome 13. La trisomie 13 (Ts 13) dite syndrome de PATAU, est la conséquence de la non-disjonction des chromosomes homologues lors de la formation des gamètes. Elle est associée à des malformations congénitales, cardiaques et respiratoires (**Tsukada *et al.*, 2012**). En effet, les personnes atteintes de la Ts 13 présentent de multiples anomalies (fente palatine, trouble cardiaque, malformations cérébrales...). Ces dernières sont en relation avec l'âge maternel (+35 ans) car elles dérivent d'un dysfonctionnement de la division cellulaire des ovules à cause du vieillissement, au lieu d'avoir 23 chromosomes dans l'ovule on se retrouve avec 24 (**ANNEXE IV**) (**Trisomy 13-patau syndrome. fact sheet-cge 37.pubmed**).

Chez la plupart des sujets trisomiques 13 en présence d'un chromosome 13 surnuméraire (3 copies de chromosome 13 au lieu de 2 copies) sont des cas sporadiques (isolés), donc sont les seuls malades dans leurs familles, c'est le même cas pour les Ts 13 mosaïques (**Staso *et al.*, 2018**).

Une étude a été réalisée par **K. Tsukade** au **CHU** de Dokyo au japon (de 1989 à 2010) qui a analysé 16 patients trisomiques 13 (âgés de 35 à 40 semaines) dont 10 sont de sexe masculin et 6 de sexe féminin. Le **tableau I (annexes)** résume (l'âge des patients et de leurs parents, le mode d'accouchement, le poids...etc) de quelques cas de patients atteints de Ts13 (**Tsukade, 2012**).

Aucun des 16 patients n'avait des anomalies chromosomiques dans leurs antécédents familiaux. Cependant, ces patients présentaient une trisomie 13 complète, une Ts13 en mosaïque et une translocation robertsonienne. Quelques anomalies ont été indiquées par échographie comme le retard de croissance intra-utérine et des malformations cérébrales. Plusieurs autres anomalies ont été signalées chez ces patients notamment des troubles cardiaques, des malformations congénitales et crâniennes et une insuffisance respiratoire (**Tableau II**) (**annexes**).

### III.3.2/ Patient 2

Des tests génétiques avancés ont montré que le syndrome de Turner (ST) avec un X en anneau est le plus souvent le résultat d'une délétion se produisant aux deux extrémités de ce chromosome. Ceci provoque la fusion des deux extrémités restantes afin de former un chromosome en anneau (**Jorder *et al.*, 2004**). Les femmes porteuses d'un très grand anneau (chromosome X) sont phénotypiquement normales et même fertiles. En effet, si l'anneau formé est de très petite taille (le chromosome X perd suffisamment de gènes principalement le locus Xist), le chromosome devient inactif (**Krahn *et al.*, 2016**).

Les régions chromosomiques et les gènes responsables des caractéristiques du ST sont représentés en **annexe IV**. Généralement, un même patient ne présente pas la totalité des caractéristiques cliniques. Dans le présent travail, la patiente (atteinte du ST) présente quelques-unes parmi lesquelles on cite :

#### ❖ Le retard statural

Le retard statural est le plus fréquemment rencontré dans le ST. Il est présent chez 95% des patients turnériens. Cette réduction de taille est due à une haplo-insuffisance du gène Short stature homeobox-containing (SHOX) situé dans la région pseudo autosomique (PAR1) du chromosome X ou Y (**Rao *et al.*, 1997**). Les PAR se comportent comme un autosome et se recombinent lors de la méiose (**Morris, 2007**).

Le gène SHOX intervient dans la régulation de la différenciation et la multiplication des chondrocytes responsables de l'allongement des os (**Morris, 2007**). Dans le ST, ce gène ne se présente pas en double exemplaire, il y aura une haplo-insuffisance, c'est-à-dire la taille des os sera réduite par une fusion prématurée des cartilages de croissance (**Alves, 2011**).

#### ❖ Infantilisme sexuel

Dans le ST, les ovaires se développent normalement jusqu'au 3ème mois de la vie intra-utérine après le nombre de follicules est réduit (apoptose prématurée) à cause de l'absence des gènes de maintenance ovarienne (**Rosebfied, 1990**). En effet, les taux anormaux de FSH induisent une insuffisance ovarienne prématurée (IOP). Cette dernière s'installe durant les premiers mois de la vie dans le cas de monosomie X, et plus tardivement en cas des mosaïques ou autres anomalies du chromosome X (**Corel *et al.*, 2005**).

Il existe plusieurs gènes responsables de l'insuffisance ovarienne du ST : les gènes POF1 et POF2 sont situés respectivement sur les bras (long et court) du chromosome X (**Ogata *et al.*, 2001**).

L'inactivation du chromosome X par le gène XIST localisé au niveau du centre d'inactivation de l'X (XIC) sur la partie proximale du bras long, est exprimé uniquement par le X inactif (**Brawn *et al.*, 1991**). Ainsi, les anomalies de structure avec délétion de XIST aboutissent à une absence d'inactivation du X, ces gènes joueraient un rôle important dans le ST (**Zinn *et al.*, 1993**).

Des recherches ont été réalisées en 2016 par Chauhan Pooja et son équipe au département de gynécologie (Hôpital Sir Sunderlal, Université Banars Hindu, Inde). Cet hôpital a reçu deux cas (une fille de 16 ans et une femme de 21 ans) présentant des caractéristiques cliniques communes du ST avec un X en anneau mosaïque. Ces cas ont été analysés par une autre technique de coloration des chromosomes métaphasiques qu'est la dénaturation à la trypsine et coloration au Giemsa (bandes G). Cette technique est rapide mais les télomères apparaissent peu colorés contrairement à la technique réalisée dans le présent travail où les télomères sont bien colorés. Les résultats obtenus par **Pooja *et al.* (2016)** sont semblables aux nôtres (un retard de croissance, des taux de FSH et de LH anormaux et une dysgénésie ovarienne) ainsi qu'une coloration des bandes différentes au niveau des télomères des chromosomes.

