

**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**

**MASTER**

**ETUDE CYTOGÉNÉTIQUE DE QUELQUES  
MALADIES GÉNÉTIQUES.**

**Réalisé par :**

**CHACHOUA Zahoua & TABTI Souhila**

**Soutenu le: 14 juillet 2022.**

**Devant le jury composé de :**

Mme ATMANI. D	Professeur	Présidente
Mme BENMESSAOUD. Y	MCB	Promoteur
Mme BOUAFFAD. Z	MA CHU	Co. promoteur
Mme BENMOUHOUH. H	MAA	Examineur

**Année universitaire : 2021/2022.**

---

*Dédicace*

---

**Je dédie ce modeste travail à la mémoire de mon chère grande - mère et grand-père,  
puisse ils reposer en paix.**

**A Mes Très Chers Parents**

**Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte. .**

**C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et  
c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée.**

**A mes chers frères du plus grand au plus petit, qui m'ont toujours soutenu et qui sont  
toujours là pour m'aider et rendre ma vie agréable.**

**A mes frère Kamel, Hakim, Amirouche et leurs femmes.**

**A mes adorables sœurs**

**Dalila, Naima, Rahima, Sabrina et leurs maris.**

**A mes neveux a qui je leurs souhaits toutes les réussites.**

**A ma grand mère que dieu la grade pour nous a mes tentes, cousine, oncles et cousins.**

**A ma très chère profs et promotrice Mme KARTOUT – BENMESSAOUD Y.**

**A mon ami Lamine qui est toujours été à mes cotés**

**A mes meilleurs amies Ouissame, Anissa, Noura, Salima, Karima en souvenir des  
agréables moments partagés.**

**A toi ma chers binôme Souhila, c'était un grand plaisir de travailler avec toi, ainsi à tout  
ta famille qui présente une seconde famille pour moi.**

**A tout la promo GENETIQUE 2021-2022.**

**CHACHOUA  
Zahoua**

---

## *Dédicace*

---

**Je dédie ce modeste travail à la mémoire de mon chère grande - mère et grand-père,  
puisse ils reposer en paix.**

**A mes chers parents, à qui je dois le mérite d'en arriver là, qu'ils trouvent ici  
l'expression de ma profonde gratitude et mon affection Merci papa, merci maman pour  
tout.**

**A mes très chers frères Baya, louai, mouhend Saïd, qui m'ont toujours soutenue et  
répondue présents pour moi.**

**A mes grands parents, Aicha et Moussa**

**A ma très chère cousine, Soraya et ça petite famille.**

**À mon fiancé Ali qui a toujours été à mes cotés, ainsi qu'à ma belle famille A  
commencer par ma belle mère Zahra, à mon beau père Lahcen et à mes belles sœurs  
Naima et ça petite famille, Lyla, Sabrina et ça petite famille et mes beaux frères Akli et  
ça petite famille, Youcef et Farok.**

**A mes chères cousines et cousins A mes oncles et tantes.**

**A ma très chère profs et promotrice Mme KARTOUT – BENMESSAOUD.Y.**

**A mes amies, Bouchra, Anissa, Hamida, Hizia, Latifa , Romaiassa, Siham en souvenir  
des agréables moments partagés**

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

**À toute la promo BIOCHIMIE 2021-2022.**

**TABTI**

**Souhila**

---

## *Remerciements*

---

**Avant tout. Louange à DIEU le tout puissant, le miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser se travail dans de meilleurs conditions.**

**Nous remercions nos chers parents respectifs pour leurs soutiens, qui nous ont sans cesse encouragés et poussés vers l'avant durant notre parcours.**

**Nous tenons à remercier chaleureusement notre promotrice Mme KARTOUT Epse BENMESSAOUD Yasmine pour l'honneur qu'elle nous a fait, pour sa gentillesse, sa disponibilité, pour ses aides, ses conseils tout en long de l'élaboration de ce modeste travail.**

**Nous remercions infiniment notre co-promotrice Dr BOUAFFAD Zohra, pour sa précieuse collaboration. Sans oublier les techniciens: Belinda, Nouara, Assia, Ourida, Ghania, Lamia en nous fournissant des données précises et un bon encadrement, ainsi Dr FERNANE, Dr ARISKI, Dr CHENANE et AIACHE.**

**Nous remercions également le membre du jury, la directrice M<sup>me</sup> ATMANI et l'examinatrice M<sup>lle</sup> BENMOUHOU, pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'évaluer ce travail et de participer à la soutenance.**

**Nos remercions les plus sincères au corps professoral et administratif de l'université de Bejaia, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée**

**En fin, nous remercions tous ceux de près ou de loin qu'ont contribué à la réalisation de ce travail.**

---

# Sommaire

---

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	01

## Chapitre I : Rappel bibliographique

I.1. Cytogénétique.....	02
I.1.1. Cytogénétique conventionnelle.....	03
I.1.2. Cytogénétique constitutionnelle .....	04
I.1.3. Cytogénétique moléculaire.....	09
I.2. Anomalies chromosomiques.....	13
I.2.1. Introduction.....	13
I.2.2. Anomalies de nombres.....	14
I.2.3. Anomalies de structures.....	19
I.2.3.1. Anomalies équilibrées.....	19
I.2.3.2. Anomalies déséquilibrées.....	23

## Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Description du lieu de stage.....	27
II.2. Matériel.....	28
II.3. Protocole de réalisation d'un caryotype.....	29
II.4. Étalement des lames .....	36
II.5. Dénaturation des chromosomes.....	37
II.6. Coloration des lames.....	39
II.7. Observations au microscope photonique muni d'un appareil à photo numérique.....	39
II.8. Établissement d'un caryotype.....	40

## Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats	
III.1.1. Patient 1.....	41
III.1.2. Patient 2.....	44
III.1.3. Patient 3.....	46
III.2. Discussions	
III.2.1. Patient.....	50
III.2.2. Patient 2.....	51
III.2.3. Patient 3.....	53
Conclusion.....	54
Références bibliographiques	
Annexes	



---

## *Liste des figures*

---

### **Chapitre I**

<b>Figure 01:</b> Anatomie d'un chromosome.....	05.
<b>Figure 02:</b> Aspects morphologiques des chromosomes en fonction de l'indice centromériques.....	06.
<b>Figure 03:</b> Caryotype humain normal (46, XY) en bande G et R.....	08.
<b>Figure 04:</b> Principe de l'hybridation in situ fluorescente.....	10.
<b>Figure 05:</b> Principe de CGH sur chromosome.....	12.
<b>Figure 06:</b> Caryotype caractérisé par une triploïdie 69, XXX.....	14.
<b>Figure 07 :</b> Caryotype d'un myéloblaste d'une patiente atteinte de leucémie caractérisé par une tétraploïdie ( $4n = 92$ chromosomes).....	15.
<b>Figure 08:</b> Caryotype caractérisé par une monosomie de gonosome X (Syndrome de Turner).....	16.
<b>Figure 09 :</b> Caryotype d'une patiente atteint une trisomie 21 (syndrome de down).....	17.
<b>Figure 10 :</b> Différentes structures des marqueurs chromosomiques.....	19.
<b>Figure 11 :</b> Les inversions.....	20.
<b>Figure 12:</b> Insertion.....	20.
<b>Figure 13:</b> Translocation réciproque.....	21.
<b>Figure 14:</b> Translocation robertsoniennes.....	22.
<b>Figure 15 :</b> Mécanisme de formation de translocation robertsonienne.....	22.
<b>Figure 16:</b> Délétion.....	24.
<b>Figure 17:</b> Les duplications.....	25.

**Figure 18:** Chromosome en anneaux.....25.

**Figure 19 :** Isochromosome monocentrique et dicentrique.....26.

## **Chapitre II**

**Figure 20:** Centre de Transfusion Sanguin.....27.

**Figure 21:** Préparation de milieu de culture.....29.

**Figure 22 :** les étapes de la culture cellulaire.....30.

**Figure 23 :** Etape de l'arrete de la culture cellulaire.....31.

**Figure 24 :** Les étapes de préparation de KCl.....32.

**Figure 25 :** Etapes de choc hypotonique.....33.

**Figure 26 :** Etapes de la préfixation.....34.

**Figure 27 :** Etapes de la premiere fixation.....34.

**Figure 28 :** Etapes de la deuxième fixation.....35.

**Figure 29 :** Etapes de la troisième fixation.....35.

**Figure 30:** Etapes de l'étalement des lames.....36.

**Figure 31 :** Préparation de la solution saline équilibré d'Earl.....38.

**Figure 32:** Les étapes de dénaturation des chromosomes.....38.

**Figure 33:** Coloration des lames.....39.

**Figure 34 :** Microscope photonique équipé d'un appareil à photo numérique.....40.

## **Chapitre III**

**Figure 35 :** Deux métaphases différentes contenant successivement 46 chromosomes (A) et 45 chromosomes (B) chez une fille âgée de 10 ans.....41.

<b>Figure 36 :</b> Caryotype d'une fille de 10 ans atteint du syndrome de Turner.....	42.
<b>Figure 37 :</b> Caryotype d'une fille de 10 ans atteint du syndrome de Turner.....	43.
<b>Figure 38 :</b> Une métaphase contient 47 chromosomes.....	44.
<b>Figure 39 :</b> Caryotype d'une fille de 4 ans atteint du syndrome de trisomie X.....	45.
<b>Figure 40 :</b> Une métaphase contient 46 chromosomes.....	46.
<b>Figure 41 :</b> Caryotype d'une fille de 6mois atteint du syndrome de poly-malformatif.....	47.
<b>Figure 42 :</b> Une métaphase contient 46 chromosomes.....	48.
<b>Figure 43 :</b> Caryotype d'un homme de 41 ans atteint d'une trisomie 21 par insertion de chromosome 21 sur le chromosome 15.....	49.
<b>Figure 44 :</b> L'arbre généalogique d'une famille hérite une trisomie 21 par translocation robertsonienne sur le chromosome 15.....	50.

---

## Liste des tableaux

---

**Tableau I** : Nomenclature cytogénétique.....07.

**Tableau II** : Nomenclature des standards chromosomes .....13.

---

## Abréviation

---

**ACPA** : analyse chromosomique sur puces à ADN.

**AND**: Acide Désoxyribonucléique.

**ADNr**: Acide désoxyribonucléique rébosomal

**ARNr**: Acide ribonucléique rébosomal.

**ARX**: Aristaless-Related homeobox Gene.

**BrdU** : Bromodésoxyuridine.

**CGH** : Comparative Genomic Hybridisation.

**CNV**: Copy Number Variation

**Cy3**: Cyanine 3.

**Cy5**: Cyanine 5.

**DAPI**: Diamidino-Phenylindole Pihydrochloride.

**DOP-PCR**: Degenerate Oligonucleotide Primer- Polymerase Chain Reactin.

**DYRK1A**: dual-specificity tyrosine-regulated kinase 1A.

**DS**: Syndrome de Down.

**FISH** : Hybridation *in Situ* en Fluorescence.

**HVG** : Hypertrophie du Ventricule Gauche.

**HTAP** : Hypertension Artérielle Pulmonaire.

**IC**: Index Centromérique.

**KCl** : chlorure de potassium.

**LWD** : Dyschondrostéose de Léri-Weill.

**NOR**: Nucleolar Organizer.

**OPHN1:** Oligophrenine 1.

**P:** Bras court.

**PAR1 :** Région Pseudoautosomique 1.

**PAR2 :** Régions Pseudoautosomale 2.

**PCR:** Polymerase Chain Reactin.

**POF :** Premature Ovarienne Failure.

**q:** Bras longue.

**QF-PCR:** Polymerase Fluorescente Quantitative.

**RIF :** Rapport des Intensités de Fluorescence.

**RPMI :** Milieu Roswell Park Mémorial Institute.

**RT:** Translocation Robertsenienne.

**SNC :** Système Nerveux Central.

**SNP:** Polymorphism Simple Nucleotide.

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

**ST:** Syndrome de Turner.

**T21:** Trisomie 21.

**°C:** degrés Celsius

# **Introduction**

La génétique est l'une des disciplines de la biologie, c'est la science de l'hérédité. Elle étudie les caractéristiques génétiques des individus, leur transmission intergénérationnelle et leur variation (mutation). L'étude de cette transmission génétique a conduit ainsi à l'établissement des lois de Mendel. L'identification de l'ADN comme support de l'information génétique a conduit au développement de la génétique moléculaire (**Bechkri, 2020**).

Une maladie génétique est un processus pathologique chez un individu due à toute modification du génome, notamment une altération d'un ou plusieurs gènes. L'un des enjeux de cette discipline est donc de comprendre les mécanismes d'origine de ces maladies en liant gènes et pathologie. Différentes stratégies d'apprentissage peuvent alors être mises en place (**Béri, 2018**).

La cytogénétique est une discipline génétique qui permet l'étude des paramètres d'identification et d'organisation des chromosomes à l'état métaphasique pour établir des caryotypes. Le choix des techniques cytogénétiques dans la recherche d'anomalies chromosomiques est désormais très large. Il doit donc être adapté à chaque situation, y compris les anomalies constitutionnelles ou acquises ou les tumeurs, et on ne saurait trop insister sur le rôle du caryotype, qui peut être suffisant, ou conduire à des techniques cytogénétiques moléculaires (**Berger, 2006**). La mise en évidence d'anomalies chromosomiques représente un moyen efficace d'isoler et d'identifier des gènes candidats (**Béri, 2018**). Aujourd'hui, la résolution cytogénétique a atteint le niveau des gènes, permettant d'affiner les corrélations génotype/phénotype, améliorant ainsi le conseil génétique des anomalies chromosomiques (**Vago, 2009**).

Cependant, le but du présent travail comporte à déceler les différents types d'anomalies chromosomiques, qu'elles soient congénitales ou acquises ; les anomalies de nombre tel que les aneuploïdies (la monosomie X, trisomie 21 et trisomie X) ou de structure, qui peuvent être équilibrées (cas de la trisomie 21 par translocation robertsonienne) ou déséquilibrées.

La présente étude est subdivisée en trois parties, le premier chapitre consiste en un rappel bibliographique sur la cytogénétique et les anomalies chromosomiques. Le second chapitre consiste à présenter la technique de la cytogénétique conventionnelle ainsi que l'établissement des caryotypes à partir de chromosomes issus de culture de lymphocytes des patients suspectés de différentes maladies génétiques. Enfin le dernier chapitre est consacré à présenter les résultats obtenus et discutés à l'issue des signes cliniques.

# CHAPITRE

# I

## I.1. La cytogénétique

### I.1.1. Historique

En 1879, Fleming a observé un composant nucléaire fortement coloré qu'il a appelé chromatine. Celle-ci se condense au cours de la division cellulaire sous la forme de "bâtonnets" (**Serre et al., 2013**).

En 1888, Waldeyer a proposé le terme chromosome pour désigner les éléments visibles au cours de la division cellulaire. Du fait de l'enchevêtrement des chromosomes, ils sont difficiles à dénombrer, visibles au stade métaphase et quelque peu erratique variant entre 32 à 48 pour les nombres diploïdes et 16 et 24 pour les nombres haploïdes en fonction des techniques et du matériel utilisé (**Berger, 2006**).

En 1956, Tjio et Levar ont défini le nombre exact des chromosomes chez l'espèce humaine qui est établi à 46 (44 chromosomes d'autosomes et 2 chromosomes sexuels, XX pour la femme et XY pour l'homme).

Deux ans plus tard, Lejeune *et al.*, ont ouvert la voie de la cytogénétique médicale pour la 1<sup>ère</sup> fois au monde, le lien entre un syndrome clinique avec retard mental et une anomalie chromosomique (**Vago et al., 2009**).

La cytogénétique est une science émergente, née à la fin du XIXe siècle. La cytogénétique humaine permet de déceler des anomalies chromosomiques de nombre ou de structure qui peuvent être constitutionnelles ou acquises (**Chhah, 2016**). La première anomalie chromosomique était la trisomie 21 qui était associée au syndrome de Down, dits à l'époque «Mongoliens» (**Vago et al., 2009**).

Quelques années plus tard, plusieurs anomalies de nombre ont été identifiées, telle que la trisomie 18 (syndrome d'Edwards) décrite par le généticien anglais John Edwards en 1960 (**Cereda et al., 2012**), Klaus Patau est le premier qui a décrit en 1960 la trisomie 13 (syndromes de Patau) (**Noriega et al., 2021**) et la monosomie X (syndrome Turner) en 1938 par Henri Turner (**Kikkeri et al., 2021**).

La première introduction de la technologie des bandes sur les chromosomes humains est due à Caspersson *et al.* Utilisant un marqueur fluorescent. A partir de 1970, d'autres techniques de bandes qui utilisent fréquemment la coloration Giemsa et permet d'obtenir une préparation permanente. Le plus couramment utilisé pour amener les bandes G, bandes R, bandes c, et selon les besoins de l'analyse des bandes T (région des télomères) et NOR (organisateur nucléolaire).

Au début des années 1970, l'hybridation *In situ* a été introduite chez l'homme, localisant ainsi les séquences d'ADN satellites. Après un certain temps, le marquage des sondes est réalisé par des techniques utilisant la radioactivité. La simplification des méthodes vient de leur marquage fluorescent, d'où le nom hybridation *in situ* à fluorescente ou FISH. Cette dernière s'est rapidement imposée indispensable comme technique complémentaire aux caryotypes conventionnels dans certaines indications (**Siffroi et al., 2004**).

En 1992, l'équipe de Dan Pinkel a développé une nouvelle technologie en cytogénétique appelée hybridation génomique comparative (CGH) et en raison du développement de l'informatique, d'autres techniques ont été développées sur la base de CGH (CGH-array et SNP-array), les techniques de biologie moléculaire et la connaissance des séquences du génome humain (**Malan et al., 2007**).

### **I.1.2. Définition**

La cytogénétique est une science visant à détecter les anomalies chromosomiques constitutionnelles ou acquises par des techniques chromosomiques ou moléculaires, à étudier l'arrangement des gènes au niveau chromosomique, à quantifier le nombre de copies de gènes et à rechercher la présence de gènes de fusion (**Vago et al., 2009**).

### **I.1.3. Cytogénétique conventionnelle**

Cytogénétique conventionnelle ou classique incluant l'analyse de tous les chromosomes (réalisation d'un caryotype) avec une résolution d'environ 10 Mb. Il permet la détection de toutes les anomalies cytogénétiques numériques et structurelles (équilibrées et non équilibrées) (**Pouw, 2021**). Elle utilise des techniques de culture cellulaire et de microscopie (technique cytogénétique moléculaire, technique de bandes) pour déterminer les caryotypes prénataux ou postnataux (**Krahn et al., 2016**).

Le caryotype est une méthode qui favorise l'étude des chromosomes d'un individu. Cette technique permet d'obtenir des images de chromosomes dans des cellules en métaphase ou en prométaphase au microscope optique. En génétique médicale, les caryotypes permettent de mettre en évidence des réarrangements chromosomiques équilibrés ou non. La résolution d'un caryotype standard est d'une bande chromosomique, soit environ 5 à 10 méga basé (Mb) (**Abairrou, 2013**).

#### I.1.4. Cytogénétique constitutionnelle

La cytogénétique constitutionnelle est une technique qui correspond à distinguer les indications du caryotype en période prénatale et en période postnatale (**Coulibaly, 2020**).

##### I.1.4.1. Types de prélèvements

###### ➤ Prélèvement prénatal

La cytogénétique prénatale est un outil de diagnostic prénatal conçu pour détecter les anomalies chromosomiques chez les fœtus à risque d'anomalies du développement. L'amniocentèse reste le type de prélèvement le plus courant et est réalisée au cours du premier trimestre, vers 15-16 semaines d'aménorrhée. Le liquide amniotique contient des fibroblastes fœtaux, qui sont cultivés et analysés. Les échantillons peuvent également être rapidement analysés par réaction quantitative en chaîne par polymérase fluorescente (QF-PCR) ou hybridation *In situ* par fluorescence (FISH) pour obtenir des résultats préliminaires. Les villosités chorales peuvent également être retirées du col de l'utérus ou de l'abdomen vers 12 semaines pour une analyse chromosomique directe ou une culture (**Dupont, 2020**).

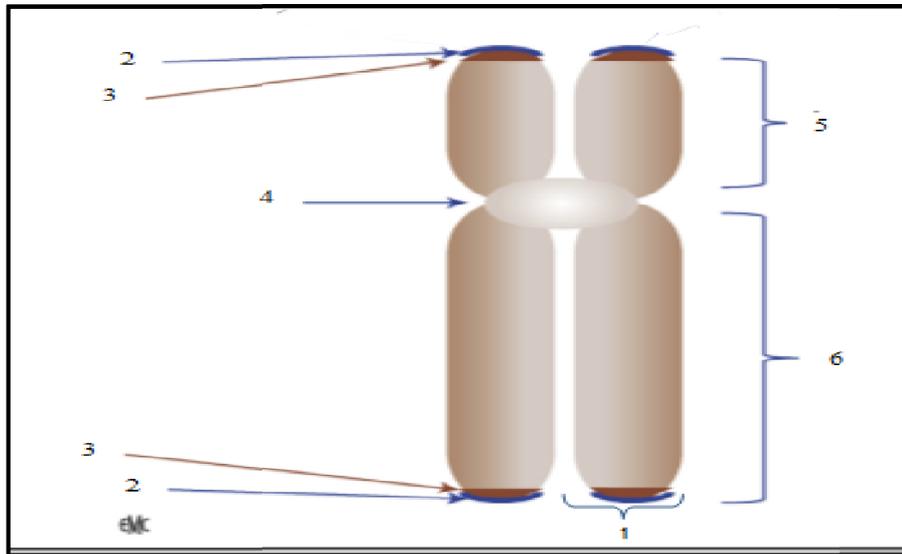
###### ➤ Prélèvement postnatal

Ce type de caryotypes a d'abord été proposé avant de suggérer fortement des associations avec des signes de syndromes chromosomiques connus. Le prélèvement postnatal permet de détecter les déséquilibres chromosomiques, les délétions ou les duplications. Les développements récents des puces à ADN génomique ont modifié les indications du caryotype dans l'exploration de la déficience intellectuelle. Par rapport aux caryotypes standards, des déséquilibres de plus petite taille peuvent être mis en évidence, augmentant significativement le niveau de résolution. Les dérivés de translocation sont suspectés sur les puces à ADN lorsque la partie terminale d'un chromosome est supprimée et la partie terminale de l'autre chromosome est dupliquée. Les dérivés de translocation réciproque peuvent être le résultat de translocations réciproques parentales équilibrées (**Caignec, 2011**).

##### I.1.4.2. Morphologie et structure du chromosome

Les chromosomes sont un moyen d'organiser l'ADN en paquets gérables (**Stewart, 2010**). La morphologie des chromosomes humains vue au microscope optique reflète la structure des fibres chromosomiques héritées de la longue évolution des molécules d'ADN chromosomique. Un chromosome en métaphase est constitué de deux chromatides sœurs, reliées par un

centromère, dont la position définit les deux bras du chromosome, le bras court (p) et le bras long (q). L'indice centromérique ( $p/p+q$ ) distingue les chromosomes métacentriques, submétacentriques et acrocentriques (**Figure 01**) (Abairrou, 2013).



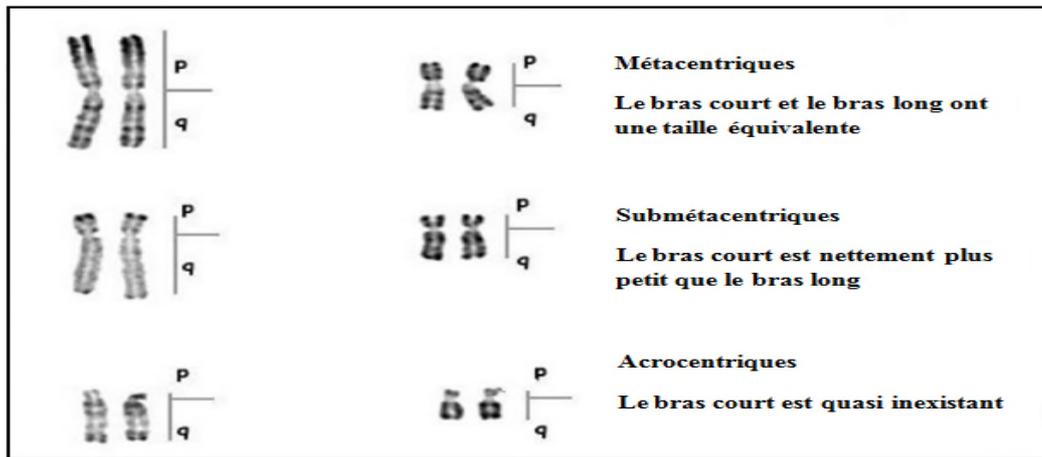
**Figure 01** : Morphologie d'un chromosome. (1) Chromatide mère ; (2) Télomère ; (3) Subtélomère ; (4) Centromère ; (5) Bras court (p) ; (6) Bras long (q) (Dimassi *et al.*, 2017).

Les chromosomes sont classés selon leurs caryotypes qui permettent de connaître et de classer les chromosomes :

- **La taille** : Les chromosomes sont classés du plus grand au plus petit.
- **L'index centromérique (IC)** : Le rapport entre la taille du bras court et la taille totale du chromosome ( $p/p+q$ ).

Cet index permet de reconnaître trois catégories de chromosomes (**Figure 02**) :

- **Les chromosomes métacentriques** : dont les deux bras ont une taille à peu près équivalente ( $IC = 1/2$ ).
- **Les chromosomes submétacentriques** : qui ont un bras franchement plus petit que le bras long ( $0 < IC < (1/2)$ ).
- **Les chromosomes acrocentriques** : dont le bras court est quasi inexistant ( $IC \approx 0$ ) (Abairrou, 2013).



**Figure 02** : Aspects morphologiques des chromosomes en fonction de l'indice centromérique (Abairrou, 2013).

En fonction de la taille et de la position du centromère, les chromosomes de l'espèce humaine sont classés en 7 groupes (Abairrou, 2013):

Le groupe A : Les grands médians et submédians 1, 2, 3.

Le groupe B : Les grands distaux 4, 5.

Le groupe C : Les médians et submédians moyens 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et X.

Le groupe D : Les grands acrocentriques 13, 14 et 15.

Le groupe E : Les petits submédians 16, 17 et 18.

Le groupe F : Les petits médians 19, 20.

Le groupe G : Les petits acrocentriques 21, 22 et Y.

Il existe un Système International de Nomenclature Cytogénétique Humaine (ISCN : Système International de Nomenclature Cytogénétique Humaine) qui définit précisément la composition chromosomique d'un sujet (Tableau I) (Chellat, 2021).

**Tableau I : Nomenclature cytogénétique Chez l'espèce humaine (Abairrou, 2013).**

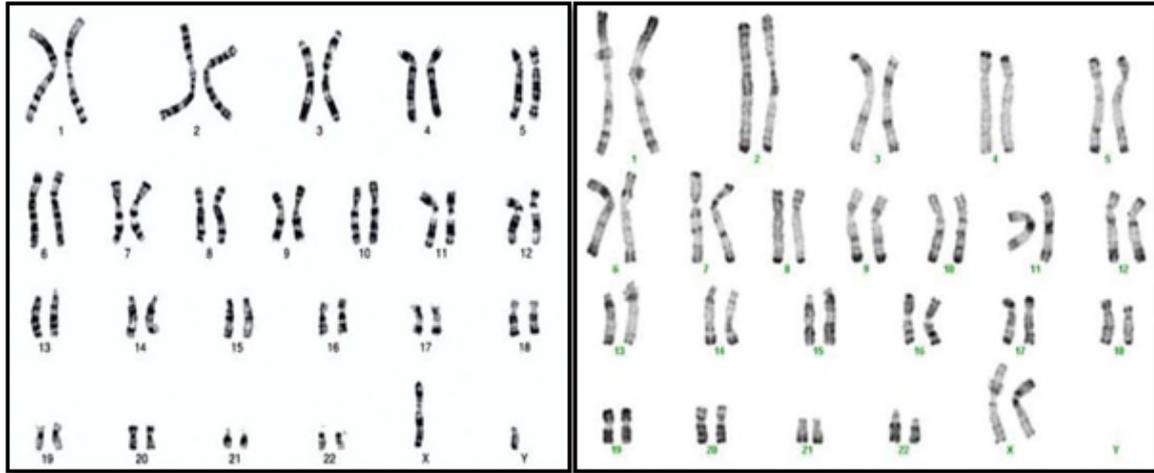
Nomenclature génétique	Signification
p	Bras court
q	Bras long
q <sup>2</sup>	Deuxième région du bras long
q23	Troisième bande de la deuxième région du bras long
11q23	Troisième bande de la deuxième région du bras long du chromosome 11
Inv	Inversion : remaniement impliquant une double cassure sur un chromosome et recollement après inversion
T	Translocation : échange de matériel entre deux chromosomes
Der	Dérivés : marqueurs partiellement identifiés avec des centromères de chromosomes identifiés.
Mar	Marqueur chromosomique non identifié
R	[ring] : chromosome en anneau
Del	Délétion : perte d'un segment chromosomique

### I.1.4.3. Marquage chromosomique

Plusieurs techniques de bandes chromosomiques sont utilisées dans les laboratoires de cytogénétique qui peuvent identifier les chromosomes et détecter des anomalies subtiles dans la structure des chromosomes. Elle est identique sur 2 chromatides sœurs et deux chromosomes homologues. Le nombre de bandes observables pour tous les chromosomes (environ 300 à 450 bande). Le Q-banding a été la première méthode de coloration utilisée pour générer des motifs de bandes spécifiques (Egea, 2010). Plusieurs techniques de bandes chromosomiques ont été utilisées :

**Bande G :** Obtenue par dénaturation enzymatique des chromosomes avec de la trypsine. Et coloration au Giemsa. L'ADN à bande G est riche en Liaison A-T (figure 03) (Egea, 2010).

**Bande R (Revers) :** Elle révèle essentiellement le schéma opposé de la bande G, obtenu par dénaturation thermique dans une solution saline puis colorés au Giemsa. Ce traitement dénature la région d'ADN riche en AT et colore la riche en GC (**Figure 03**) (**Strachan et al., 2004**).



**Figure 03 :** Caryotype humain normal de sexe masculin (46, XY) en bande G (**A gauche**) et caryotype féminine normal (46, XX) en bande R (**A droite**) (**Egea, 2010**).

**Bande T :** Il peut identifier un sous-ensemble de bandes R, situé près des télomères, un traitement par chaleur plus élevée avant de les colorer avec le Giemsa, ou en utilisant des colorants standards et des colorants fluorescents (**Strachan et al., 2004**).

**Bande Q :** A été la première méthode de coloration utilisée pour générer un motif de bandes spécifique, appliquant la coloration Giemsa après trypsination des protéines chromosomiques. Cette méthode nécessite un microscope à fluorescence (**Jorde et al., 2004**).

**Bande C :** Il démontre l'hétérochromatine constitutive, Principalement au niveau centromérique. Les chromosomes sont généralement dénaturés par une solution saturée d'hydroxyde de baryum avant la coloration au Giemsa (**Strachan et al., 2004**).

**NOR :** C'est une technique cytochimique de coloration à l'argent, il est révélé sous la forme d'un corps sphérique brun foncé-noire (Ag-NOR) sur une chromatine, Cela permet une grande précision dans la cartographie. Ces structures appartiennent aux régions du génome contenant les gènes qui codent pour les ribosomes (**Bloom et al., 1976**).

**Bande GTG :** (Bandes Giemsa avec trypsine) est classée dans le groupe des techniques de bandes morphologiques, il agit sur la structure de la chromatine pour révéler un motif de bande le long du chromosome en s'appuyant sur un processus de réplication active. Un ADN

analogue est incorporé pendant une partie de la synthèse de l'ADN phase théétique du cycle cellulaire. Elle repose sur l'incorporation d'un analogue de la thymidine, la 5'-bromodésoxyuridine (BrdU), pendant la première moitié de la phase S du cycle cellulaire (Lemieux *et al.*, 1990).

### **I.1.5. Cytogénétique moléculaire**

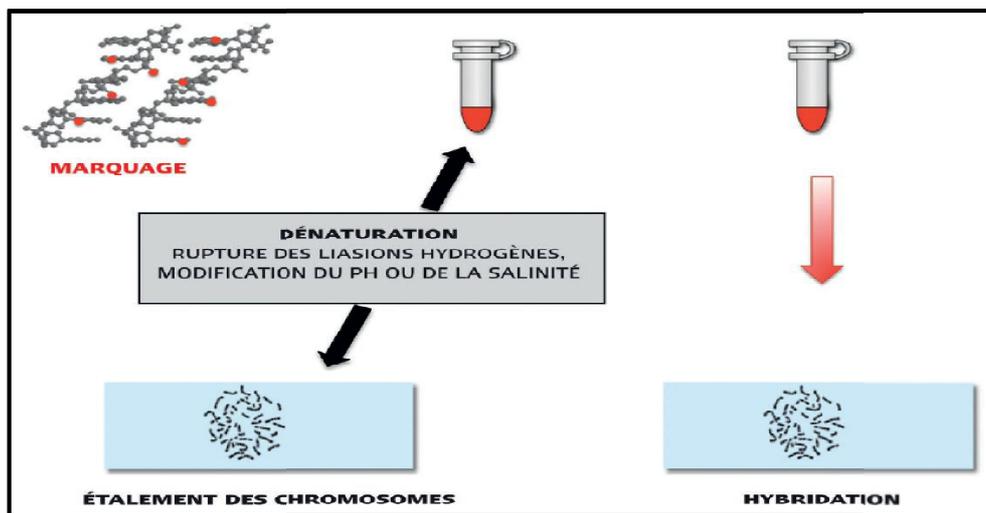
La cytogénétique moléculaire est une nouvelle approche morphologique qui utilise à la fois la biologie moléculaire et les outils de la cytogénétique (Abdelmoula *et al.*, 2000). Les techniques de cytogénétique moléculaire reposent sur le principe de l'hybridation de molécules d'ADN avec des séquences complémentaires variables, selon la technique utilisée et la pathologie étudiée. Les principales méthodes de cette discipline sont l'hybridation *in situ* par fluorescence "FISH" et l'hybridation génomique comparative "CGH" (Abairrou, 2013).

#### **I.1.5.1. Hybridation *in situ* en fluorescence (FISH)**

La Fish est la première technique de cytogénétique moléculaire utilisée pour analyser les aberrations chromosomiques pour les porteurs de translocation (Honda *et al.*, 1999). Cette technique est basée sur le principe de dénaturation et de renaturation de la molécule d'acide désoxyribonucléique. Dans certaines conditions de température, de pH ou de salinité, les deux chaînes d'une molécule d'ADN peuvent être séparées (phénomène appelé dénaturation) puis renaturation d'une manière spécifique (étape de l'hybridation) (Jorde *et al.*, 2004).

##### **I.1.5.1.1. Etapes de la FISH**

- Après le marquage spécifique d'un segment d'ADN (sonde), il est ensuite exposé au chromosome dénaturé au stade métaphase, prophase ou interphase. L'hybridation se fait par la complémentarité spécifique avec les bases azotées entre la sonde et les séquences d'ADN. Les sondes sont marquées avec des colorants fluorescents et peuvent être visualisées sous un microscope à fluorescence où elles s'hybrident aux chromosomes du patient (Figure 04) (Jorde *et al.*, 2004).



**Figure 04:** Principe de l'hybridation *in situ* en fluorescente (Krahn et al., 2016).

### I.1.5.1.2. Les cibles

Globalement, il existe deux types de cibles, les chromosomes métaphasiques et les noyaux interphasiques. Les métaphases sont obtenues par la technique de cytogénétique conventionnelle. On peut utiliser des lymphocytes, des fibroblastes cutanés, des cellules chorales ou amniotiques, des cellules tumorales et des noyaux interphasiques, favorisant ainsi l'analyse d'un grand nombre de cellules en échappant à l'étape de la culture cellulaire. Cela permet un diagnostic direct et rapide, il est utile dans le domaine du diagnostic prénatal, l'identification des anomalies de nombres, aussi la mise en évidence de certains réarrangements chromosomiques acquis, y compris les points de rupture clonaux pour générer la sonde (Abdelmoula et al., 2000).

### I.1.5.1.3. Types des sondes

**Les sondes centromériques :** ciblant principalement chaque chromosome, elles contiennent de courtes séquences d'ADN qui se répètent des milliers de fois près du centromère.

**Les sondes de séquence spécifiques ou uniques au locus :** peuvent mettre en évidence des anomalies structurales cryptiques, telles que l'insertion de séquences sous-dimensionnées qui échappent aux caryotypes conventionnels.

**Les sondes de coloration chromosomique :** Contient des mélanges de sondes obtenues par tri-chromosomique ou par microdissection de chromosomes entiers suivie d'une amplification DOP-PCR (degenerate oligonucleotide primer- polymerase chain reactin) des séquences.

Leur utilisation diagnostique est limitée aux études à moyen terme (**Lafage-Pochitaloff, 2003**).

#### **I.1.5.1.4. Dénaturation de l'ADN et l'hybridation**

En chauffant l'ADN à des températures proches du point d'ébullition, la double hélice se sépare en simple brin. L'ajout de formamide et la présence de faibles concentrations en sel permettent une dénaturation à des températures plus basses, préservant ainsi la morphologie chromosomique. La sonde ADN et la cible ADN sont pré-dénaturées séparément puis mélangées pour l'hybridation. Les lames sont ensuite lavées pour éliminer l'immobilisation non spécifique des sondes (**Salhane, 2013**).

#### **I.1.5.1.5. Visualisation**

La localisation des sondes est révélée par visualisation directe lors de l'incorporation directe de nucléotides fluorescents ou par immunofluorescence indirecte en utilisant des anticorps contre la biotine ou la digoxigénine conjugués à un colorant fluorescent. La FISH multicolore permet la détection simultanée de différentes sondes. Ensuite, les chromosomes sont contre-colorés avec des colorants fluorescents tels que le DAPI (diamidino-phenylindole dihydrochloride) ou l'iodure de propidium. Pour la visualisation, la microscopie chromosomique et les sondes sont effectuées simultanément (**Chevassus-louis, 2000**).

#### **I.1.5.1.6. Analyse des hybrides**

L'analyse des préparations par la FISH se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence standard ajusté avec des filtres appropriés. Les systèmes automatisés d'analyse d'images sont de plus en plus utilisés. En raison de l'amplification du signal transmis, le système permet la détection de signaux de plus en plus faibles. Le logiciel utilisé pour le traitement d'image permet également la conversion d'images chromosomiques colorées par fluorescence en caryotypes traditionnels à bande G en noir et blanc, qui sont utiles pour la localisation précise de la sonde et les réarrangements chromosomiques (**Salhane, 2013**).

#### **I.1.5.2. Hybridation génomique comparative**

La première méthode permettant d'identifier les grandes variations en nombre de copies (CNV) est l'hybridation génomique comparative (CGH). La CGH a été développée à l'origine

pour comparer le nombre de copies de segments chromosomiques sur les chromosomes en métaphase d'un individu donné à une référence normale en utilisant un marquage différentiel de l'ADN par FISH. Par conséquent, la mesure du rapport de fluorescence sur la longueur de chaque chromosome peut localiser les régions de délétion ou d'amplification dans l'échantillon de test (l'ADN de référence est supposé être diploïde en nombre de copies) (Nemos *et al.*, 2008).