En plus de la technique de binding, **Pooja *et al.* (2016)** ont utilisé la technique d'hybridation *In situ* par fluorescence (FISH) pour déterminer l'origine du chromosome en anneau et le degré du mosaïsme. Les résultats sont représentés sur le **tableau IV**. Ces derniers montrent que le premier cas (fille de 16 ans) étudié est plus sévère que le deuxième (femme de 21 ans) à cause du taux élevé des délétions et du mosaïsme.

**Tableau II** : Description cytogénétique comparative de deux cas étudiés (**Pooja *et al.*, 2016**)

Cas	Formule chromosomique	Mosaïsme pour 46, Xr(X)	Suppression d'Xp	Nombre de gènes supprimés	Suppression Xq	Nombre de gènes supprimés
1	45,X/46, Xr(X)	50%	Xp22.12	221	Xq21.33- Xq28	897
2	45,X/46, Xr(X)	35%	Xp22.31	49	Xq22.1- Xq28	736

De ce fait, d'après ces études antérieures, nous confirmons que la gravité des symptômes du ST dépendrait du degré de la perte du matériel génétique pendant la formation de l'anneau (X) ainsi que du mosaïsme (**Karahn *et al.*, 2016**).

Les mosaïques présentent peu d'anomalies par rapport aux monosomies et ils partagent entre eux des caractéristiques habituelles communes (petite taille, insuffisance ovarienne...) qui diffèrent d'une patiente à une autre alors qu'elles ne se rencontrent jamais chez la même patiente (**Pooja *et al.*, 2016**).

### **Conseil génétique**

En cas de suspicion ou s'il existe un cas similaire dans la famille, un diagnostic prénatal doit être réalisé :

- Suivi d'un traitement (sous surveillance) à base d'hormone de croissance (GH) à des périodes spécifiques ; mais l'efficacité du traitement dépend principalement de sa précocité (tôt avant l'âge de 9 ans).
- Injection de la progestérone aux filles atteintes de ST pour les aider à avoir un cycle normal et pour pouvoir avoir des enfants, à condition de l'utiliser avant l'âge de 9 ans.
- Dépister et prendre en charge des pathologies associées.

# **Conclusion**

Le présent travail s'est intéressé à l'établissement de caryotype de deux patients atteints de maladies chromosomiques (administrés au niveau du laboratoire de Cytogénétique du Centre Hospitalier Universitaire de Tizi-Ouzou). Nous avons appliqué des méthodes de cytogénétique conventionnelle en utilisant des lymphocytes en phase mitotique, soumis à un choc hypotonique pour disperser les chromosomes. Nous avons entrepris ensuite une technique de banding (Marquage chromosomique de type RHG) permettant d'obtenir un marquage spécifique de chaque chromosome (traitement par la chaleur et une coloration au Giemsa). A partir des mitoses capturées sur un logiciel analyseur d'images, les chromosomes ont été ensuite classés par paire et par ordre décroissant, selon leur taille et la position de leurs centromères.

Cependant, grâce aux résultats obtenus dans la présente étude, nous pouvons conclure que la cytogénétique médicale (conventionnelle) est un outil efficace dans la détection des anomalies chromosomiques (afin de diagnostiquer les maladies génétiques liées). Qu'elles soient de nombre comme dans le cas du syndrome de Patau chez le nourrisson de 10 jrs ou de structure dans le cas du Syndrome de Turner avec X en anneau chez la fille de 20 ans.

Néanmoins, certaines anomalies chromosomiques (translocation, délétion, duplication ainsi que l'X en anneau) nécessitent une technique plus avancée qui permet d'obtenir des résultats plus précis telle que la technique de cytogénétique moléculaire et plus précisément l'Hybridation *In situ* à fluorescence (FISH) qui permettrait d'établir la cartographie des chromosomes afin de détecter le(s) gène(s) touché(s) par l'anomalie chromosomique.

Enfin, la cytogénétique conventionnelle et les techniques de cytogénétique moléculaire (FISH) donneront des résultats complémentaires et beaucoup plus précis pour un bon diagnostic et un meilleur suivi pour les patients porteurs d'anomalies chromosomiques.

# **Références bibliographiques**

## A

1. **Abairrou. A.** (2013). *Application des Cytogénétiques Conventionnelle et Moléculaire Dans les Syndromes Myélodysplasiques*. Pour l'obtention du doctorat en pharmacie : Université Mohammed–Souissi- Rabat. 138p, 85p.
2. **Altug-Teber. O, Bonin. M, Walter. M, Mau-Holzmann. U.A, Dufke. A, et al.** (2007). Specific transcriptional changes in human fetuses with autosomal trisomies. Departments of Medical Genetics and Gynecology and Obstetrics, (Germany). *Cytogenet Genome Res* 119:171–184.
3. **Alvarez-Nova. F, Soto. M, Sanchez. MA, Fernandez. E, Lanes. R.** (2013). *Molecular analysis in TS. J. pediater.* ; 142(3): 336-40.
4. **Anne Slavotink, Benjamin D. Solomon.** (2021). *Trisomy 13*. American Journal of Medical Genetics. Wiley online library.