### Principe

Cette technique de CGH est basée sur le principe qui consiste à (**Figure 05**) :

- déposer sur une lame des séquences d'ADN d'intérêt.
- marquer les sondes de l'ADN du malade par la Cyanine 3 (Cy3) et l'ADN témoin par la Cyanine 5 (Cy5).
- dénaturer des quantités égales des deux ADN, puis pré-hybrider en présence d'ADN de type Cot1 (ces étapes permettant de saturer les répétitions contenues dans les sondes) et co-hybrider en les déposants sur la cible sur lame.
- placer les lames ensuite dans la chambre d'hybridation pendant au moins 16 heures à une température de 37°C.
- lire le signal à l'aide d'un scanner laser automatisé, après avoir nettoyé les lames. Les données sont ensuite analysées de manière bioinformatique à l'aide d'un logiciel qui enregistre les intensités de fluorescence de l'ADN marqué au Cy3 et de l'ADN marqué au Cy5.
- Après avoir normalisé l'intensité de fluorescence, construire un rapport d'intensité de fluorescence (RIF) et donner une représentation graphique du rapport (Béri-Dexheimer *et al.*, 2007).

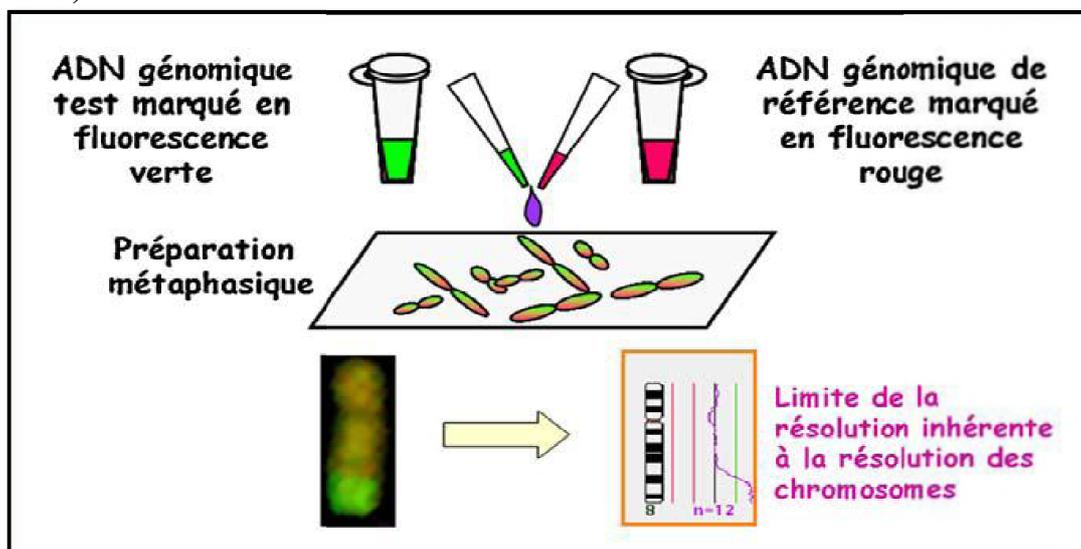


Figure 05 : Principe de la CGH (Allali, 2012).

## I.2. Anomalies chromosomiques

### I.2.1. Introduction

Il existe une forte incidence d'anomalies chromosomiques chez les premiers embryons humains qui sont également responsables d'une grande partie des fausses couches et des troubles congénitaux. Ces anomalies proviennent d'erreurs méiotiques au cours de la formation d'ovocytes (**Viotti, 2020**). Il a été observé que les différents types d'anomalies chromosomiques sont associés à des signes cliniques différents (**Tinga, 2017**). Ces anomalies se répartissent en deux catégories principales, selon leur nombre d'exemplaires altéré (anomalies numériques) ou qu'elles sont anormales dans leur structure (anomalies structurales) (**Strachan et al., 2004**). Des exemples de caryotype des maladies génétique chez l'espèce humaine sont montrés dans le (**Tableau II**).

**Tableau II** : Nomenclature des caryotypes standards chez l'espèce humaine (**Jorde et al., 2004**).

Caryotype	Description
46, XY	Composition chromosomique normal d'un homme.
47, XX, +21	Femme atteinte d'un syndrome de Down ou trisomie 21.
47, XX, +21[10]/46, XY [10]	Homme présentant une trisomie 21 en mosaïque et cellule normale. (10 cellules examinées pour chaque caryotype).
46, XY, del (4) (p14)	Homme, délétion du bras court du chromosome 4 portant le numéro 14.
46, XX, dup (5) (p14p15.3)	Femme présentant une duplication du bras court du chromosome 5 dans les bandes 14 à 15,3
45, XY, der (13 ; 14) (q10 ;q10)	Translocation robertsonienne masculine équilibrée sur les chromosomes 13 et 14. Le caryotype montre le chromosome 13 normal et le chromosome 14 normal supprimés et remplacés par des chromosomes dérivés.
46, XY, t (11 ;22) (q23 :q22)	Chez les mâles, translocations réciproques équilibrées entre les chromosomes 11 et 22. Les points de rupture sont à 11q23 et 22q22.
46, XX, inv (3) (p21 ; q13)	Inversion du chromosome 3 s'étendant de p21 à q13, c'est une inversion centrale dans la mesure où elle inclut le centromère.
46, X, r(X)	Femelles avec chromosomes X normaux et X circulaires (anneau)
46, X, i(Xq)	Femme avec un chromosome X normal et un isosome du bras long du chromosome X.

## I.2.2. Les anomalies de nombre

Les anomalies de nombre influencent sur le nombre de chromosomes, ne touchent pas leur structure normale (Abairrou, 2013). Elles sont déterminées par le gain ou la perte d'un seul ou certains chromosomes (Belmokhtar, 2014).

### I.2.2.1. Polyploïdies

Les polyploïdies représentent un nombre anormal de lots haploïde entiers de chromosomes (krahn et al., 2016). Généralement, chaque individu est composé d'un lot haploïde parental (n) et un lot haploïde maternel (n) qui seront (2n) (Ali cherif et al., 2020).

#### I.2.2.1.1. Triploïdie

C'est l'anomalie la plus connue (krahn et al., 2016), elle représente l'une des principales aberrations chromosomiques rencontrées lors d'un avortement spontané. Cette anomalie est définie par la présence de trois lots haploïdes (3n) avec un caryotype de 69 chromosomes : 69 (XYY, XXY, XXX) (Jorde et al., 2004).

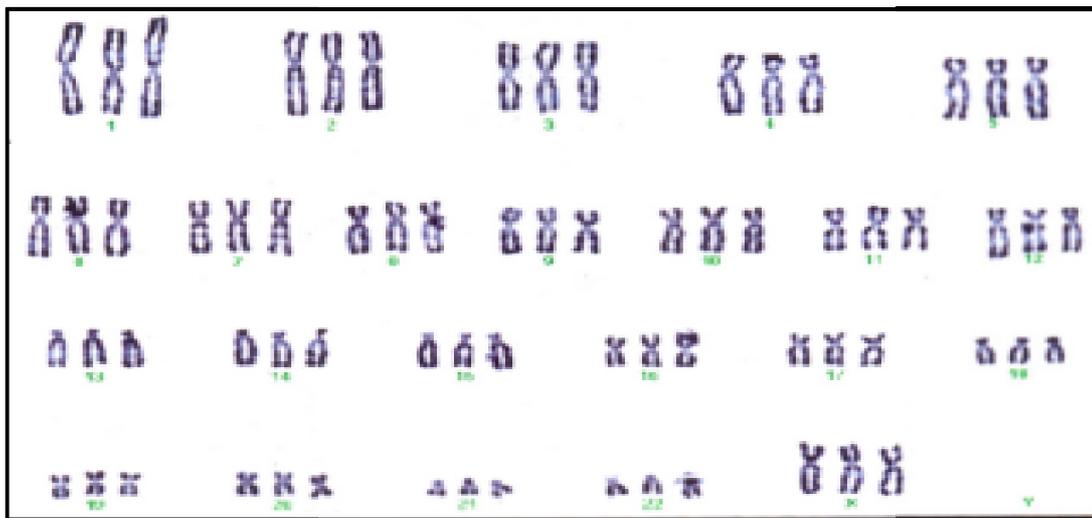
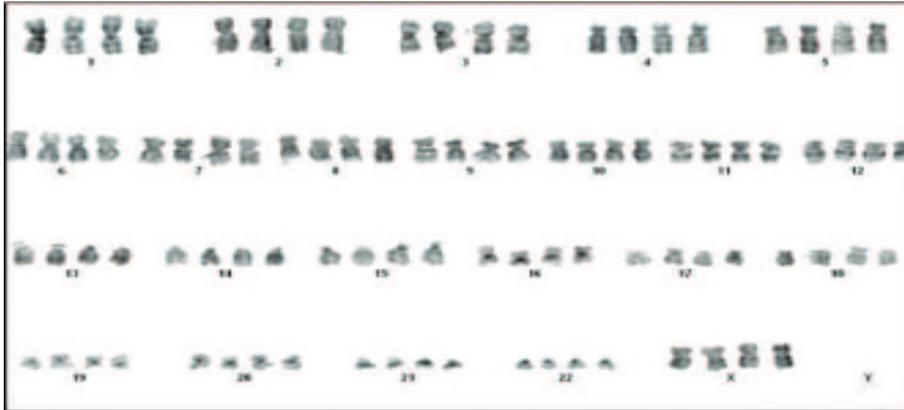


Figure 06 : Caryotype caractérisé par une triploïdie 69, XXX (Ben Hamouda et al., 2010).

#### I.2.2.1.2. Tétraploïdie

Cette anomalie est considérablement plus rare que la triploïdie, elle est due à une mitose anormale au début du développement embryonnaire, au cours de laquelle tous les chromosomes répliqués migrent vers une seule des deux cellules filles. Cette anomalie peut déduire aussi la fusion de deux zygotes diploïdes (4n) (Jorde et al., 2004). Cette anomalie est

quelquefois observée à la naissance (92, XXXX ; 92, XXYY), elle est parfois liée en mosaïque ou avec des clones normaux (**krahn et al., 2016**).



**Figure 07** : Caryotype d'un myéloblaste d'une patiente atteinte de leucémie caractérisée par une tétraploïdie (4n = 92 chromosomes) (**Gentric, 2013**).

### I.2.2.2. Aneuploïdies

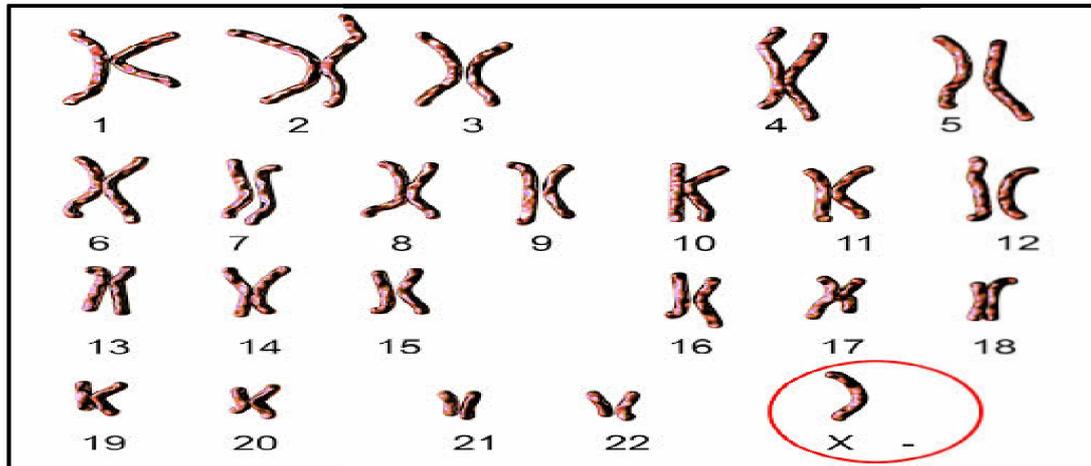
Les aneuploïdies se traduisent par une modification du nombre total de chromosomes (**Lamoril et al., 2008**). Elles se définissent par l'existence d'un surplus ou un manque de chromosomes de diploïdie normale (**Dimassi et al., 2017**), cette mal ségrégation s'observe au cours de la division cellulaire, cette malformation peut survenir au cours de la mitose ou lors de l'une des deux divisions de la méiose (**Lamoril et al., 2008 ; Malan et al., 2012**).

#### I.2.2.2.1. Monosomie

Les monosomies autosomiques sont rarement distinguées à la naissance. Les embryons ayant cette dernière ne sont pas viables et sont excrétés dès la 8<sup>ème</sup> ou 9<sup>ème</sup> semaine de grossesse après la fécondation (**Strachan et al., 2004**). A propos, des monosomies gonosomiques correspondant à la perte d'un chromosome sont exercées au syndrome de Turner (ST) (**Amedimele, 2015**). Cette anomalie ne résume pas la totalité des cas de ST. Dans plus de la moitié des cas, il s'agit d'une mosaïque (45,X/46,XX) et d'une anomalie de l'X, voire de l'Y (délétion, iso-chromosome X, chromosome dicentrique) (**Cabrol, 2007**).

Le syndrome de Turner (ST) est une pathologie chromosomique (**Bois, 2018**), associée à une délétion complète ou partielle du chromosome X (**Maayoufi et al., 2017**). Il affecte principalement les filles, mais des anomalies chromosomiques similaires peuvent également être trouvées chez les garçons (45, mosaïque X associée à la suppression du bras court du chromosome Y, chromosome Y circulaire) et partagent la même prédiction de taille. Certains d'entre eux présentent des malformations génitales marquées et grandissent en tant que filles

(Cabrol, 2007). Le ST, lié soit à une monosomie de l’X (45, X), soit à une mosaïque comportant des cellules 45, X et une lignée cellulaire normale 46, XX ou 47, XY soit à une anomalie du chromosome X (iso-chromosome, chromosome dicentrique, délétion du bras court ou du bras long, chromosome en anneau), mais le plus souvent un iso-chromosome. (Cabrol, 2007 ; Binkert *et al.*, 2010).



**Figure 08 :** Caryotype caractérisé par une monosomie de gonosome X (Syndrome de Turner) (Yelouassi, 2021).

Le syndrome de Turner est une maladie à divers signes cliniques les plus courants sont un retard de développement et une insuffisance gonadique. D'autres signes dysmorphiques peuvent indiquer ce syndrome, tels que le cou court, le ptérygion, la racine des cheveux basse, le quatrième métacarpien raccourci et cubitus valgus, le lymphœdème des pieds et des mains (Kammoun *et al.*, 2008).

La plupart des anomalies du chromosome X sont associées au gène POF (Ferreira *et al.*, 2010), perturbation de ce gène provoque un arrêt des règles pendant 6 mois et la concentrations élevées de gonadotrophines avant l'âge de 40 ans . Deux régions spécifiques sur Xq ont été définies comme locus POF : POF1 (Xq26) et POF2 (Xq13.3 - Xq21.1) qui son responsable de la maintien de la fonction ovarienne (Davison *et al.*, 2000) . En cas de délétion proximale du bras court (Xp), on observe une puberté spontanée, avec possibilité de grossesse et une ménopause précoce. Seule une délétion distale du bras court est compatible avec une fonction ovarienne normale (Cabrol, 2007).

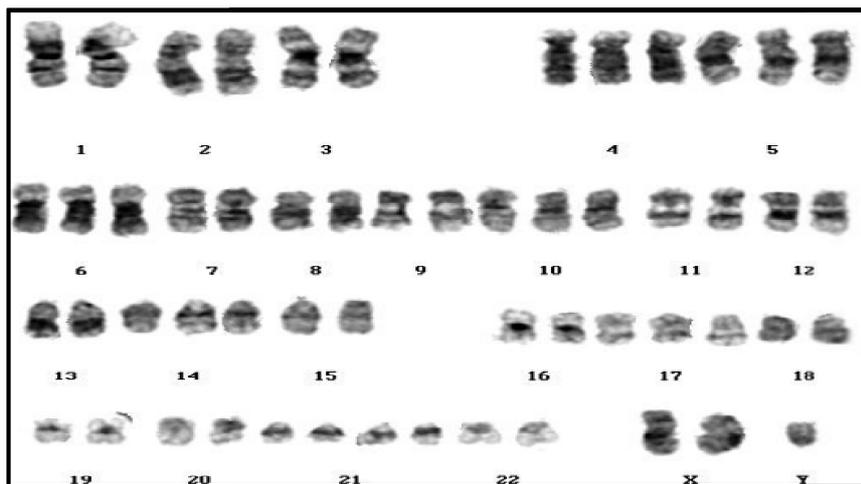
Le gène DFRX (drosophila fat facets related X) est le gène de la dysgénésie gonadique du Syndrome de Turner. Le DFRX est l'homologue humain d'un gène de mouche des fruits

impliqué dans l'ovogenèse et le développement des yeux. Le DFRX échappe à l'inactivation du chromosome X localisé sur la région Xp11.4, cette Xp proximale impliquée dans l'insuffisance ovarienne (Ranke *et al.*, 2001).

### I.2.2.2. 2.Trisomie

En ce qui concerne les autosomes, l'anomalie peut affecter n'importe quel chromosome (Nuria, 2011). La trisomie X est une anomalie chromosomique sexuelle de phénotype variable causée par la présence d'un chromosome X supplémentaire chez les femmes (47, XXX au lieu de 46, XX). Il s'agit de l'anomalie féminine la plus courante par rapport au caryotype 46, XX chez les femmes typiques (Tartaglia *et al.*, 2010). Ces anomalies sont souvent létales sauf pour la trisomie 21 (trisomie chromosomique Down), 13 (syndrome de Patau) et 18 (syndrome d'Edwards) (Nuria, 2011). Elle peut toucher également des sujets atteints d'aneuploïdie gonosomique entraînant des sujets atteints du syndrome (47, XYY), du syndrome du triple X (47, XXX) ou du syndrome de Klinefelter (47, XXY) (Amedimele, 2015).

La trisomie 21 (caryotype 47,XY,+21 ou 47,XX,+21) affecte environ 800 à 1000 naissances vivantes, ce qui en fait le trouble d'aneuploïdie le plus courant compatible avec la survie à terme, Cette trisomie produit le syndrome de Down (Jorde *et al.*, 2004), est la cause la plus fréquente de déficience intellectuelle d'origine génétique. Cette anomalie définie par la présence de trois copies de tout ou d'une partie du chromosome 21 (krahn *et al.*, 2016).



**Figure 09** : Caryotype d'une patiente atteinte d'une trisomie 21 (Syndrome de Down) (Li *et al.*, 2014).

Trisomie X ou syndrome de triple X (47, XXX) est une anomalie chromosomique sexuelle avec un phénotype variable causée par la présence d'un chromosome X supplémentaire chez les femmes, par rapport au caryotype 46, XX des femmes typiques. Le risque de trisomie X augmente avec l'âge maternel avancé (**Tartaglia et al., 2010**).

Cette trisomie survient le plus souvent à la suite d'une non-disjonction pendant la méiose (**Tartaglia et al., 2010**), dans laquelle les chromosomes X ne se séparent pas correctement pendant la division cellulaire, soit pendant la gamétogenèse (résultant en un concepteur trisomique), soit après la conception (appelée non-disjonction postzygotique) (**Yang et al., 2017**).

La triple X est une maladie caractérisée par des signes, les plus courants comprennent une grande taille, des plis épicanthiques, une hypotonie et une clinodactylie. Des doigts qui se chevauchent, un pied plat, un pectus excavatum et une hyperextensibilité articulaire, des convulsions, des anomalies rénales et génito-urinaires et une insuffisance ovarienne prématurée (POF), les caractéristiques psychologiques notamment les déficits de l'attention ainsi que les troubles de l'humeur (anxiété et dépression) (**Tartaglia et al., 2010**).

#### **I.2.2.2.3. Cas particulière : marqueur chromosomique**

Des marqueurs chromosomiques peuvent être définis en plus de 46 chromosomes humains connus. Il s'agit d'un groupe hétérogène d'anomalies structurelles chromosomiques qui peuvent ou non avoir des conséquences phénotypiques. Plusieurs tentatives ont été faites pour trouver des corrélations génotype-phénotype en présence de marqueurs chromosomiques. Les marqueurs chromosomiques surnuméraires sont des chromosomes supplémentaires avec des structures anormales dont l'origine et la composition ne peuvent pas être détectées par les techniques cytogénétiques conventionnelles seules, comme peuvent être dérivés de tous les chromosomes, autosomes et gonosomes, avec une fréquence plus élevée de dérivés acrocentriques, en particulier les chromosomes 15 et 22. Présentant dans un caryotype normal à 46 chromosomes, ou /et un caryotype avec anomalie de nombre (ex : trisomie 21) ou dans un caryotype avec anomalie de structure mais équilibrée (ex : chromosome en anneau ou translocation robertsonienne) (**Figure 10**) (**Samri et al., 2013**).

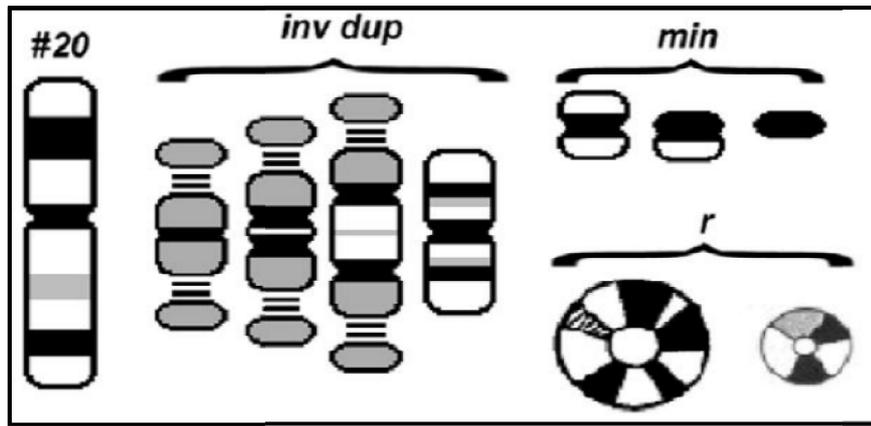


Figure 10 : Différentes structures des marqueurs chromosomiques (Hida, 2013).

### I.2.3. Anomalies de structure

Ces anomalies sont équilibrées, mais elles provoquent des difficultés d'appariement méiotique. Elles peuvent toucher les deux bras de chromosome soit le bras long (q) ou le bras court (p) (Lafage-Pochitaloff, 2003). Sa structure chromosomique anormale apparaît généralement après rupture du bras chromosomique en phase pré-méiotique ou méiotique (Popescu, 1990).

#### I.2.3.1. Les anomalies équilibrées

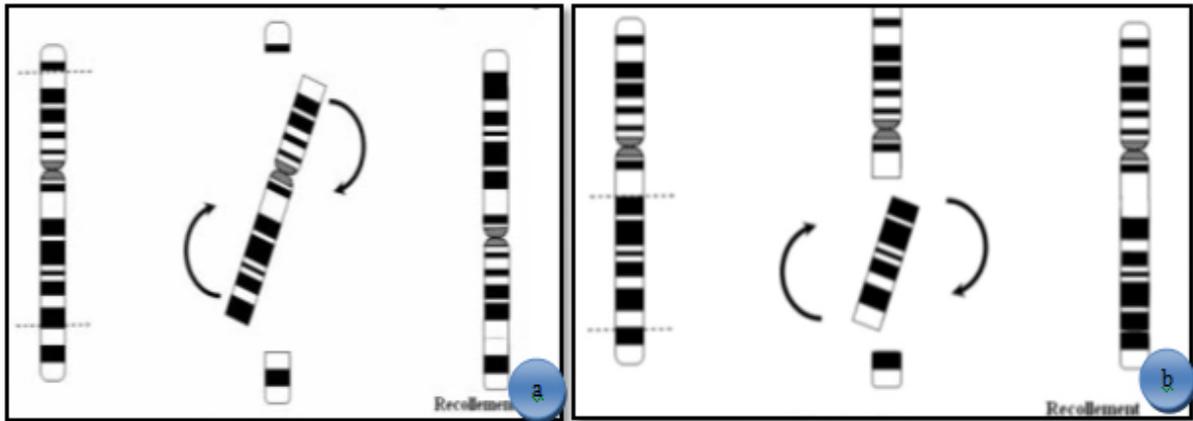
On appelle les anomalies équilibrées quand il n'y a ni gain ni perte de matériel génétique. L'ADN est réarrangé de façon anormale entre les chromosomes. D'une façon normale chaque chromosome est composé d'un seul centromère et deux télomères. Ce type d'anomalies n'interfère pas avec la mitose. La présence d'une anomalie équilibrée chez l'embryon n'influence pas sur leur développement (Donnai et al., 2008).

##### I.2.3.1.1. Les inversions

Elles sont associées à deux cassures chromosomiques sur le même chromosome, le segment entre les deux cassures étant inversé. Si deux points de rupture impliquent le même bras chromosomique, ils peuvent être para-centriques, et péri-centriques (Di massi et al., 2017).

Ces inversions sont équilibrées, mais elles provoquent des difficultés d'appariement méiotique, souvent ça forme un cycle d'appariement. Si le centromère est dans une boucle (inversion du centre), se produit la recombinaison en fragments inversés et conduit à la formation de gamètes anormaux dus à des duplications/défauts de roulements sur les segments éloignés des points de rupture. Plus les segments sont grands, plus c'est létal. Pour

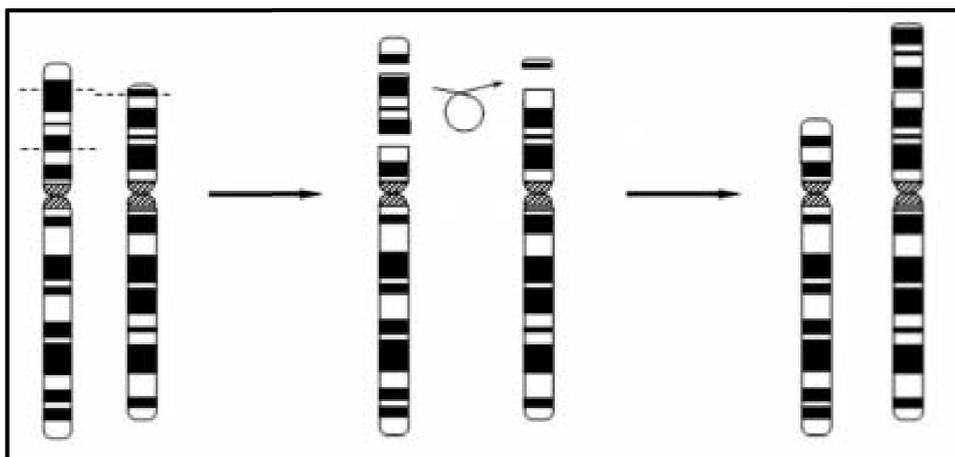
les inversions para-centromériques, le chromosome recombiné sera di-centrique ou acentrique et donc l'œuf fécondé peut être produit mais est rarement viable. En effet, ces chromosomes sont instables pendant la mitose (**Figure 11**) (**Krahn et al., 2016**).



**Figure 11** : Les inversions (a) péri-centriques, (b) para-centriques (**Marc et al., 2004**).

#### I.2.3.1.2. Les insertions

Les insertions se traduisent par le transfert d'un segment intercalaire d'un bras de chromosome à l'intérieur du bras d'un autre segment chromosomique. Elles résultent d'un mécanisme à trois cassures, deux sur le chromosome donneur et une sur le chromosome receveur. Le chromosome donneur et receveur peuvent être un seul et même chromosome. Le segment inséré peut conserver son orientation par rapport au centromère ou s'inverser. Des gamètes monosomiques ou trisomiques pour le segment inséré pourront être formés lors de la méiose (**Figure 12**) (**Krahn et al., 2016**).



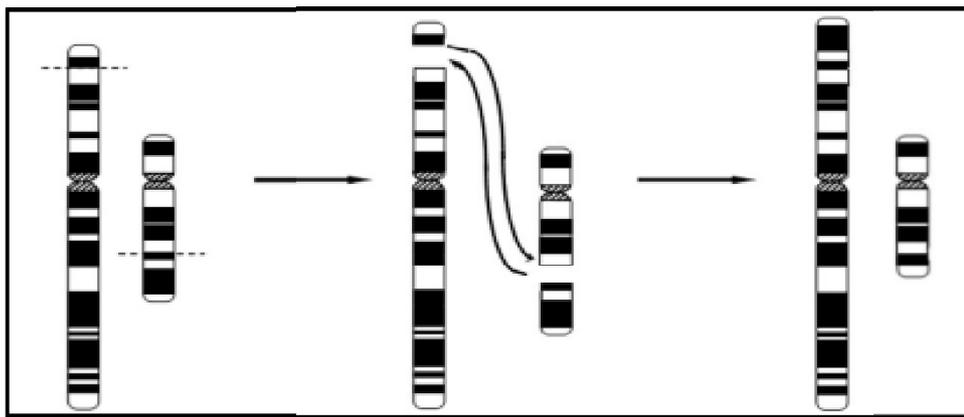
**Figure 12** : Insertion chromosomique (**Marc et al., 2004**).

### I.2.3.1.3. Les translocations

Les translocations sont indiquées par deux cassures sur deux chromosomes divers, fréquemment non homologues. Ces anomalies se caractérisent par deux types essentiels de translocation (robertsonienne et réciproques). Ces dernières peuvent être équilibrées ou déséquilibrées (Dimassi *et al.*, 2017).

#### I.2.3.1.3.1. Translocation réciproque

Les translocations réciproques équilibrées sont parmi les réarrangements chromosomiques les plus fréquents chez l'homme. Une translocation réciproque simple se produit lorsqu'il y a un échange bidirectionnel entre deux chromosomes dans lequel deux segments chromosomiques de deux chromosomes se détachent, se transloquent et s'unissent (**Figure 13**) (Chen *et al.*, 2010). Les porteurs de translocations réciproques peuvent avoir des antécédents de reproduction qui peuvent inclure l'infertilité, la fausse couche récurrente, les anomalies fœtales et chromosomiques et une progéniture anormale (**Figure 13**) (Flowers *et al.*, 2020).



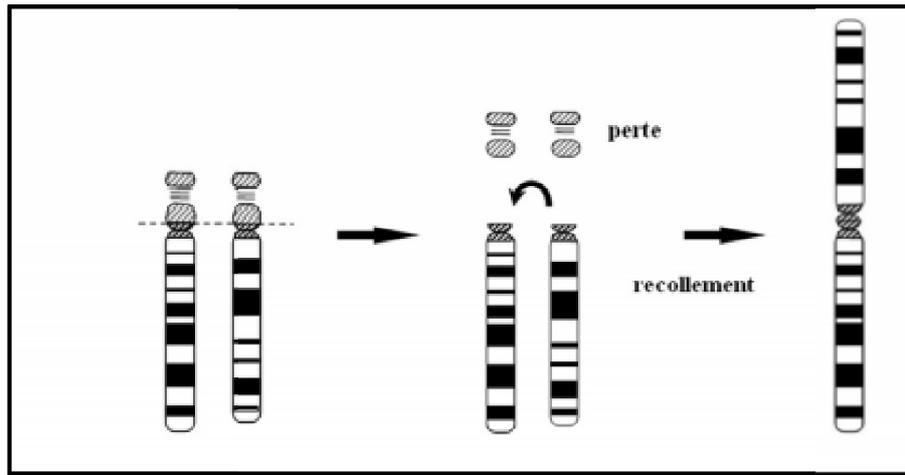
**Figure 13 :** Translocation réciproque (Marc *et al.*, 2004).

#### I.2.3.1.3.2. Translocation robertsonienne

Les translocations robertsoniennes (RT) sont les réarrangements structuraux équilibrés les plus courants chez l'homme (Mau *et al.*, 2000). C'est un type spécifique de translocation entre deux des cinq chromosomes acrocentriques humains (chromosomes 13, 14, 15, 21, 22) réduisant le nombre de chromosomes à 45 (Dimassi *et al.*, 2017). Comme les bras courts de ces chromosomes acrocentriques sont très petits, ils ne contiennent aucun matériel génétique nécessaire. Le bras court est perdu lors de présence d'une anomalie (translocation robertsonienne) au moment de la division cellulaire (Jorde *et al.*, 2004). La rupture des bras courts des deux chromosomes efférents acrocentriques, suivie de l'échange des segments acentriques et centromériques donne des produits acentromériques et dicentriques (Dimassi *et*

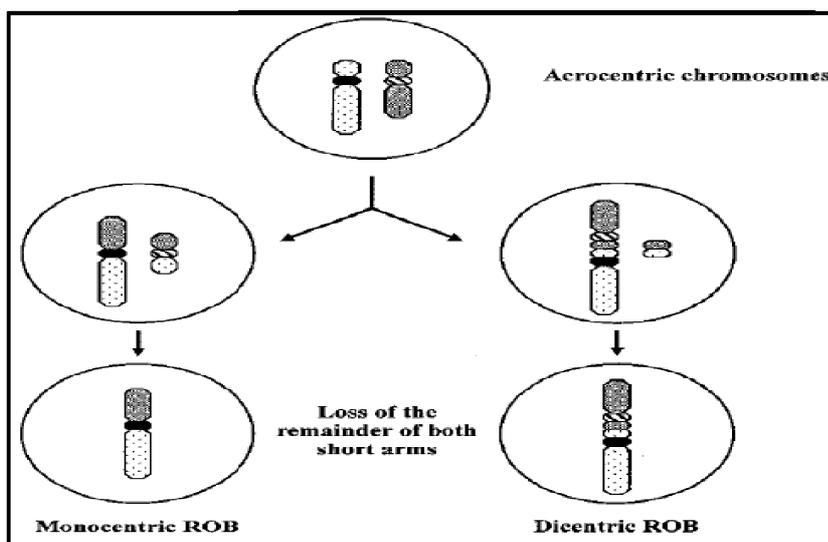
*al.*, 2017). Ces translocation sont classées en deux groupes, selon leur fréquence d'apparition : les formes les plus fréquentes sont rob (13q 14q) et rob (14q 21q) (**Figure 14**) (*Azevedo et al.*, 2013).

Chez un porteur d'une RT, la non-disjonction dans la méiose I entraînerait des gamètes disomiques ou nullisomiques. L'union d'un gamète disomique et d'un spermatozoïde normal conduit à un concept avec trisomie incluant une RT. Le risque associé à la non-disjonction dépend des chromosomes impliqués (**Figure 15**) (*Kim et al.*, 2002).



**Figure 14** : Translocation robertsonienne (RT) (*Marc et al.*, 2004).

Les signes cliniques associés à cette anomalie sont un retard mental, des malformations cardiaques, une hypotonie, des problèmes gastro-intestinaux, des maladies respiratoires, une maladie d'Alzheimer précoce et un risque accru de leucémie, un visage rond, une microcéphalie, une inclinaison mongoloïde des fissures palpébrales, un hypertélorisme, des plis épi-cantiques et une langue saillante et une cyanose avec des pleurs (*Atkins et al.*, 1974).



**Figure 15** : Mécanisme de formation d'une translocation robertsonienne (*Kim et al.*, 2002).

Les bras courts des chromosomes acrocentriques contiennent des amas d'ADN satellites I, II, III et IV (dans la bande chromosomique p11), des centaines de sites de liaison de facteurs de transcription (par exemple, pour CTCF, Oct4, Myc), des sites pour des protéines de liaison à l'ADN telles que comme cohésines, condensines et réseaux d'un opéron d'ADNr codant pour un pré-ARNr 47S (dans la bande p12). Les bras courts des chromosomes acrocentriques sont tous regroupés dans le nucléole, dans lequel la transcription de l'ADNr et le traitement du pré-ARN 47S ont lieu. Ces derniers sont transcriptionnellement actifs, ce regroupement est indépendant du nombre de blocs d'ADNr. Les opérons d'ADNr sont transcrits par l'ARN polymérase I. Le pré-ARNr 47S est transformé après la transcription en ARNr 18S de la petite sous-unité ribosomale et en ARNr 5,8 et 28S de la grande sous-unité ribosomique (**Poot et al., 2021**).

### **I.2.3.2. Les anomalies déséquilibrées**

Si l'excès ou la carence de matériel génétique est pathogène et entraîne des conséquences phénotypiques, l'anomalie est dite déséquilibrée. Des découvertes récentes ont conduit à nuancer la vieille idée selon laquelle la quantité normale d'ADN chez l'homme est fixée avec précision. Certains fragments d'ADN peuvent être absents ou répétés chez les sujets normaux. C'est ce qu'on appelle une variation du nombre de copies (CNV) (**Donnai et al., 2008**).

#### **I.2.3.2.1. Délétions**

Une délétion est une anomalie de structure déséquilibrée les plus fréquente. Elle est provoquée par une cassure chromosomique suivie d'une perte de matériel génétique. Une cassure simple conduisant à une perte comprenant l'extrémité d'un chromosome est dénommée délétion terminale. Lorsque deux cassures se produisent et que le matériel situé entre les cassures est perdu, ce phénomène est désigné par le terme délétion interstitielle (**Figure 16**) (**Strachan et al., 2004 ; Dimassi et al., 2017**).

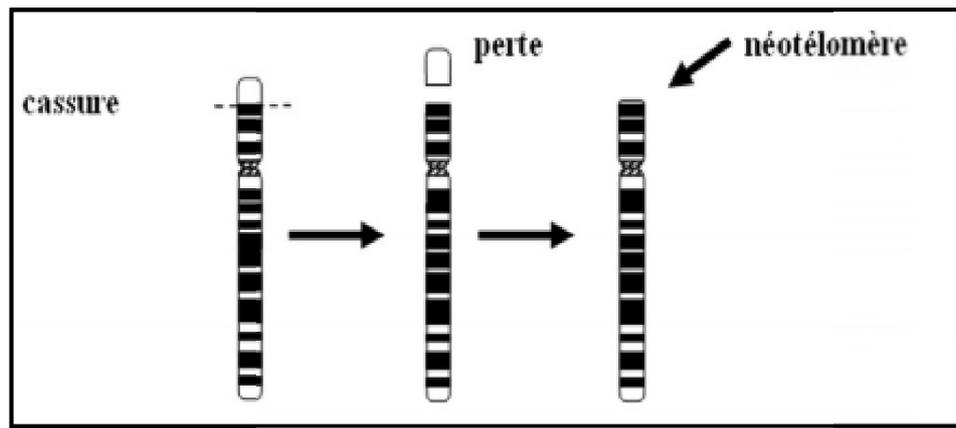


Figure 16 : Délétion (Marc *et al.*, 2004).