## B

5. **Ben Hamouda. H., Tfiha. M., Elghezal. H., Tlili. Y., Soua. H., Saad. A, Sfar. M-T.** (2010). Diagnostic postnatal et pronostic de 2 cas de triploïdie. *Archives de Pédiatrie*.17 :1078-1082.
6. **Berger.R.** (2006). Cytogénétique humaine. De 1956 à 2006. *Pathologie Biologie*. 55 : 1-12
7. **Béri-Dexheimer.M., Bonnet.C., Chambon.P., Brochet.K., Grégoire. M.J., Jonveaux. P.** (2007). L'hybridation génomique comparative sur microréseau d'ADN (puces à ADN) en pathologie chromosomique constitutionnelle : Microarray-based comparative genomic hybridation in the study of constitutional chromosomal abnormalities. *Pathologie. Biologie*. 55:13-18.
8. **Brown. CJ, Ballabio. A, Rupert. JL, Lafreniere. RG, et al.,** (1991). A gene from the region of the human X inactivation centre is expressed exclusively from the inactive X chromosome. *Nature.*, 349(6304), 38-44.
9. **Bruns. A Deborah** (2015). Developmental Status of 22 Children with Trisomy 18 and Eight Children with Trisomy 13: Implications and Recommendations. Southern Illinois University Carbondale, Carbondale, *Illinois.American journal of Genetics*. Part A. 167A:1807–1815.



**C**

10. **Carrel. L & Willard. HF**, (2005). X-inactivation profile reveals extensive variability in Xlinked gene expression in females. *Nature.*, 434(7031), 400–4.

**D**

11. **Dolan. M.** (2011). The role of the Giemsa stain in cytogenétique. *Biotechnic f histochemistry : official publication of the biologie stain commission*,86(2), 94-97.

12. **Donnai. D., Read. A.** (2009). Génétique médicale : De la biologie à la pratique clinique. édition de Boeck université, Bruxelles, France. p 29-51.

13. **DUNLAP. S.S, AZIZ. M.A,** and **ROSENBAUM. K.N** (1986). Comparative Anatomical Analysis of Human Trisomies 13, 18, and 21: The Forelimb. Central Identification Laboratory, Anatomy Department, Howard University College of Medicine, Washington. *TERATOLOGY* 33 :159-186.

14. **Dutrillaux. B, Couturier. J.** (1981). La pratique de l'analyse chromosomique. techniques de laboratoire 12.Masson. Paris.

**E**

15. **Echard Geneviève.** (1973). ÉTUDE DES BANDES CHROMOSOMIQUES DU PORC ET DE TROIS DIFFÉRENTES SOUCHES DE REIN DE PORC EN CULTURE (PK 15, F et RP). Annales de génétique et de sélection animale, *hal.science/hal-00892558 .5* (1), pp.1-21.

16. **Eggermann. T, Meschede. D, Schuler. H, Palm. S, Glaser. D, Horsthemke. B, et al.** (2005). Premature ovarian failure associated with a small terminal Xq deletion: narrowing the POF1 region down to Xq27.2/Xq27.3-qter. *Clin Genet.*; 67(5):434–7.

**F**

17. **Fogu Giuseppina, Maserati Emanuela, Cambosu Francesca, Moro Maria Antonietta, et al** (2008). Patau syndrome with long survival in a case of unusual mosaic trisomy 13. Clinical Genetics, Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, viale San Pietro, 43/C, 07100 Sassari, Italy. *European Journal of Medical Genetics* 51, p303-314.

## G

18. **Guilherme. RS, Klein. E, Hamid. AB, Bhatt. S, Volleth. M, Polityko. A, et al.** (2013). Human ring chromosomes—new insights for their clinical significance. *BJMG*; 16:13–20.

## H

19. **Hamerton JL.** (2013). *Human Cytogenetic: Clinical cytogenetics*. vol 2. Academic Press. 545 pages.

20. **Hartl. L Daniel, Jones. W Elisabeth.** (2003). *GENETIQUE Les grands principes* 3<sup>e</sup> édition. SCIENCE SUP.DUNOD, Paris. p 75-76.

21. **Humaine et médicale:** Half a century of human and medical cytogenetics. *Morphologie*. 93: 42-50.

22. **Huret. J-L, Leonard. C, Savage. J.** (2021). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*. Database also available as an Open Access Journal at CNRS-INIST (since 1997 and indexed in Scopus since 2018) [en ligne].

## I

23. **Iliopoulos Dimitrios, Sekerli Eleni, Vassiliou Georgia, Sidiropoulou Vasiliki, et al.** (2006). Patau Syndrome with a Long Survival (146 Months): A Clinical Report and Review of Literature. School of Medicine, Ohio State University, Columbus, *American Journal of Medical Genetics* 140A:92–93.

## J

24. **Janvier Annie, MD, PhD, Farlow Barbara, BEng, MBA, and Barrington Keith, MD.** (2016). Cardiac surgery for children with trisomies 13 and 18: Where are we now? Department of Pediatrics, University of Montreal, Montreal, Canada. *science direct S E M I N A R S I N P E R I N A T O L O G Y* 4. P 254 – 2 6 0.

25. **Jorde. B Lynn, John C. Carey, Michael J. Bamshal, Raymond L. White.** ((2004). *Génétique médicale*. compus masson france. Elsevier. Chapitre 6 p 123-129.

## K

26. **Kesler. S-R, Ph-D.** (2007). Turner Syndrome. *Child Adolesc Psychiatric Clin N Am* 16: 709–722.

**27. Krahn. M, Sanlaville. D.** (2016). Génétique médicale : Enseignement thématique. Sous l'égide du Collège national des enseignants et praticiens de génétique médicale. 62, rue Camille Desmoulins 92442 Issy-les-Moulineaux Cedex : Elsevier Masson.P348. (DFGSM 2-3 Médecine).

### L

**28. LINTS FREDERIC.** (1991). Génétique 3, 3<sup>e</sup> édition.tec& doc- lavoisier. Paris.

### M

**29. Maria Teresa. A, Sinhue. A, Idalid. C, Jorge. R, Alfredo. C, et al.** (2023). Identification of a small supernumerary Marker Chromosome in a Turner Syndrome Patient with Karyotype mos 46, X,+mar/45,X.Mexico.MDPI .*Genes*, V14, 253.

**30. Marieb. N Elaine.** (2008). Biologie humaine Principes d'anatomie et de physiologie 8<sup>e</sup> édition, traduit par ERPI. *Nouveaux Horizons-ARS*. Paris.608-610.

**31. Marozzi. A, Manfredini. A, Tibileth. MG, Furlan. D, Villa. N, Vegetti. W, et al.** (2000). Molecular definition of Xq common-deleted region in patients affected by premature ovarian failure. *Hum Genet*; 1074: 304–11.

**32. Maurice Lamy, Debre Robert.** (1975). Génétique Médicale 2<sup>e</sup> edition. Paris. MASSON. p 48-77.

**33. Merritt JL** (2013). *Patau Syndrome* (Trisomy 13). University of Washington, Seattle, WA, USA. Elsevier Inc. volume 3, p 1420.

**34. Monin Pauline, Reynaud Nicolas, Hanna Nadine, Dupuis-Girod Sophie, et al.** (2020). A Case of Trisomy 13 Mosaicism Presenting with a Severe Aortic Root Dilatation and Marfanoid Habitus due to an Unpredictable Cytogenetic Mechanism. Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France. National Univ. of Singapore 137.132.123.69.

**35. Moraes-Ruhsen. M, Jones. GS.** (1967). Premature ovarian failure.fertil sterile. 18:440-61.

**36. Muleris. M, Richard. F, Apiou. F, Dutrillaux. B.** (1996). Hybridation in situ en cytogénétique moléculaire principe et techniques. *Génie Génétique G2*.p 13-57.

**37. Mustaki. U, Jackson. S,** (2013). A patient with Trisomy 13 mosaicism: review and case report. From International Conference for Healthcare and Medical Students (ICHAMS). *BMC Proceedings*. 9(Suppl 1): A51.

**O**

**38. Ogata. T, Muroya. K, Matsuo. N, Shinohara. O, et al.,** (2001). Turner syndrome and Xpdeletions: clinical and molecular v studies in 47 patient's *J Clin Endocrinol Metab.*, 86(11), 5498-5508.

**39. Ouw, J-S et al.** (2021). *Cytogénétique conventionnelle* [Prestations]. CHUV. Cytogénétique [en ligne].

**P**

**40. POATY. H, PEKO. JF, MAUGEY-LAULOM. B, TAINE. F, CARLES. D.** (2010). *TRISOMIE 13 FOETALE. A PROPOS DE 5CAS.* Laboratoire d'Anatomopathologie, unité de foetopathologie, CHU Hôpital Pellegrin. Bordeaux Hôpital Pellegrin, Bordeaux Africaine de Pathologie : Volume 9, numéro 1.

**R**

**41. Rao. E, Weiss. B, Fukami. M, Rump. A, et al.** Pseudo autosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nat Genet.*, 16(1), 54-63.

**42. Rosenfield. R,** (1990). Spontaneous puberty and fertility in Turner syndrome. In: Rosenfeld RG, Grumbach MM, editors. Turner syndrome. *New York and Basel: Dekker M.*, 136-48.

**S**

**43. Sabouret. A, Furelaud. G, Devos. N.** (2002). La mise en place de l'appareil génital chez l'être humain. Paris. *Planet- vie.* Pubmed.

**44. Serre. J-L, Blottière. L.** (2013). *Génétique.* 2eme édition. 11 rue Paul Bert 92240 Malakoff. Dunod. 192p. [maxi fiches].

**45. SINGER. M, BERG. P.** (1992). GENES & GENOMES. Paris. *VIGOT.*p3, 6, 12.

46. **Staso Patrick, Paitl Scottie, Patel. R Dilip.** (2018), An 8-week-old infant with trisomy 13: dilemmas for medical decision making. Department of Pediatric and Adolescent Medicine, Western Michigan University Homer Stryker M.D. School of Medicine, Kalamazoo, Michigan, USA. *AME Case Reports*.p2-4.
47. **Stewart. F.** (2010). The anatomy of a chromosome. *Ulster Med J.* 79(3) :110-113.
48. **Strachan. T, Read. A.** (2012). Génétique moléculaire humaine 4<sup>e</sup> édition. Médecine sciences lavoisier en Italie. P44-59.
49. **Sybert. V .P, McCauley. E.** (2004). Turner's syndrome. *Medical progress.* 351:1227-38.

## T

50. **Thompson. W Margaret, Mc Innes. R Roderick, Willard. F Huntington.** (1995). génétique médicale Thompson & Thompson.de la biologie à la Clinique.5<sup>e</sup> édition. *Médecine-Sciences Flammarion.* Paris.
51. **Tjio. JH, Levan. A.** (1956). The chromosome number of man. *Hereditas.* 42: 1-6.
52. **TRAORE. M, TOURE. A, MAIGA. B, MOHAMED. A. AG.** (1997). TRISOMIE 13 ET 8 EN MOSAÏQUE CHEZ UN ENFANT POLYMALFORME. Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction – Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) BP 1771 Bamako –MALI. *Médecine d'Afrique Noire,* 44 (8/9).
53. **Tsukada. Keiko, Imataka. George, Suzumura. Hiroshi, Arisaka. Osamu.** (2012). Better Prognosis in Newborns with Trisomy 13 Who Received Intensive Treatments: A Retrospective Study of 16 Patients. departement of prdiatrics, dokkyo medical university school of medicine, japan. *Cell biochem biophys. Springerlink.* 63(3), 191-198.

## V

54. **Vago. P, Gouas. L, Haoud. kh, Pebrel-Richard. C, Eymard-Pierre. E, Combes. P, Goumy. C, Tchirkov. A, Veronese. L.** (2009). *Un demi-siècle de cytogénétique humaine et médicale : Half a century of human and medical cytogenetics. Morphologie.* 93 : 42-50.

## Y

55. **Yousif Hussein Eltayeb Sara, Bashier Alaaeldin et Abdulaziz Khalifa Bin Hussain Azza.** (2022). *Mosaic trisomy 13 and constitutional delay in puberty.* Internal Medicine

Department, Dubai Hospital, Dubai, United Arab Emirates. *Oxford Medical Case Reports*, 5, 184–187.