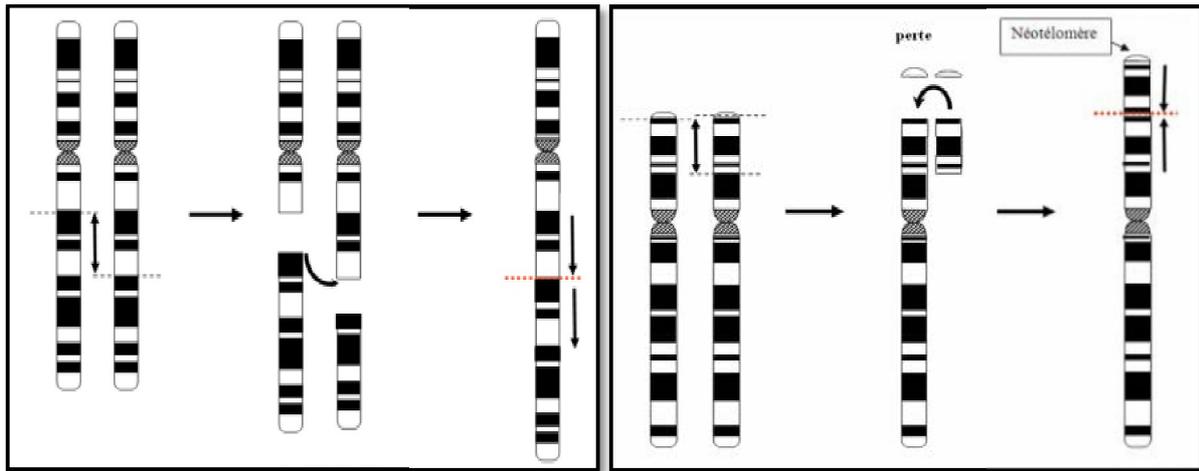
#### I.2.3.2.2. Micro-délétions

Il s'agit d'une classe spéciale de très petites délétions qui ne sont pas visibles sur les caryotypes standards. Ces pertes chromosomiques ne peuvent être détectées que par des techniques plus résolventes et principalement par la FISH et plus récemment par l'analyse chromosomique sur puces à ADN (ACPA) aussi appelées « CGH arrays » (Dimassi *et al.*, 2017).

#### I.2.3.2.3. Duplication

Une duplication est la présence de deux copies d'une région chromosomique. Ce sont des réarrangements rarement trouvés en cytogénétique conventionnelle, entraînant des trisomies partielles pures (Krahn *et al.*, 2016). Ils sont parfois observés chez les descendants d'individus porteurs d'une translocation réciproque. Elle peut également être causée par un croisement inégal pendant la méiose, Les conséquences de la duplication sont généralement moins graves que les suppressions (Strachan *et al.*, 2004).

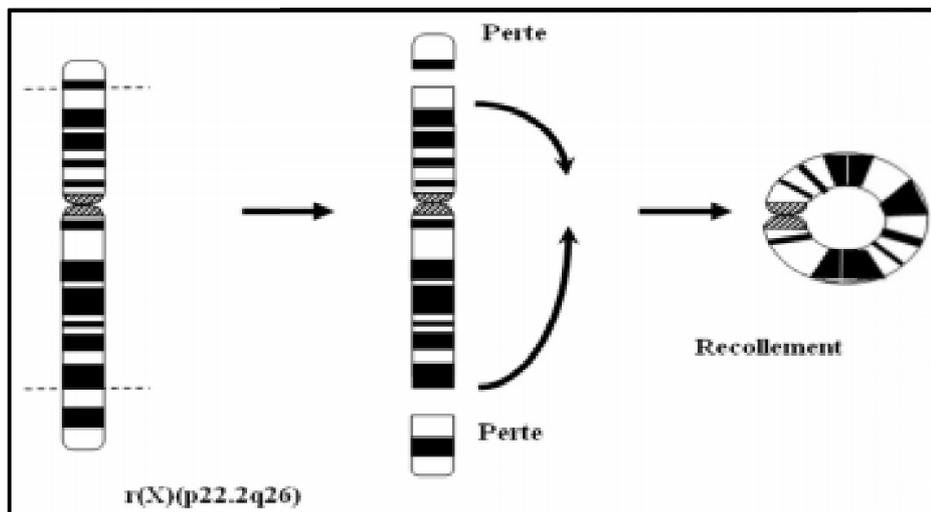
Les répétitions peuvent être en tandem (le segment répliqué reste dans la même orientation que l'original) (Figure 17), ou il peut être mis en miroir (c'est-à-dire que le segment copié est dans la direction opposée à l'original, et peut même subir une reprise déséquilibrée) (Figure 17) (Huret *et al.*, 2000).



**Figure 17 :** Les duplications en tandem (à gauche) et en miroir (à droite)  
(Marc et al., 2004).

#### I.2.3.2.4. Chromosome en anneaux

Des délétions se produisent parfois aux deux extrémités d'un chromosome. Les extrémités restantes peuvent ensuite être fusionnées pour former un chromosome circulaire. Ce dernier est instable lors de la mitose, il peut être perdu ou transformé, et si le chromosome circulaire comporte un centromère, il peut souvent être impliqué dans la division cellulaire, mais sa structure peut poser des difficultés (Figure 18) (Strachan et al., 2004 ; Krahn et al., 2016).

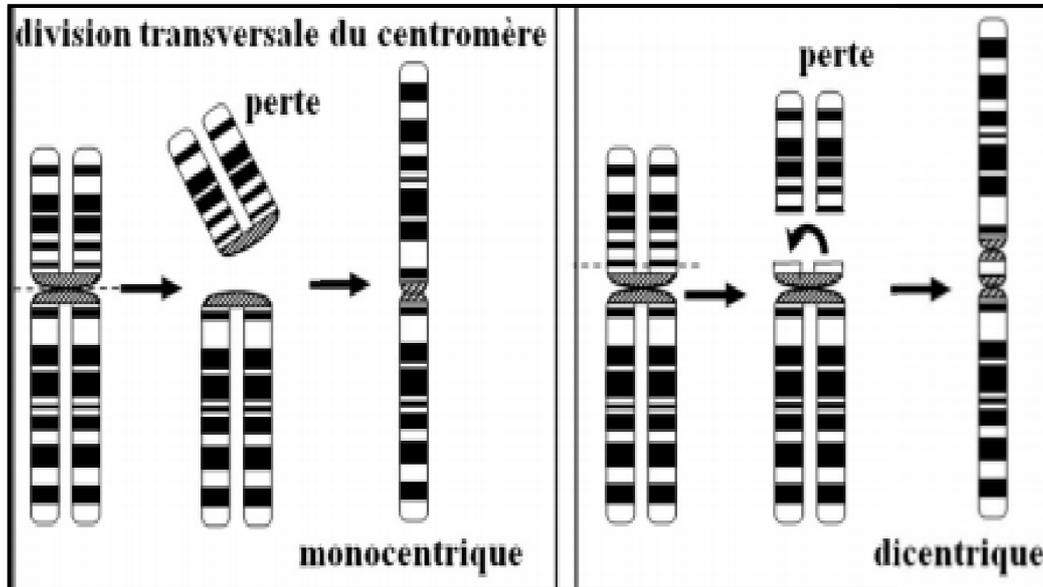


**Figure 18 :** Chromosome en anneaux (Marc et al., 2004).

#### I.2.3.2.5. Iso-chromosome

Les iso-chromosomes sont des chromosomes anormaux formés par la délétion de deux bras longs ou de deux bras courts et de l'autre bras du même chromosome. Les hétérosomes

peuvent être mono-centriques ou bi-centriques, selon le mécanisme de formation (**Gardner et al., 1996**). L'iso-chromosome le plus couramment rencontré est celui du bras long du chromosome X, qui constitue le variant cytogénétique du syndrome de Turner (**Figure 19**) (**Krahn et al., 2016**).



**Figure 19** : Iso-chromosome mono-centrique et di-centrique (**Marc et al., 2004**).

# CHAPITRE

## II

## II.1. Lieu du stage

Le présent travail a été effectué au niveau de l'une des annexes de l'établissement public sanitaire et social du Centre Hospitalier Universitaire qui est le Centre de Transfusion Sanguine de la Wilaya de Tizi-Ouzou (Service d'Histologie Embryologie et Génétique Clinique, fonctionnel depuis 2008).



**Figure 20 : Centre de Transfusion Sanguine (Photo originale).**

Le service d'Histologie Embryologie et Génétique Clinique est actuellement dirigé par Dr BOUAFFAD Zohra (médecin chef) depuis 2017. Il se situe au deuxième étage du Centre de Transfusion Sanguine dans lequel des analyses cytogénétiques (établissement de caryotypes) et cytologiques sont réalisées et des maladies génétiques de patients sont détectées.

## II.2. Matériels

### II.2.1. Matériel biologique

Pour la réalisation d'un caryotype, plusieurs types cellulaires ont été utilisés tels que les fibres de la peau, le liquide amniotique, la biopsie tissulaire, la moelle osseuse et les cellules sanguines.

Au sein de ce centre, ils ont déjà utilisé la moelle osseuse mais ils n'ont pas eu d'aussi bons résultats que ceux du sang. Dans la présente étude, nous avons utilisé des cellules sanguines (lymphocytes) comme échantillons.

Les prélèvements de sang total frais de trois patients ont été recueillis dans des tubes héparines comme suit :

- **Patient 1** : Il s'agit d'une fillette de 10 ans, opérée en février 2021, pour la maladie de jonction vésico-urétéral obstructive présentant un retard de croissance avec suspicion du syndrome de Turner.
  
- **Patient 2** : Il s'agit d'un enfant de sexe mâle âgé de 4 ans, nait par césarienne de parents non consanguins. Il présente un retard de croissance pondérale de 16kg et une taille de 101,5 cm. Il a été diagnostiqué comme ayant un retard de langage et facies particulière.
  
- **Patient 3** : Il s'agit d'un enfant de sexe féminin âgé de 6 mois, elle est née d'une grossesse menée à terme d'un couple non consanguin ayant présenté un petit poids de naissance. Elle a présenté une cardiopathie congénitale avec hypertrophie du ventricule gauche ainsi qu'une malformation des deux pieds. diagnostic : syndrome poly-malformatif.

## II.3. Protocol de réalisation d'un caryotype

### II.3.1. Préparation du milieu de culture

Pour préparer le milieu de culture, on mélange dans une fiole jaugée (100 ml de RPMI (Milieu Roswell Park Mémorial Institute), 20ml de sérum de veau fœtal, 1 ml de L-Glutamine, 1ml de pénicilline 10.000 UI/ml et 1ml de streptomycine 10.000 µg/ml) (**Figure 29**).



**Figure 21** : Préparation du milieu de culture (a) le matériel et les réactifs utilisés pour préparer le milieu de culture, (b) milieu de culture (**photos originales**).

### II.3.2. Culture cellulaire

A l'aide d'une seringue, on prélève 1 ml de sang complet du patient qu'on rajoute dans un tube préalablement rempli de 10 ml de milieu de culture auquel on ajoute 150 µL de Phytohemagglutinine. Les tubes sont rebouchés, agités et placés dans une étuve à position inclinée pendant 72h à 37°C (**Figure 22**).

**NB** : Le but de l'incubation des tubes pendant 72h est d'atteindre la prolifération des cellules jusqu'au stade métaphase.



**Figure 22 : Etapes de la culture cellulaire. (a)** matériel et réactifs utilisés pour réaliser la culture cellulaire, **(b)** ajout du sang et de la Phytohemagglutinine dans le milieu de culture, **(c)** emplacement des tubes dans l'étuve (**photos originales**).

### II.3.3. Arrêt de la culture

Après la phase de multiplication cellulaire, on introduit stérilement 75 $\mu$ l de colchicine dans chaque tube, on mélange le contenu de récipient afin de remettre en suspension les cellules avant de les remettre dans l'étuve pendant 2h (**Figure 23**).

**NB** : la colchicine bloque la formation du fuseau mitotique (les chromosomes restent bloqués en métaphase).



**Figure 23:** Etapes de l'arrêt de la culture cellulaire. (a) ajout de la colchicine, (b) mise des tubes dans l'étuve (photos originales).

### II.3.4. Choc hypotonique

L'ajout d'une solution hypotonique (KCl) aux cellules entraînant leur gonflement suivi par l'éclatement de la membrane nucléaire et la dispersion des chromosomes.

#### II.3.4.1. Préparation de KCl

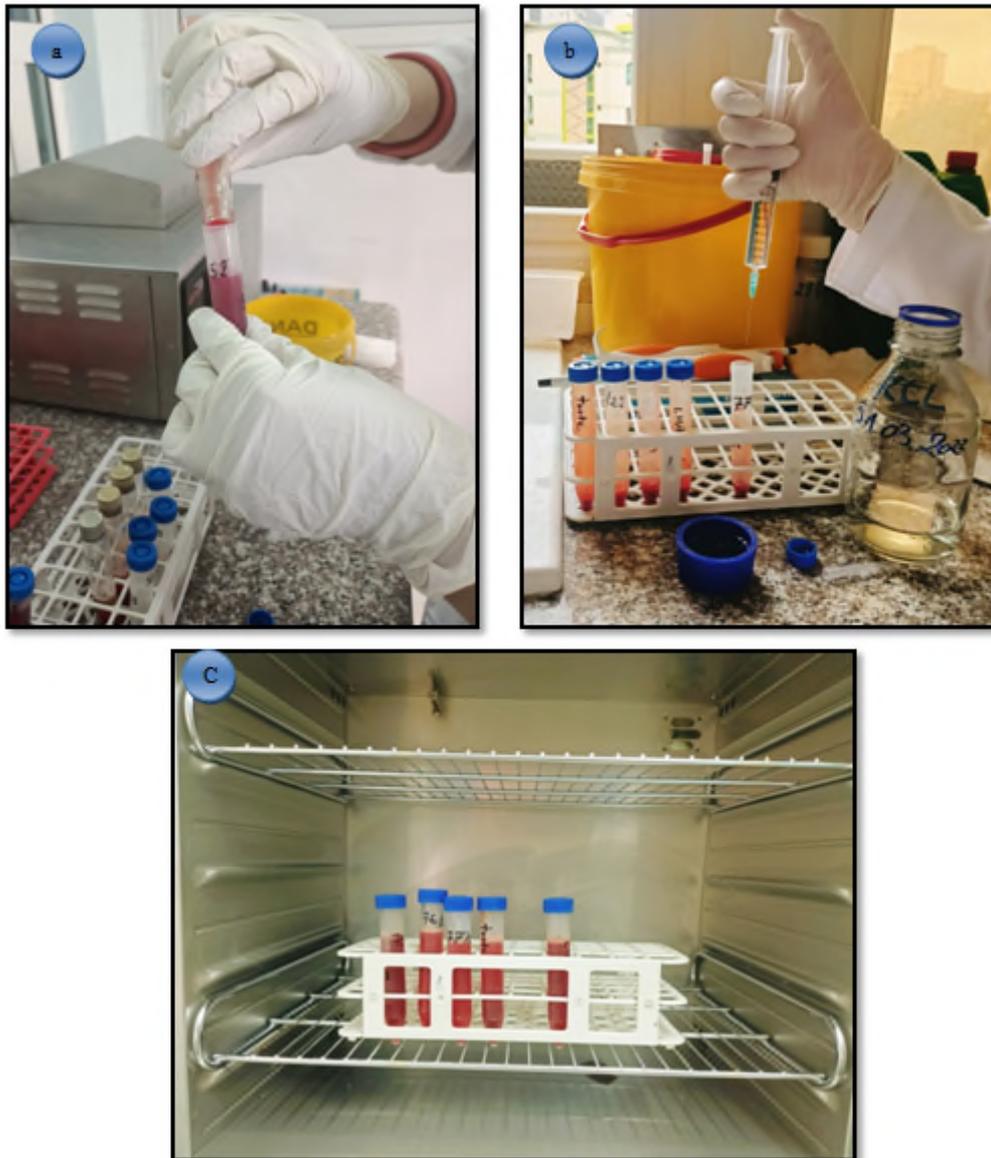
On va mettre 2,78g de KCl (chlorure de potassium) en poudre dans 500 ml d'eau distillée. Il faut garder la solution dans l'étuve à 37°C pour une utilisation ultérieure (Figure 24).



**Figure 24:** Etapes de préparation du KCl. (a) pesée de KCl, (b) dilution du KCl dans l'eau distillée, (c) mise du flacon dans l'étuve (Photos originales)

#### II.3.4.2. Méthode

Les tubes sont ensuite centrifugés durant 5min à 1500t/ min après équilibrage de la charge. Nous avons enlevé le surnageant puis ajouté 10 ml de KCl au début 2 ml. Nous avons agité en suite le reste du KCl (8 ml) avec un agitateur jusqu'à l'obtention d'une solution homogène, les tubes ont été remis dans l'étuve pour un repos de 25min (Figure 25).



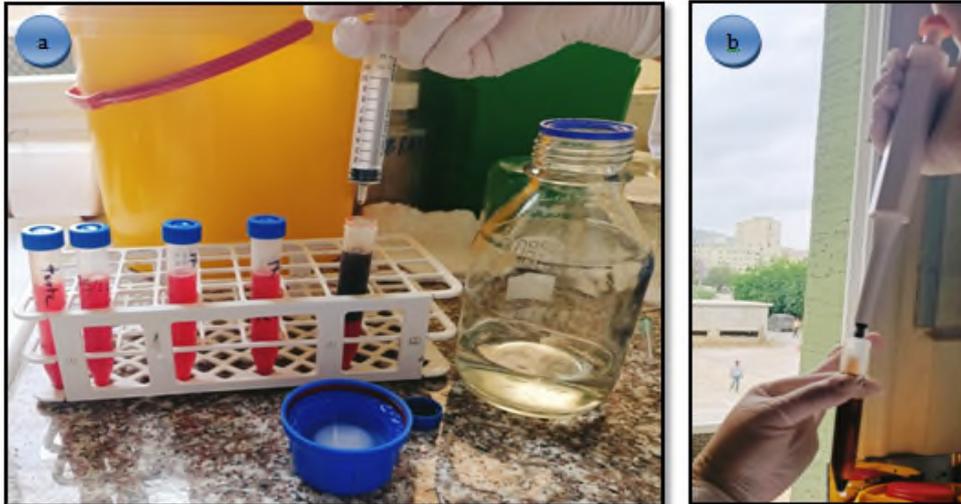
**Figure 25 :** Etapes du choc hypotonique. (a) centrifugation des cellules cultivées en suspension, (b) ajout de 2 ml de solution KCl, (c) mise des tubes dans l'étuve (Photos originales)

### II.3.5. Fixation

La fixation se fait par un mélange d'un volume d'acide acétique et de trois volumes d'alcool, ce mélange permet l'arrêt du choc cellulaire. Plusieurs fixations ont été réalisées dans la présente étude. La répétition de la fixation a pour but d'éliminer les débris cellulaires.

### II.3.5.1. La préfixation

Au niveau de cette étape, nous avons ajouté 2 ml du fixateur directement dans chaque tube suivi par une agitation puis nous avons laissé les tubes au repos pendant 5 min après centrifugation à 1500t/5min, enfin le surnageant a été éliminé (**Figure 26**).



**Figure 26:** Etapes de la préfixation. (a) ajout du fixateur , (b) élimination du surnageant (**Photos originales**).

### II.3.5.2. La première fixation

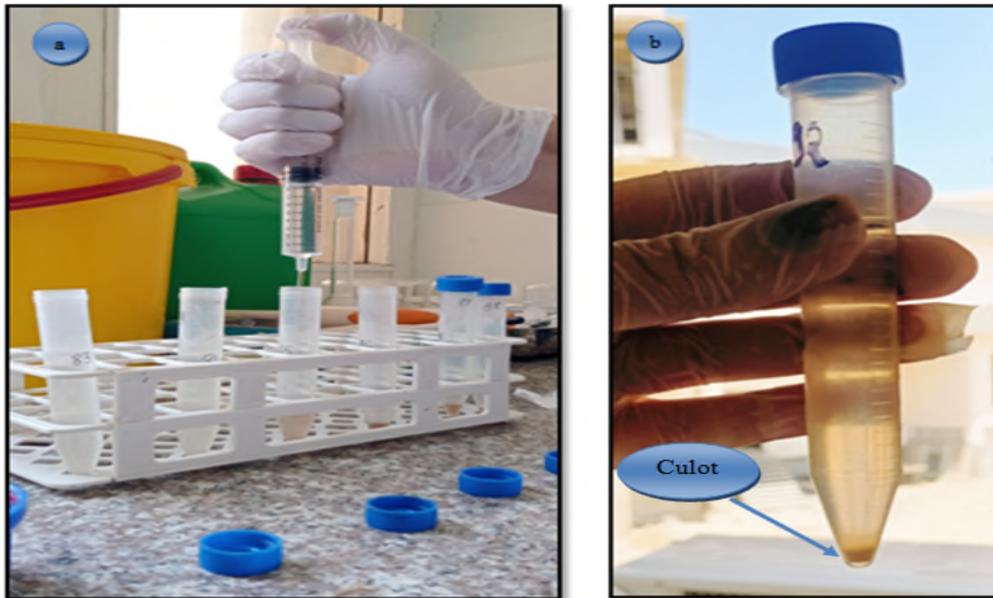
Au cours de cette étape, nous avons ajouté 10 ml du fixateur dans chaque tube, agité, laissé au repos pendant 15 min. Les tubes ont été placés à centrifuger à 1500t/5min et les surnageant ont été éliminés (**Figure 27**).