### Z

**56. Zinn. AR, Page. DC & Fisher. EMC,** (1993). Turner syndrome: the case of the missing sex chromosome. *Trends Genet*, 9(3), 90-3.

\*

**57. \*(2021)** Trisomy13. *Reprinted from Medline Plus Genetics*.

(<https://medlineplus.gov/genetics/>).

**58. \*(2021).** Trisomy 13-PATAU SYNDROME. Fact sheet 37. NOV21/V1:NS12677. *Genetics*. Education. pubmed.

# **Annexes**

## ANNEXE I

### Matériel non biologique



**Agitateur à barreau magnétique**



**Agitateur**



**Bec benzène**



**Bain marie**



**Balance**



**Béchers**



**Centrifugeuse**



**Embouts**



**Etuve**





**Eppendorfs**



**Fiole jaugée**



**Eprouvette gradué**



**Flacon**



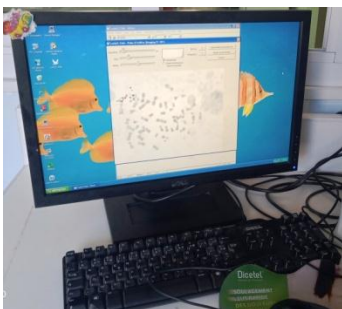
**Hotte**



**Lames à microscope**



**Microscope photonique  
équipé d'un appareil à  
photo numérique**



**Micro- ordinateur**



**Micropipettes**



**pH mètre**



**Pipette Pasteur**



**Plaque de glace**



**Seringue**



**Tambour**



**Tubes**



**Tube héparine**

- **Agitateur en continu ou par impulsions (Marque : Vortex IKA MS 3 basic digital) avec vitesse d'agitation allant de 0 à 3000 tours/min.**
- **Bain marie (Mettler) avec contrôleur de température et une résolution de 0,1 °C, température maximale 95 °C, REF : (L210.0100).**
- **Balance de précision (Ohaus) avec calibrage interne, capacité de 210 g, densité de 0,001. REF: Adventurer Pro AV213C.**
- **Centrifugeuse 5702 (Eppendorf) avec Rotor A-4-38.**
- **Etuve (BINDER ED115) avec séchage et chauffage et température maximale + 300 °C.**
- **Hotte à flux laminaire SafeFAST Elite (Faster).**
- **Lames à microscope SOLIDE (rustmomed), clear glass ground edges 25,4 \* 76,2 mm.**
- **Microscope à fluorescence (Olympus BX51), équipé d'une caméra à haute résolution (QICAM FAST-1394).**
- **Ordinateur (DELL) et logiciel de réalisation de caryotype (Lucky version 5)**
- **pH-mètre (Hannah Instruments).**
- **Seringue, Portoir, Tambour.**

## ANNEXE II

## Réactifs



Acide acétique



Alcool (méthanol)



Colchicine



Colorant de GIEMSA R



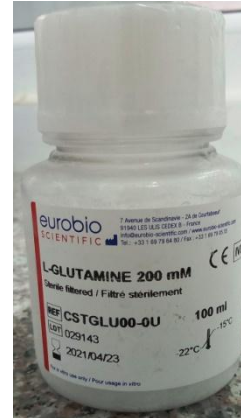
Eau distillée stérile



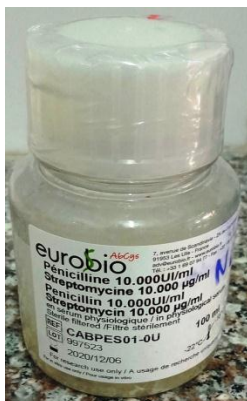
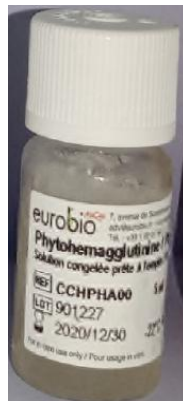
Huile d'immersion



KCL



L-GLUTAMINE

Pénicilline +  
Streptomycine

Phytohemagglutinine



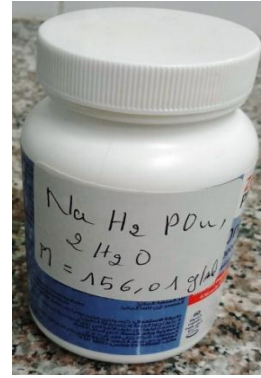
RPMI



Sérum de veau fœtal



Solution saline

Solution acide  
( $H_2NaO_4P$ )Solution basique  
( $NaH_2PO_4 + 2H_2O$ )

- Acide acétique (Fluka), REF : UN2789.
- Acide (Sodium phosphate monobasique ( $H_2NaO_4P$ )), (SIGMA-ALDRICH), REF : 102229479.
- Alcool (Méthanol) (EMSURE), REF : 10926209-804.
- Base ( $NaH_2PO_4 + 2H_2O$ )
- Colchicine (eurobioscientific), REF: CCHCLC00F.
- Colorant de GIEMSA R, REF : 320310-1000.
- Eau distillée stérile, IDEAL.
- Huile d'immersion type F, OLYMPUS.
- L-Glutamine (eurobio scientific), REF : CSTGLU00-0U.
- Milieu Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 Medium (eurobio scientific), REF: CM1RPM08-01.
- Pénicilline et Streptomycine en sérum physiologique (eurobio scientific), REF : CABPES01-0U.
- Phytohemagglutinine (eurobio scientific), REF : CCHPHA00.
- Potassium chloride B.P. (KCl).
- Sérum de veau foetal (eurobio scientific), REF : CVFSVF00-0U.
- Solution saline équilibrée de l'Earle (eurobio scientific), REF : CS3SSE14-0U.

## ANNEXE III

### Préparations

#### Préparation du milieu de culture

La préparation du milieu de culture se fait dans un milieu stérile (devant le bec benzène). On mélange dans une fiole jaugée :

-100 ml du milieu **RPMI** (milieu Roswell Park Memorial Institute).

-20 ml de **sérum de veau fœtal** (FBS : Fœtal Bovine Serum).

-1 ml de **L-Glutamine**.

-1 ml de **pénicilline** et **streptomycine 10.000 µl/ml**.

#### **NB :**

Le RPMI contient une grande quantité de phosphates et il est composé de manière à être utilisé dans une atmosphère comprenant 5% du CO<sub>2</sub>.

Le FBS est le supplément de croissance le plus largement employé dans le milieu de culture cellulaire favorisant la croissance embryonnaire :

L-Glutamine est la source majeure d'énergie pour la prolifération cellulaire.

La pénicilline empêche la contamination bactérienne des cultures cellulaires en raison de l'efficacité de leur action sur les grams (-) et (+).

La streptomycine : antibiotique stable et stérile.

#### **Préparation de KCl**

La préparation de la solution KCl se fait 24h avant l'utilisation et la garder dans l'étuve à 37°C. On mélange 2.78g de KCl en poudre avec 500 ml d'eau distillée.

**NB :** -le pH de la solution saline Earle, la température et l'humidité du milieu diffèrent selon les saisons.

-L'électrode du pH mètre est gardée dans une solution KCl.

#### **Préparation du fixateur**

On mélange un volume d'acide acétique avec trois volumes d'alcool (Méthanol).

### **Préparation de l'acide et de la base**

On verse 100 ml d'eau distillée dans un bécher et on le met sur un agitateur à barreau magnétique puis on ajoute de l'acide ( $\text{H}_2\text{NaO}_4\text{P}$ ) ou une base ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4+2\text{H}_2\text{O}$ ) en poudre jusqu'à on voit la formation des cristaux au fond du bécher.

### **Préparation de la solution saline équilibrée d'Earle**

-Prendre 10 ml de la solution et les verser dans une éprouvette graduée et la compléter avec l'eau distillée jusqu'à 100 ml ; la solution obtenue est versée dans le bécher qui est sur l'agitateur à barreau magnétique et on mesure le pH du mélange avec un pH mètre jusqu'à sa stabilité (à  $\text{pH}=5.99$ ,  $T^\circ=21.8^\circ\text{C}$ ).

-Ajouter 5 gouttes d'acide ( $\text{H}_2\text{NaO}_4\text{P}$ ) avec une pipette pasteur, et calculer le pH jusqu'à sa stabilité ( $\text{pH}=5.39$ ).

-Après la stabilisation du pH, ajouter de 6 à 10 gouttes de la base ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4+2\text{H}_2\text{O}$ ) jusqu'à l'obtention d'un pH stable (à  $6.8$ ,  $T^\circ=21.8^\circ\text{C}$ ).

-La solution préparée est mise dans un portoir dans un bain-marie à la  $T^\circ=88.9^\circ\text{C}$ .

### **Préparation de la solution de coloration**

Verser 2 ml de colorant Giemsa dans un bécher gradué, compléter jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée stérile.

## ANNEXE IV

## Questionnaires

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE NEDIR MOHAMED DE TIZI-OUZOU**  
**SERVICE D'HISTOLOGIE EMBRYOLOGIE ET GENETIQUE CLINIQUE**

Date : .../.../.....

N°

**ETAT CIVIL**

Nom.....Prénom.....Age.....

Profession.....

Wilaya.....N° de téléphone.....

Médecin traitent.....

**MOTIF DE CONSULTATION**

.....

**ANTECEDENTS**

**Personnels**

Nombre de fratrie..... Rang.....

Médicaux.....

Chirurgicaux.....

Prise de médicaments.....

**Familiaux**

**Antécédents de la mère**

Médicaux.....

Chirurgicaux.....

Gynécologique.....

Age.....

Age maternel pendant la grossesse.....

.....G/.....P

Mode d'accouchement.....

Facteurs de risque.....

**Antécédents du père**

Médicaux.....

Chirurgicaux.....



Notion de cas similaires dans la famille.....

**HISTOIRE DE LA MALADIE** .....

.....

.....

.....

.....

**EXAMEN CLINIQUE**

**1-Etat Général :**

**2-Téguments :**

**3-Tête :**

**a- le crâne :**

- Aspect extérieur
- Le périmètre crânien
- La fontanelle

**b- la face :**

- Oreilles :
- Œil :
- Nez
- Le massif maxillaire :

**c- la cavité bucco-pharyngée**

**d- le cou**

**e- les aires ganglionnaires**

**4-Tronc :**

**a-thorax :**

- Aspect extérieur :
- Appareil respiratoire :
- Appareil cardio-vasculaire :

**B-Abdomen :**

- Seins :
- Aspect extérieur :
- Orifices herniaires :

**5- Appareil locomoteur :**

- Squelette
- Mains
- pieds
- dermatoglyphes

**6-Appareil génito-urinaire :**.....

.....  
.....  
.....

**7-Appareil neurologique :**

- Le tonus et le réflexe
- La croissance
- Le QI

**EXAMENS PARACLINQUES**

**Bilan hormonal**.....

.....  
.....  
.....

**Echographie**.....

.....  
.....  
.....

**Radio du crane**.....

.....  
.....  
.....

**RESULTAT DU CARYOTYPE**

.....  
.....

**CAT**

.....  
.....