**Figure 27:** Etapes de la première fixation. (a) ajout du fixateur, (b) le tube après centrifugation (**Photos originales**).

### II.3.5.3. La deuxième fixation

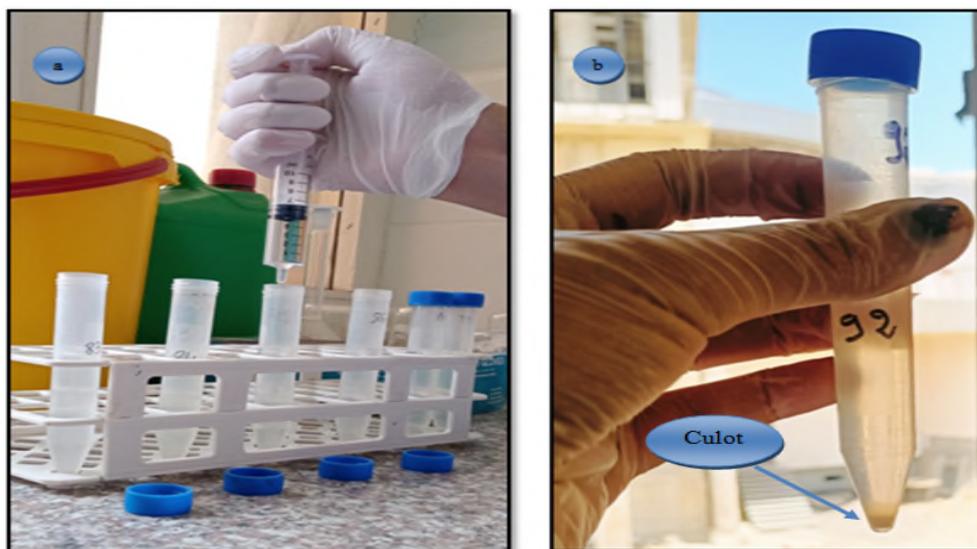
Au cours de cette étape, nous avons ajouté 10 ml de fixateur dans chaque tube, agité, laissé au repos pendant 5 min puis nous avons placé les tubes à centrifuger à 1500t/5min, puis éliminé le surnageant (**Figure 28**).



**Figure 28:** Etapes de la deuxième fixation, (a) ajout du fixateur, (b) le tube après centrifugation (photos originales).

### II.3.5.3. La troisième fixation

Cette dernière étape consiste en l'ajout de 10 ml de fixateur dans chaque tube suivi par une agitation, suivie par une centrifugation de la solution à 1500t/5min. Enfin, les surnageant sont éliminés tout en conservant deux fois le volume du culot (**Figure 29**).



**Figure 29:** Etapes de la troisième fixation. (a) ajout de fixateur, (b) le tube après centrifugation (photos originales).

#### II.4. Étalement des lames

Après la dernière centrifugation, nous avons conservé le surnageant deux fois le volume du culot. Ce dernier est remis en suspension à l'aide d'une pipette pasteur. Après numérotation des lames de microscope selon les patients, nous les avons déposées dans un bac à glace (pour une meilleure fixation), Nous avons laissé tomber deux gouttes de suspension sur chaque lame d'une hauteur de 30 à 40 cm (afin de favoriser l'éclatement des membranes et une bonne dispersion des chromosomes). Nous avons fait sécher les lames à l'aide d'un bec benzine puis conservé dans un endroit stérile pendant 24h pour après passer à l'étape de la coloration (Figure 30).



**Figure 30:** Etalement des lames (a) dépôt des lames sur une plaque à glace, (b) dépôt de quelques gouttelettes en suspension, (c) la lame après le séchage (photos originales).

## II.5. Dénaturation des chromosomes

### II.5.1. Technique de marquage RHG

Cette technique révèle essentiellement la dénaturation des chromosomes par la chaleur dans une solution saline puis leur coloration au Giemsa.

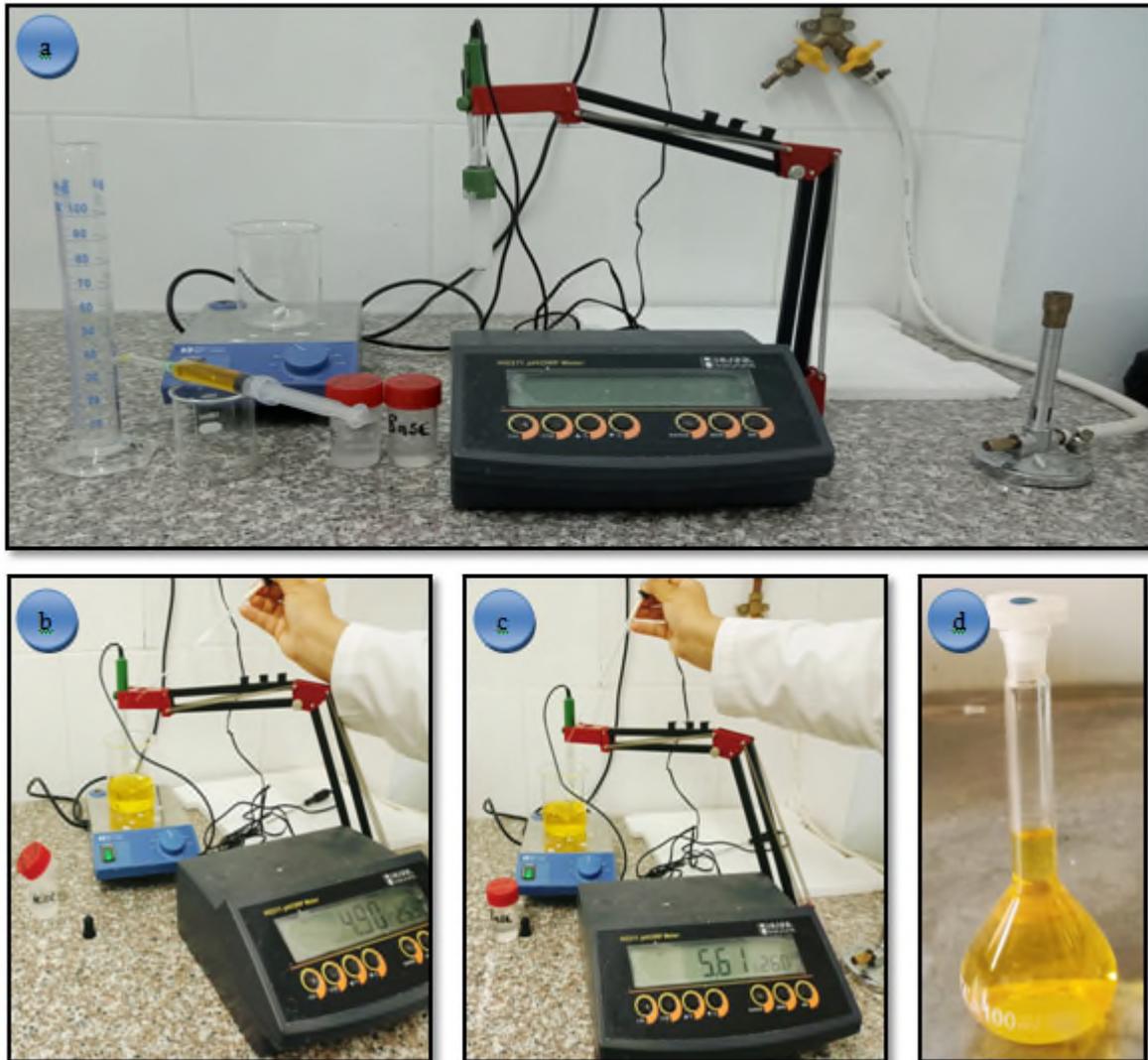
**Principe :** la mise en évidence des bandes RHG est basée sur le traitement thermique qui dénature la région d'ADN riche en AT (les deux chromosomes homologues ont une même distribution de bandes, les bandes claires riches en AT et les bandes sombres riches en GC) (Strachan *et al.*, 2004).

### II.5.2. Préparation de solution de l'acide et de la base

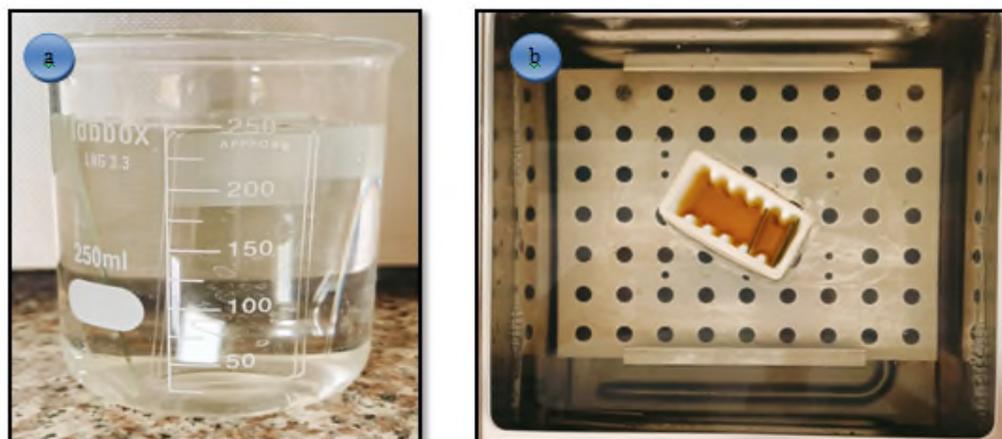
On prend une petite quantité de l'acide ( $\text{H}_2\text{NaO}_4\text{P}$ ) on la dépose dans un bécher on ajoute de l'eau distillée, on met le mélange sur un agitateur à barreau magnétique puis on ajoute de l'acide jusqu'à saturation. On suit les mêmes étapes pour la préparation de la base ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4+2\text{H}_2\text{O}$ ).

### II.5.3. Préparation de la solution saline équilibrée d'Earl

Nous avons fait sortir la solution d'Earl du réfrigérateur et l'avons laissée à température ambiante. 10 ml de cette dernière solution a été ajouté à 90 ml d'eau distillée dans un bécher en agitation via un barreau magnétique. Nous avons mesuré le pH du mélange avec un pH mètre jusqu'à sa stabilisation, puis nous l'avons fait baisser avec un acide ( $\text{H}_2\text{NaO}_4\text{P}$ ) à l'aide d'une pipette pasteur (goutte à goutte) jusqu'à l'obtention d'un pH avoisinant les (4,9-4,5) (**Figure 31b**). Nous avons ajouté en dernier une solution basique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4+2\text{H}_2\text{O}$ ) pour obtenir un pH variant entre (5,6-5,7) (**Figure 31c**). Les lames sont ensuite placées dans cette solution environ 30 min à 88,9°C permettant ainsi la dénaturation des chromosomes (**Figure 32**).



**Figure 31 :** Préparation de la solution saline équilibrée d’Earl. (a) matériels et réactifs utilisés, (b) ajout de gouttelettes de la solution acide, (c) ajout de gouttelettes la solution basique, (d) solution saline équilibrée d’Earl (photos originales).

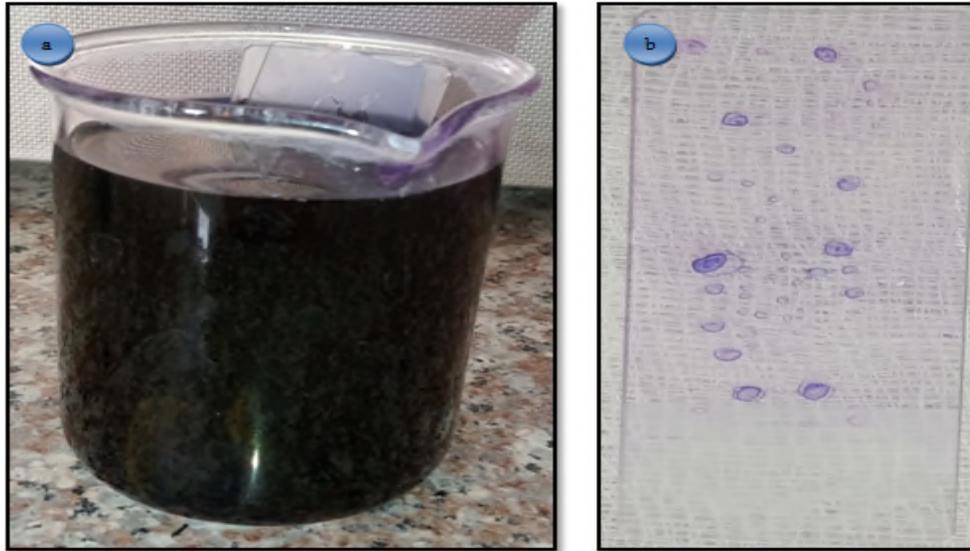


**Figure 32:** Etapes de dénaturation des chromosomes avec la solution saline équilibrée d’Earl. (a) mise des lames dans l’eau distillée, (b) emplacement des lames dans la solution saline équilibrée d’Earl (photos originales).

## II.6. Coloration des lames

Nous avons pris 2 ml de colorant Giemsa dans un Bécher, qu'on a complété avec 98 ml d'eau distillée.

Une fois les lames sorties de la solution saline, nous les avons déposées directement dans la solution de coloration pendant 10 min puis rincées avec de l'eau courante. Les lames sont ainsi prêtes pour l'observation (**Figure 33**).



**Figure 33** : Coloration des lames (a) plonger les lames dans le colorant Giemsa, (b) la lame colorée après séchage (**photos originales**).

## II.7. Observations au microscope photonique muni d'un appareil à photo numérique

Après une mise au point des lames au microscope (Olympus BX61), nous avons choisi les plus belles métaphases dont les chromosomes sont séparés non chevauchants et montrant un bon marquage en banding. Il est à noter qu'il faut éviter les bulles d'air, les noyaux interphasiques, les taches de colorant, ainsi que les cristaux de KCl afin de prendre en photos les métaphases. Ces dernières sont traitées par le logiciel de caryotype Lucky (version 5) (**Figure 34**).



**Figure 34:** Microscope photonique équipé d'un appareil à photo numérique (QICAM FAST-1394) (photos originales).

## II.8. Établissement d'un caryotype

Il faut tout d'abord créer un nouveau dossier pour chaque patient en utilisant le logiciel Lucky 5 et insérer ses données personnelles (Nom, prénom, le sexe et l'âge), le numéro du dossier du malade ainsi que la date du prélèvement.

Ensuite, il faut choisir les meilleures métaphases montrant un bon banding et les prendre en photos, puis insérer le numéro de la lame ainsi que la métaphase en mentionnant sa position sur les deux axes (abscisses et ordonnées) de la lame.

Enfin, réaliser le classement à l'aide d'un technicien qui classe les chromosomes selon le format standard (la taille, la position des centromères et le nombre et les motifs de bandes R).

# CHAPITRE

## III

### III.1. Résultats

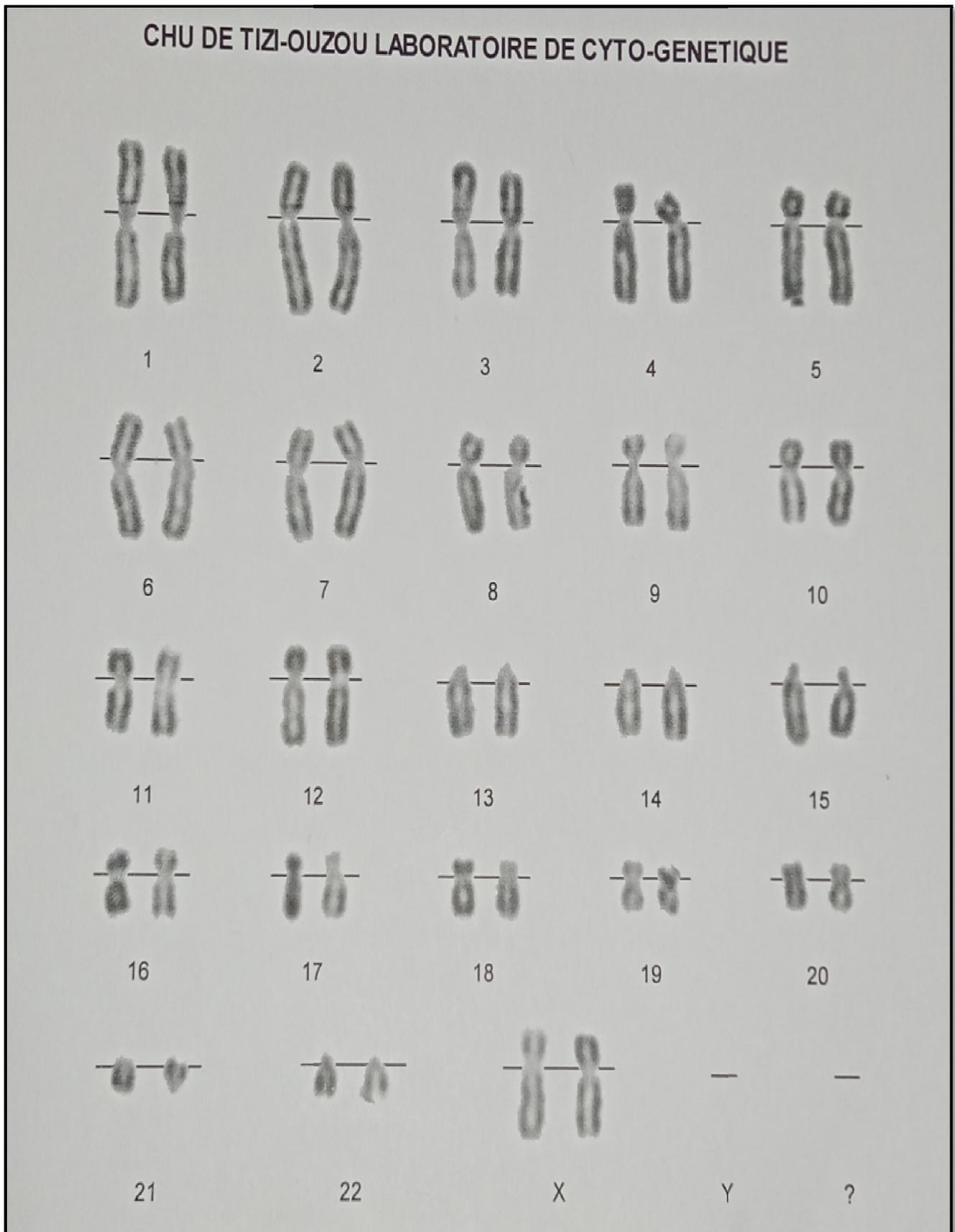
#### III.1.1. Patient 1

Le médecin a signalé chez une fille âgée de 10 ans les signes cliniques suivants : présence d'une cicatrice de l'intervention sur la jonction pyélo-urétéral et un retard de croissance.