- Hypotonie
- Absence du réflexe de Moro
- Profil plat
- Fentes palpébrales obliques en haut et en dehors
- Anomalies des oreilles (pettes et rondes)
- Nuque plate avec excès de peau
- Hyperlaxité articulaire et cutanée
- Brachymésophagie des 5<sup>ème</sup> doigts : clinodactylie
- Pli palamire transverse unique
- Espacement accru entre orteil 1 et 2 et une plante des pieds plissée
- Visage rond + crane petit et rond
- Petit nez en boule
- Taches de brushfield sur l'iris
- Protrusion de la langue qui est plicaturée
  
- Mains carrée avec excès de peau
- Doigts courts
- Livedo

## Résultats

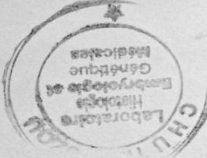
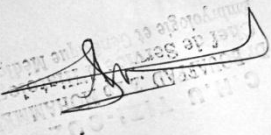
**SANG**  
Culture  
**R**  
Banding

Mitoses analysées   
Mitoses caryotypées

Formule Chromosomique :

**45, X[89]/  
46,X,r (x) [11]**

Conclusion :  
*Caryotype féminin portant une anomalie de nombre en mosaïque en rapport avec syndrome TURNER associée à une anomalie de structure s'agissant d'un X en anneau dans les mitoses à 46 chromosomes*

Age: \_\_\_\_\_

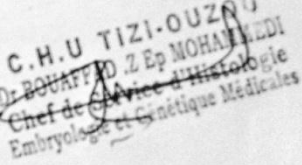
Motif: Ambiguïté sexuelle

Culture: SANG  
Banding: R  
Formule chromosomique: 47,XY,+13

Mitoses analysées: 30  
Mitoses caryotypées: 12

Conclusion:  
Caryotype masculin caractérisé par une trisomie 13 libre et homogène dans la limite des techniques utilisées

Dr: BOUAFFAD -



## Tableau explicatives de discussion

**Tableau I :** Antécédents familiaux, âge des parents, grossesse et accouchement chez quelques patients trisomiques 13 (Tsukada *et al.*, 2012).

Patients	Age des parents (Père/ Mère)	Age (semaines)	Genre	Echographie prénatale	Césarienne	Poids (g)
1	31/29	35	M	Hydrocéphalie RCIU	-	1582
2	32/32	35	F	Holoproencéphalie hernie ombilicale grave, RCIU	+	1756
3	32/31	40	M	RCIU	+	2162
4	35/42	33	M	Hydronephrose	+	3378
5	41/40	37	M	Oligoamnios, RCIU	+	2254

**M :** Masculin, **F :** Féminin, **RCIU :** Retard de croissance intra-utérine.

**Tableau II :** Analyse chromosomique, malformation majeure, malformations des organes chez des patients trisomiques 13 (Tsukada *et al.*, 2012).

Cas	caryotype	Malformations externes majeures				Malformations des organes		
		Tête	Visage	L'abdomen	Extrémités	cerveau	Cœur	Respiration
1	Trisomie complète	-	Fente, lèvres et palais, manque de nez	Hernie Ombilicale intestinale fistule	Polydactylie	Holoprose n-céphalie (type alobes)	VSD ASD PDA PH	Séparation des poumons supérieur et inférieur en cas d'hypoplasie pulmonaire
2	Trisomie complète	Cuir chevelu	Fente, lèvres et palais	-	Polydactylie cryptorchidie	Holoprose n-céphalie (type alobes)	PDA ECD DORV PS	-Sténose trachéale fistule trachéo-oesophagienn e -Insuffisance respiratoire
3	Trisomie	-	-	Entérocolite	-	-	VSD	PPHN

	Robertson			nécrosante			CoA	Insuffisance respiratoire
4	Trisomie mosaïque	Héman-giome du cuir chevelu	-	hernie inguinale de malrotation intestinale	-ongles étroit -micropénis	Fenestration du septum pellucidum, aplasie olfactive	ASD PDA	Insuffisance respiratoire
5	Trisomie complète	Oreilles basses	-	Testicule non descendu	Polydactylie	-	ASD PDA	Insuffisance respiratoire

**VSD** : Défaut ventriculoseptal, **ASD**: Communication inter-auriculaire, **PDA** : Canal artériel de la mère, **DORV**: Ventricule droit à double sortie, **ECD** : Défaut de perfusion endocardique, **PS**: Sténose pulmonaire, **CoA** : Coarctation de l'aorte.