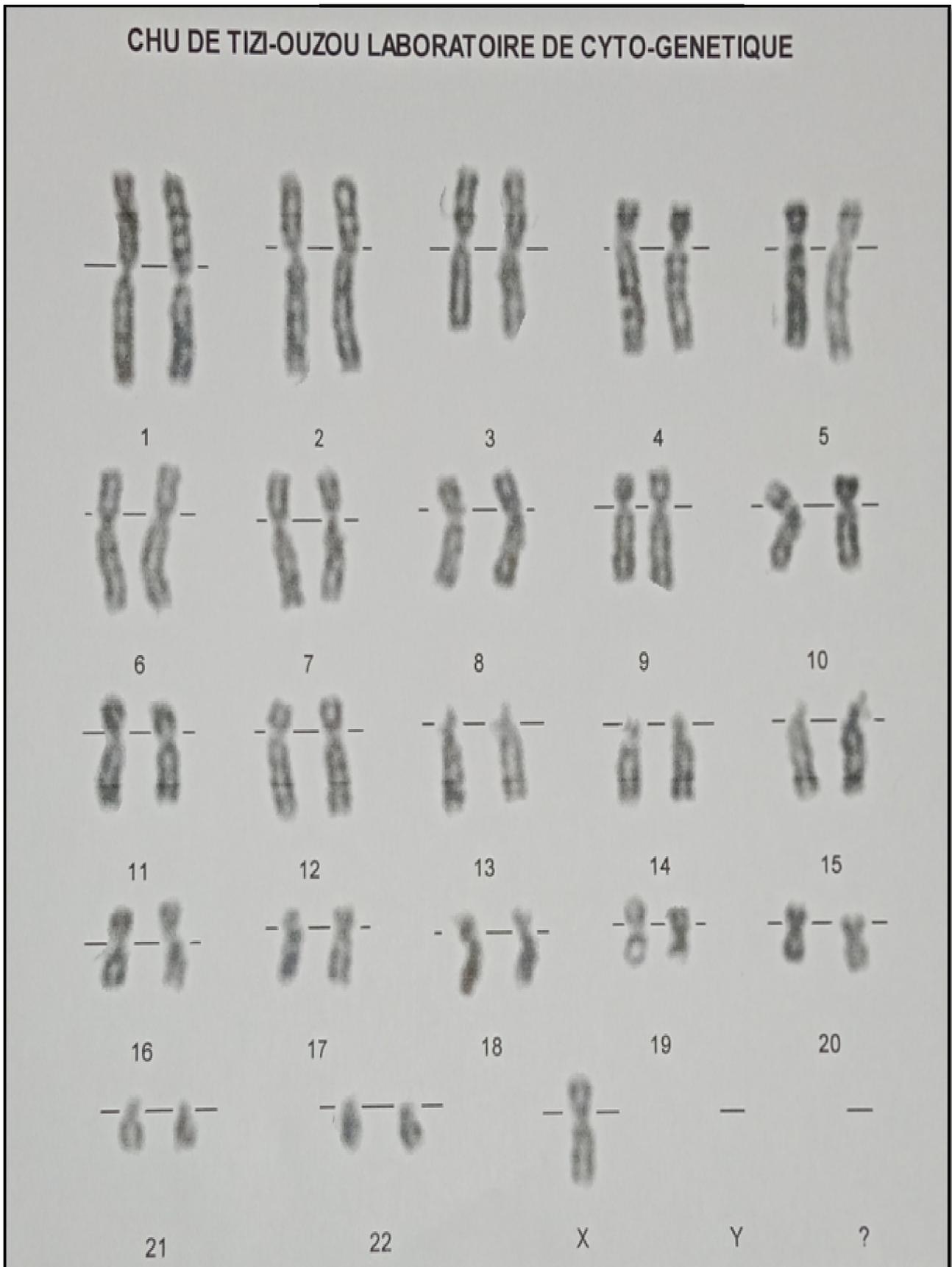
Après la réalisation du caryotype, nous avons analysé 50 métaphases au total. On a détecté chez cette fille une anomalie chromosomique liée au nombre présentant deux lignées cellulaires mosaïques : la première lignée présente la formule : 46, XX (**Figures 35a et 36**) (et la deuxième lignée présente la formule 45, X0 (**Figures 35b et 37**).



**Figure 35** : Métaphases d'une fille âgée de 10 ans atteinte du syndrome de Turner présentant respectivement (a) 46, XX et (b) 45, X0. Les chromosomes X sont représentés par des pointillés rouges (**photos originales**).



**Figure 36 :** Caryotype normal (46, XX) d'une fille de 10 ans atteinte du syndrome de Turner (**photo originale**).

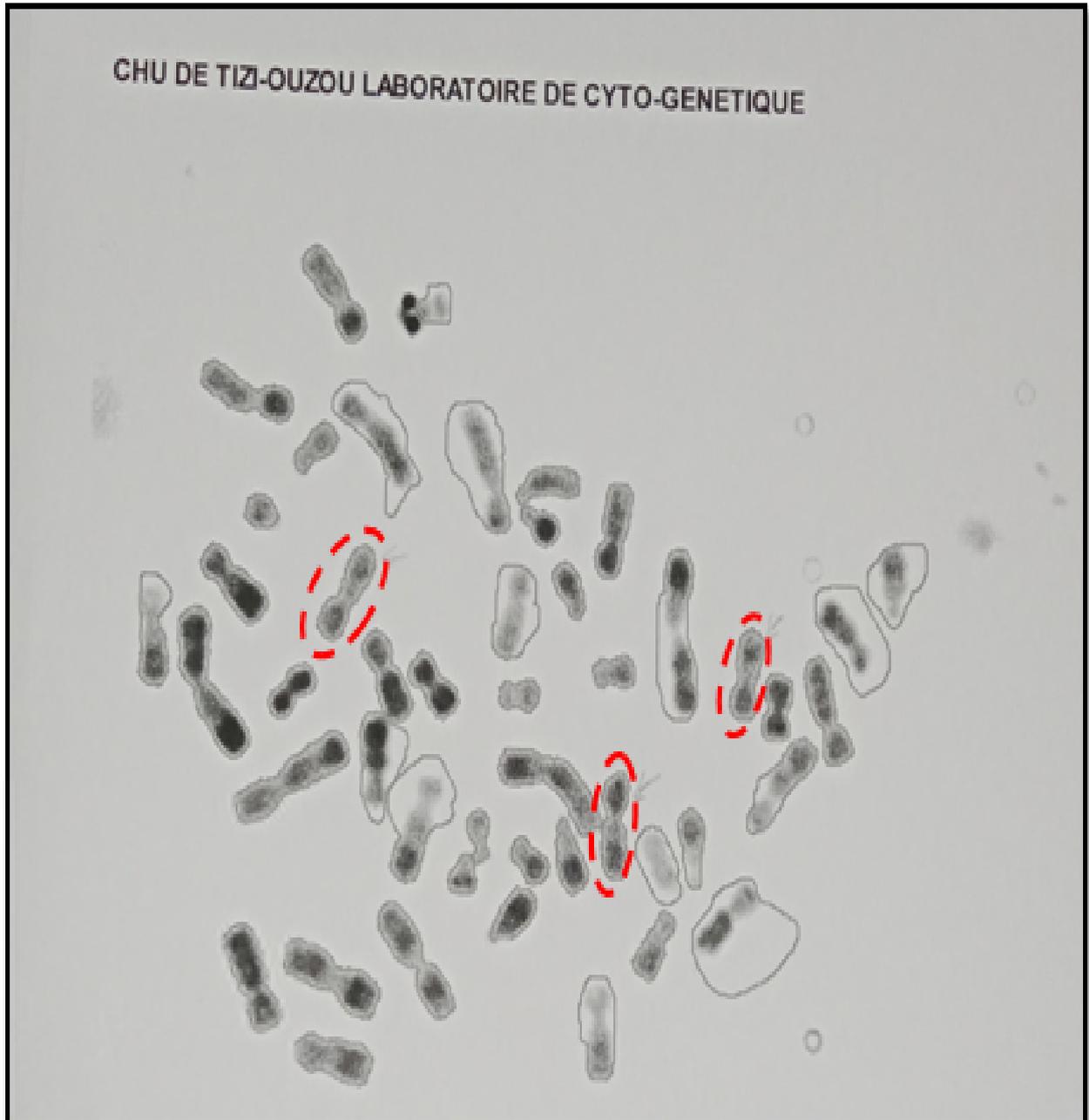


**Figure 37 :** Caryotype (46, X0) d’une fille de 10 ans atteinte du syndrome de Turner (photo originale).

### III.1.2. Patient 2

Cependant, un médecin a signalé chez une fille âgée de 4 ans les signes cliniques suivants : un retard de langage, retard intellectuel, oreille mal ourlée et grande lèvre hypotrophiée.

Après réalisation du caryotype, nous avons analysée 60 métaphases au total. Nous avons détecté chez cette fille une aneuploïdie avec une formule (47, XXX). Nous concluons que le caryotype de cette fillette est caractérisé par une trisomie X homogène (**Figures 38 et 39**).



**Figure 38** : Métaphase contenant 47 chromosomes (47, XXX). Les trois chromosomes X sont entourés par les pointillés rouges (**photo originale**).

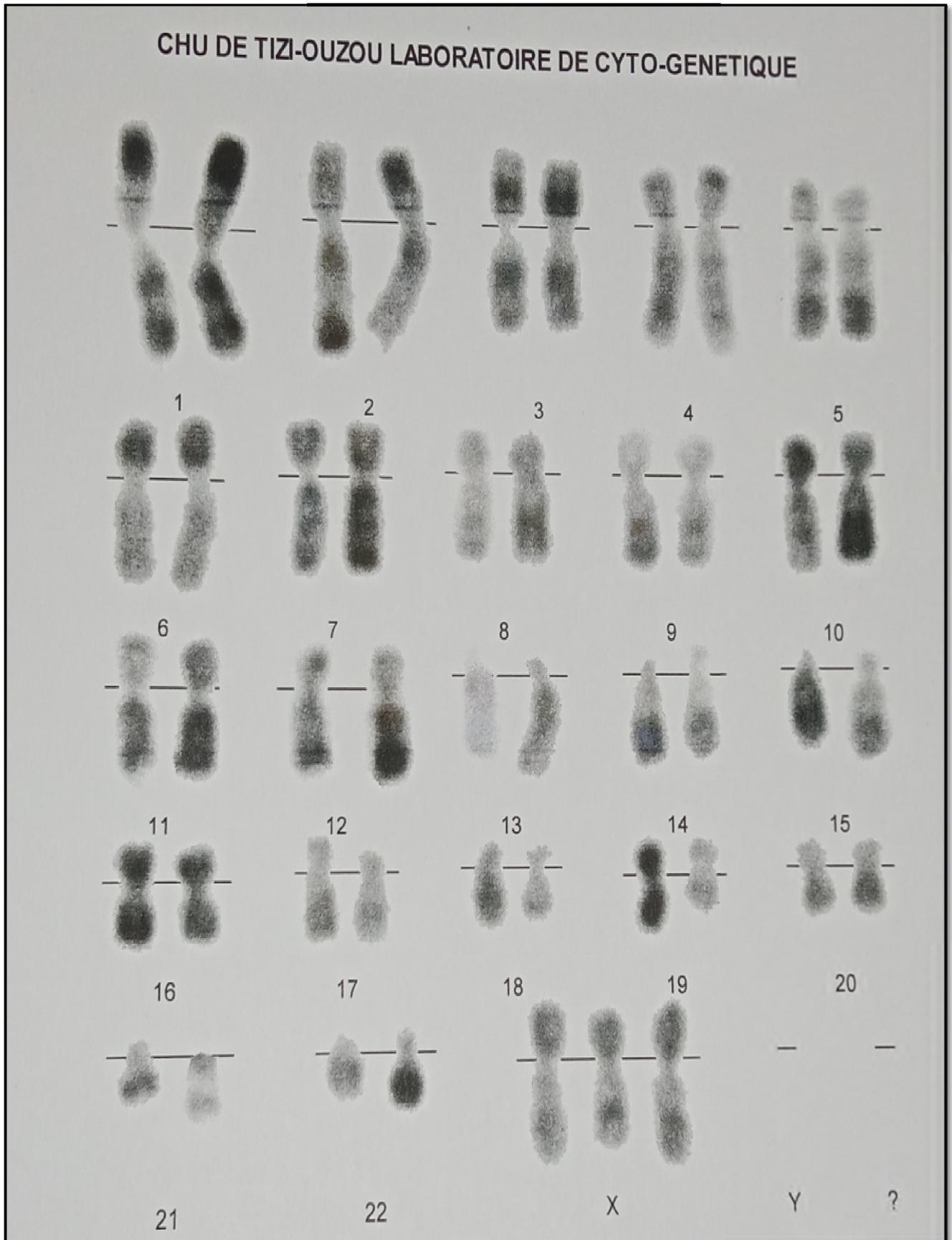
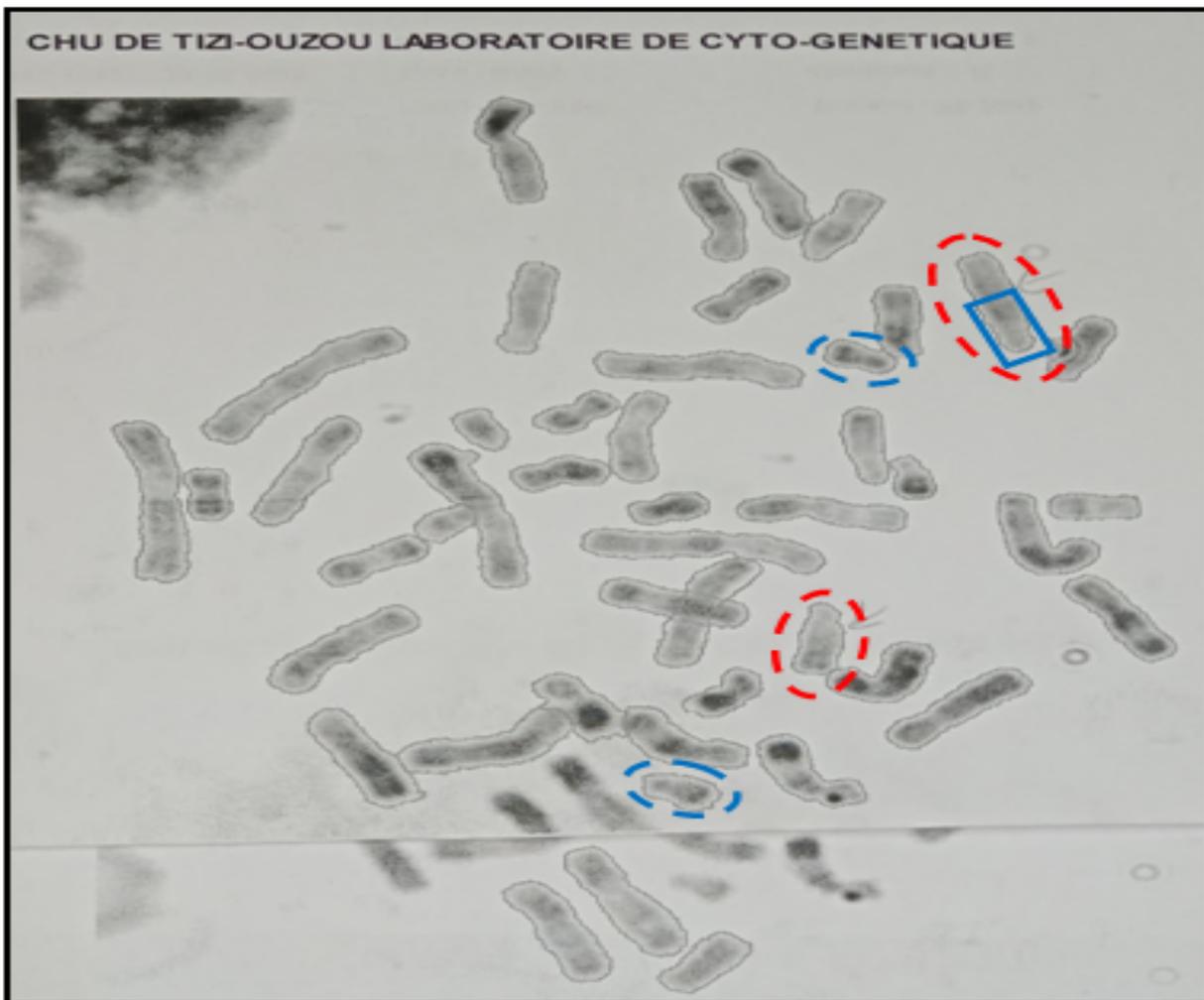


Figure 39 : Caryotype d'une fille de 4 ans atteinte de trisomie X (photo originale).

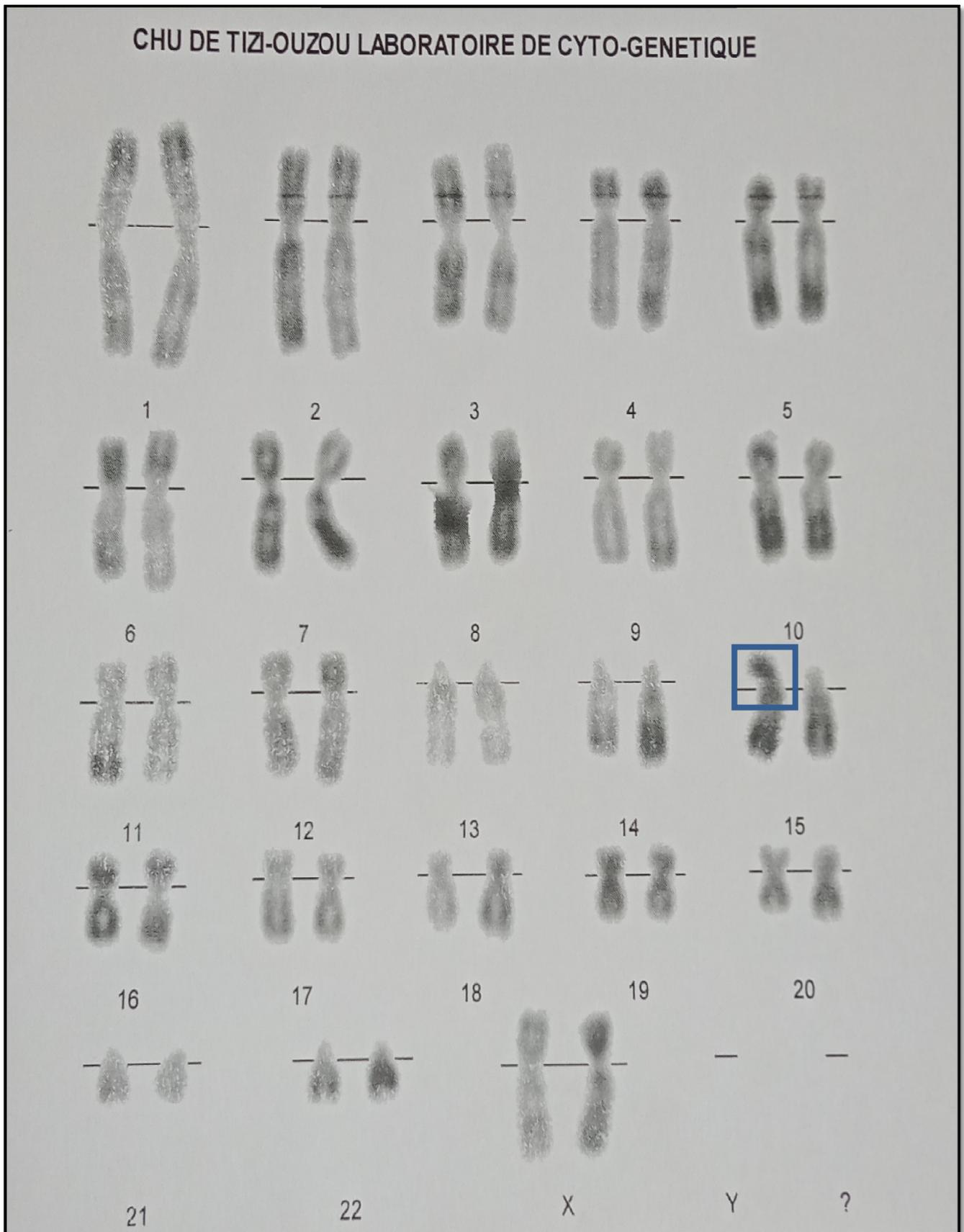
### III.1.3. Patient 3

Un médecin a signalé chez une fille âgée de 6 mois les signes cliniques suivants : un retard staturo-pondéral léger (croissance insuffisance sur le plan de la taille ou du poids durant l'enfance) et une malformation au niveau des deux pieds. L'échographie au niveau du cœur indique une hypertrophie du ventricule gauche (HVG) et une hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) (augmentation progressive de la résistance vasculaire pulmonaire menant à la défaillance cardiaque droite). D'après ces signes cliniques le médecin a suspecté que cette fille peut être atteinte par un syndrome poly-malformatif.