### Figures explicatives

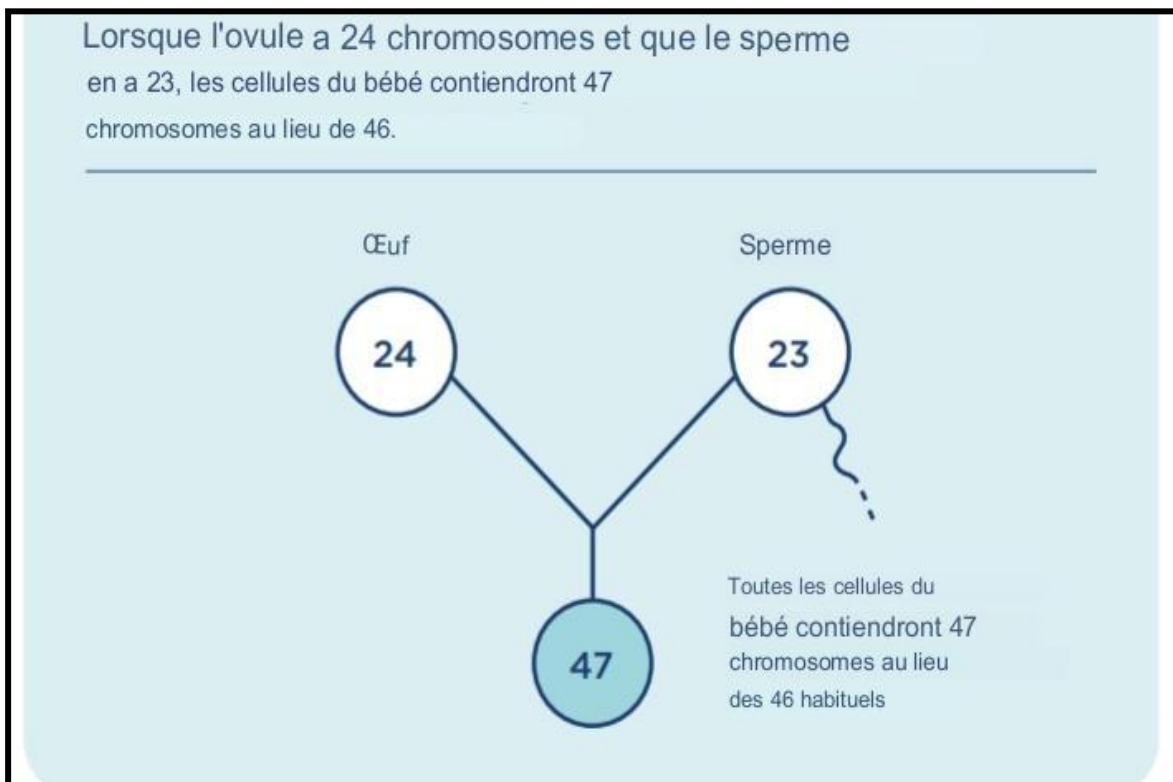
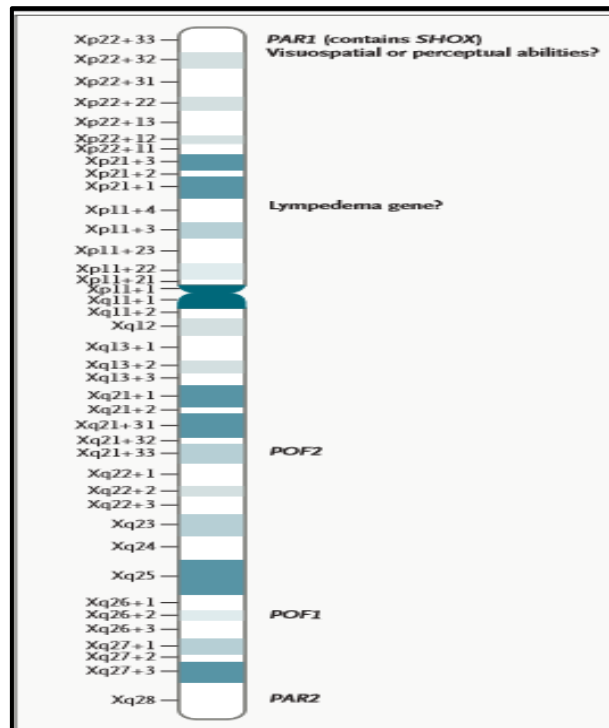


Schéma de la formation d'un individu trisomique lors de la fécondation (ovule à 24 chromosomes et un spermatozoïde à 23 chromosomes) (**trisomy 13-patau syndrome**).

Les régions chromosomiques et les gènes responsables des caractéristiques de ST .



Les différentes régions du chromosome X, d'après (Sybert *et al.*, 2004).

## Résumé

L'établissement des caryotypes et l'analyse des chromosomes sont des tests effectués pour aider à diagnostiquer des maladies génétiques, causées principalement par des altérations des chromosomes pouvant entraîner des troubles. Dans le présent travail, nous avons entrepris des cultures de lymphocytes ainsi que le RHG banding (Reverse Heat Giemsa) sur des chromosomes bloqués en métaphase de deux patients (un nourrisson de 10 jours et une fille de 20 ans). Deux anomalies chromosomiques ont été détectées : le syndrome de Patau, caractérisé par une copie supplémentaire du chromosome 13 et le syndrome de Turner avec un chromosome X en anneau. Ces anomalies ont été confirmées par cette technique de cytogénétique conventionnelle, ce qui démontre l'utilité de cette dernière dans l'analyse des nombreuses aberrations chromosomiques.

**Mots clés :** Cytogénétique, culture cellulaire, bandes RHG, caryotype, syndrome de Patau, syndrome de Turner.

## Summary

Chromosome analysis or karyotyping is a test that performed to help diagnose genetic diseases witch are al alterations chromosome that can lead to disorders. In the present work where they using a blood culture and RHG banding (Reverse banding use a heat and Giemsa) on metaphase chromosome of two cases (babe of 10 days and girl of 20 years). A two disorders are detected which is Patau Syndrome, characterized by an additional copy of chromosome 13, and a Turner syndrome with mosaic ring X chromosome. These disorders were confirmed by a cytogenetic technique that are useful to analysis the numerous chromosome anomaly.

**Key words:** Cytogenetic, Cell culture, RHG banding, karyotype, Patau syndrome, Turner syndrome.

## ملخص

تحليل الأنماط الوراثية عبارة عن تحليل يقام به لتحديد الأمراض الوراثية الناتجة عن اختلالات في عدد الكروموسومات أو تشوهها والقادرة على تسبب مشاكل في البنية البيولوجية. من خلال هذا العمل، قمنا بصنع وسط بيولوجي للخلايا اللمفاوية، وكذلك تقنية التلوين العكسي الحراري بملون "جيمسا" على كروموسومات مثبتة في مرحلة الإنقسام الخلوي المتساوي عند مريضين: حديث الولادة ذو 10 أيام وفتاة ذات 20 عاما، ومن هنا تم تعيين تشوهين كروموسومين: متلازمة باتو المتمثلة في وجود 3 نسخ للكروموزوم 13، ومتلازمة ترنر مع الكروموزوم X الحلقي. هذا الشذوذ مثبت عن طريق تقنية الوراثة الخلوية التقليدية المستعملة في تحليل العديد من الأمراض الوراثية.

**الكلمات المفتاحية:** الوراثة الخلوية التقليدية، الأنماط الوراثية، متلازمة باتو، متلازمة ترنر نطاقات RHG.