Après la réalisation du caryotype, nous avons analysé 50 métaphases au total. Nous avons détecté chez cette fille une anomalie chromosomique liée à la structure (Trisomie 21 par translocation robertsonienne du chromosome 21 sur le chromosome 15) présentant des métaphases sous la formule suivante : 46, XX, rob (15,21), +21 (Figures 40 et 41).

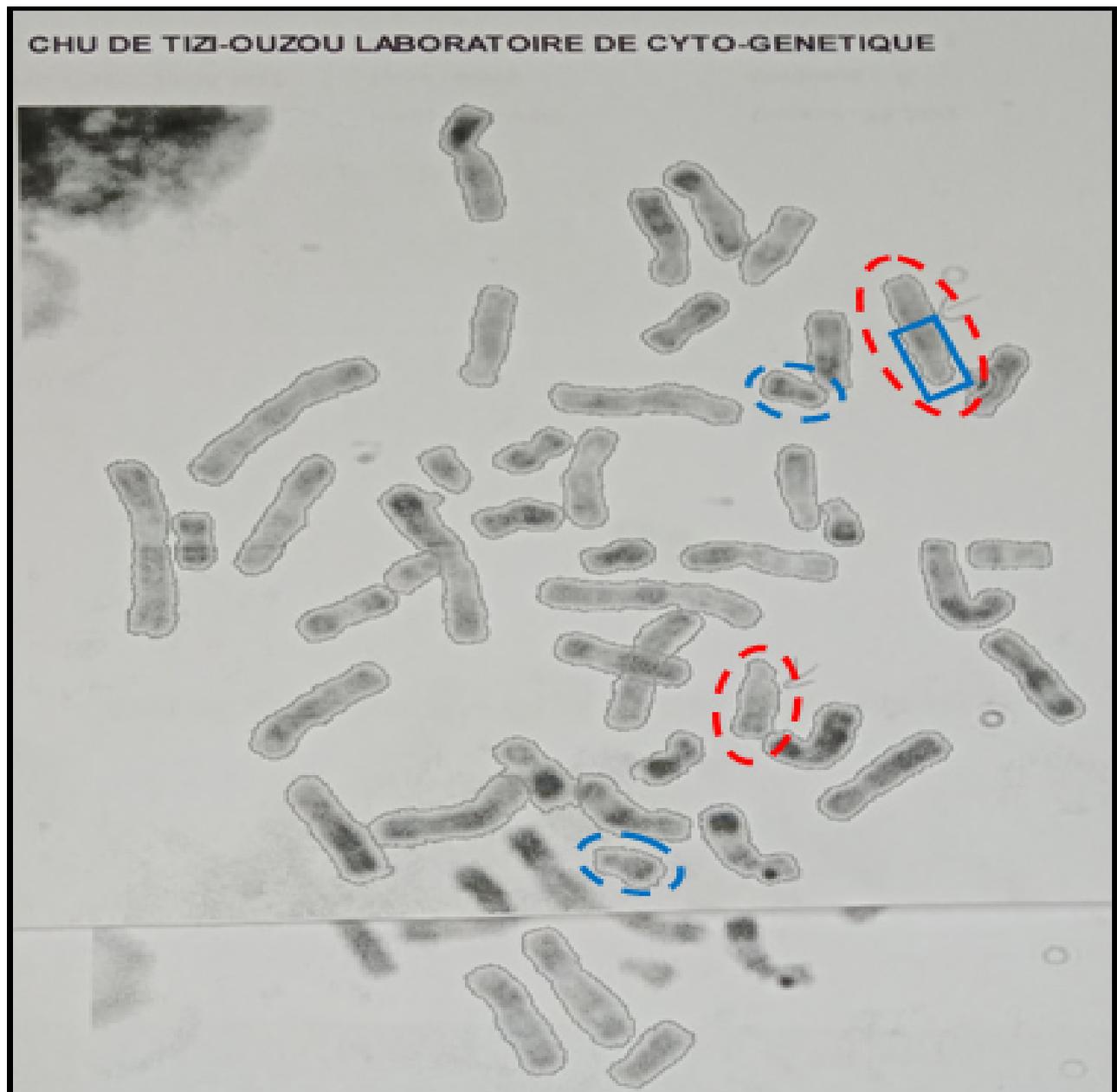


**Figure 40** : Métaphase présentant 46, XX, rob (15,21), +21. Les pointillés rouges représentent les chromosomes 15, les bleus représentent les deux chromosomes 21, le cadre bleu représente le chromosome 21 surnuméraire transloqué (photo originale).



**Figure 41** : Caryotype d'une fille de 6 mois atteinte de trisomie 21 avec translocation (15, 21) le cadre bleu représente le chromosome 21 surnuméraire transloqué (**photo originale**).

Après consultation, le médecin a détecté concernant les parents de cet enfant (décédé après 1 an par une malformation cardiaque), que le père avait des antécédents, des frères et des soeurs décédés à la naissance aussi par une malformation cardiaque. Après réalisation du caryotype des parents ils ont détecté que la mère avait un caryotype normal. Par contre chez le père, après l'analyse de 50 métaphases au total nous avons détecté une anomalie chromosomique structurale, montant des métaphases sous la formule suivante : 46, XY, ins (15,21), +21 (**Figure 42**). Nous avons conclu que le père présente une trisomie 21 par insertion du chromosome 21 sur le chromosome 15 (**Figure 43**).

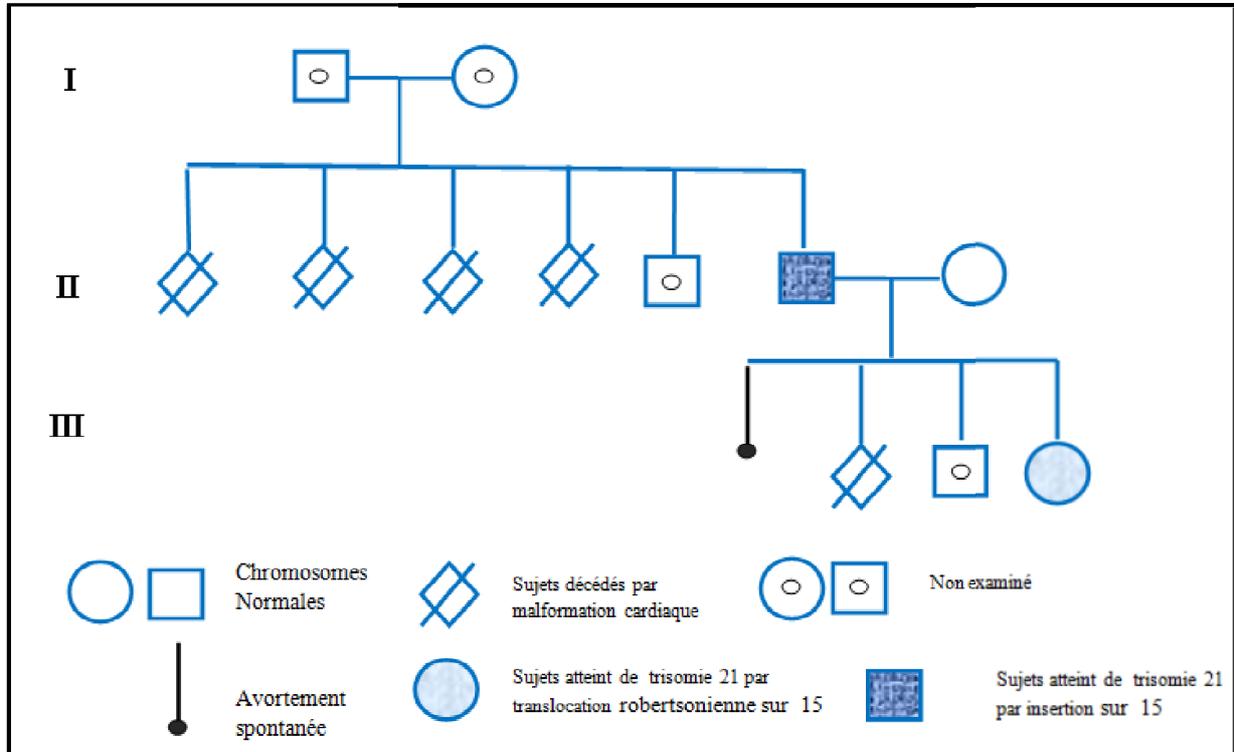


**Figure 42** : Métaphase d'un homme de 41 ans atteint d'une trisomie 21 par insertion du chromosome 21 sur le chromosome 15 Les pointillés rouges représentent les chromosomes 15, les bleus représentent les deux chromosomes 21, le cadre bleu représenté une insertion de chromosome 21 sur le chromosome 15 (**photos originales**).



**Figure 43 :** Caryotype à 46, XY, ins (15,21), +21 d'un homme de 41 ans atteint d'une trisomie 21 par insertion. Le cadre bleu représenté une insertion de chromosome 21 sur le chromosome 15 (photo originale).

A l'issue de ces résultats, la question sur l'origine de ces anomalies s'est posée d'elle-même. Pour cela, l'équipe du centre de Transfusion Sanguine a décidé d'effectuer une enquête génétique. Un schéma récapitulatif est présenté en **figure 44**.



**Figure 44** : Arbre généalogique d'une famille qui a hérité d'une trisomie 21 par translocation robertsonienne sur le chromosome 15 (**originale**).

## III.2. Discussions

### III.2.1. Patient 1

D'après les résultats qu'on a eus, on conclue que le caryotype de cette fille âgée de 10 ans est caractérisé par la présence d'une monosomie X en mosaïque en rapport avec le syndrome du Turner (ST) (**Figure 42**).

Le ST est défini par un chromosome X partiellement ou totalement absent. La plupart (environ 50 %) des filles atteintes du ST ont un caryotype 45, X ou non mosaïque. Plusieurs variations de caryotype existent, notamment la délétion du bras court ou long, l'anneau X, l'isochromosome du bras long (résultant d'une fusion des bras chromosomiques) et le mosaïsme (une combinaison de lignées cellulaires telles que 45, X et 46, XX) (**Kesler et al., 2007**).

Parmi les gènes candidats, on cite les régions pseudo autosomiques 1 (PAR1), c'est une courte région d'homologie entre les chromosomes X et Y des mammifères. Les PAR se comportent comme un autosome et se recombinent lors de la méiose (Mangs et al., 2007). La séquence du chromosome X humain est presque complète. Cela a montré que les PAR1 contiennent au moins 24 gènes. Environ la moitié a été identifiée (Mangs et al., 2007).

Le gène SHOX (Short stature homeobox-containing gene) est situé dans la région pseudoautosomique 1 (PAR1) à l'extrémité du bras court des chromosomes X et Y (Xp22 ou Yp11.3) (Conceicao et al., 2011), ils jouent un rôle important dans la squeletogenèse humaine et donc dans la détermination finale de la taille (Adamson et al., 2002). Des études préliminaires avaient montré que les délétions à l'extrémité du bras court du chromosome X étaient toujours associées à une petite taille chez les patients atteints de Syndrome Turner, Par la suite, des mutations de ce gène ont été signalées comme responsables d'un retard de croissance et une petite taille idiopathique et des anomalies orthopédiques chez les patients atteints de dyschondrostéose de Léri-Weill (LWD), et chez les patients atteints de dysplasie mésomélique de Langer. Des bras et des jambes courts, un angle de portage inhabituel des coudes et un court quatrième avaient une grande stature (Rovet., 2004 ; Conceicao et al., 2011).

### III 2..2. Patient 2

La plupart des cas de 47, XXX ne sont pas diagnostiqués, car aucune dysmorphologie faciale significative n'est observée chez la majorité des femmes atteintes.

D'après les résultats qu'on a eus, on conclut que cette fille âgée de 4 ans représente un caryotype caractérisé par une trisomie X homogène.

Généralement, les femmes typiques présentant 46 chromosomes dont deux chromosomes gonosomiques X. sous la formule 46, XX. Dans le syndrome de trisomie X, les femmes présentant un chromosome X supplémentaire sa formule est 47, XXX. Ce chromosome supplémentaire est souvent présent dans toutes les cellules de l'organisme. Néanmoins dans certains cas plus rares c'est marqué en mosaïque (Philip., 2007).

Parmi les gènes candidats on cite le gène SHOX (Short stature homeobox-containing gene). Ce gène échappe à l'inactivation de X est donc présent sous 2 formes actives chez les mâles et les femelles. Le SHOX est exprimé dans les membres en développement et les arcs pharyngés chez les embryons humains et régule probablement la différenciation et la

prolifération des chondrocytes, Les mutations de perte de fonction de SHOX affectent la croissance du squelette de manière dose-dépendante. Une affection extrêmement rare caractérisée par une petite taille sévère et une déformation du squelette (**Fukami et al., 2016**).

Le surdosage de SHOX a été impliqué dans la grande taille d'individus atteints de caryotypes 47,XXX (syndrome triple-X). SHOX2 pourrait jouer un rôle dans le développement des systèmes cardiaques et neurologiques. SHOX et SHOX2 ont probablement des fonctions distinctes, bien que les deux protéines puissent être impliquées dans la croissance du squelette. (**Fukami et al., 2016**).

Le gène ARX (Aristaless-related homeobox gene) est un gène lie au chromosome X, Localisés autour de la région Xp22.1 (**Billuart et al., 2005**). Fait partie de la famille des gènes homéobox qui codent pour des facteurs de transcription (**Essouissi., 2006**). Le ARX s'exprime principalement dans le cerveau (important au cours du développement du SNC (système nerveux central) embryonnaire (**Poirier et al., 2003**), impliquées respectivement dans la physiopathologie des troubles neuropsychiatriques et dans la formation de la mémoire et de l'apprentissage (**Essouissi., 2006**).

Ce gène une fois muté, il provoque un grand nombre de malformations cérébrales (retard mental) (**Essouissi., 2006**). Donc des différentes mutations du gène ARX sont impliquées dans les formes syndromiques et non syndromiques du retard mental. La mutation 98C>T conduisant à un changement de leucine en proline au niveau de l'acide aminé 33 d'ARX (L33P) est située dans le domaine octapeptide (**Poirier et al., 2003**).

La mutation 1058C>T devrait provoquer un changement de la proline 353 en leucine (P353L) et est l'un des six résidus invariables, typiques de l'homéodomaine de type apparié. Cette mutation a été identifiée dans une rare épilepsie myoclonique récessive liée à l'X avec spasticité et déficience intellectuelle (**Poirier et al., 2003**).

Le gène OPHN1 (Oligophrenine 1) est un gène situé sur le chromosome X, localisé sur le bras long Xq12. Les personnes atteintes sont décrites avec quelques troubles modérés de l'apprentissage, un léger déficit intellectuel, un strabisme, et des modifications faciales subtiles (**Zanni, 2013**).

Tant que le triple X ne provoque pas de manifestations spécifiques, les femelles porteuses peuvent mener une vie tout à fait normale. Aucun traitement n'est donc nécessaire. La seule caractéristique vraiment importante que l'on peut observer chez les femmes atteintes du

syndrome du triple X est que leurs tailles sont au-dessus de la moyenne (**Giorgetta et al., 2019**).

### III.2.3. Patient 3

D'après les résultats qu'on a eus, on conclue que cette fille âgée de 6 mois représente un caryotype avec une trisomie 21 par translocation robertsonienne entre les chromosomes 15 et 21 (syndrome poly-malformatif). Le caryotype des parents est indiqué afin de déterminer l'origine héritée ou *de novo* de cette anomalie.

Parmi les gènes candidats de syndrome poly-malformatif, on a le gène DYRK1A (dual-specificity tyrosine-regulated kinase 1A) est une kinase à un effet multiple pour le développement embryonnaire, notamment dans le système nerveux. (surexprimée dans le cerveau des patients atteints du syndrome de Down (DS) (**Martínez et al., 2015**). Ce gène DYRK1A est situé dans la région 21q22.13-21q22.2 (**Laham et al., 2020**). Le DYRK1A est impliqué dans développement cérébral et régule le cycle cellulaire et induit la différenciation des cellules neuronales en induisant l'arrêt en phase G0/G1 (**Laham et al., 2020**).

Une étude antérieure a montré que DYRK1A phosphoryle le facteur de transcription notch et atténue la signalisation notch dans les cellules neurales, ce qui induit la différenciation des cellules neuronales. Il a été constaté que l'expression déséquilibrée de DYRK1A perturbait le facteur de silence restrictif des neurones régulateur de la transcription REST/NRSF, responsable de la régulation de l'expression des gènes pendant la maturation des cellules neuronales (**Neumann et al., 2018**).

Dans la trisomie 21, l'expression de DYRK1A est 1,5 fois plus élevée que celle des individus normaux ce qui indique son implication dans diverses caractéristiques phénotypiques, une altération du développement neuromoteur, un handicap cognitif et un défaut de la mémoire et des capacités d'apprentissage spatial (**Laham et al., 2020**).

En plus des troubles neurologiques, les personnes atteintes de cette maladie souffrent de malformations cardiaques congénitales. L'explication moléculaire de ce phénotype est similaire aux effets de la surexpression de DYRK1A dans le cerveau. DYRK1A empêche la prolifération des cardiomyocytes et induit une différenciation prématurée en phosphorylant la cycline D1, D2 et D3, induisant ainsi un arrêt en phase G0/G1 développent ainsi une cardiomyopathie dilatée et une insuffisance cardiaque (**Laham et al., 2020**).

Le cerveau des patients adultes chez les sujets trisomiques 21 est plus petit avec une formation hippocampique. Dans la cellule, il y a une densité neuronale réduite avec une perte neuronale marquée dans diverses structures cérébrales (**Martin et al., 2012**). Le gène RCAN1 (Regulator Of Calcineurine 1) est situé sur le chromosome 21 dans les régions q22.1- q22.2 code pour la protéine RCAN1 qui est un inhibiteur de l'activité de la calcineurine (**Hoeffler et al., 2007**). La surexpression du gène RCAN1 entraîne la réduction du transport calcique post-synaptique affectant directement l'activité des kinases dépendantes du calcium à savoir ; les protéines CaMKII et ERK1/2. RCAN1 est associée à des changements dans les compartiments pré- et post-synaptiques en raison de son rôle dans l'exocytose, l'endocytose, la signalisation cellulaire, la plasticité synaptique, l'apprentissage et la mémoire (**Martin et al., 2012**).

# Conclusion

Ce travail porte sur l'analyse cytogénétique de trois patients au niveau du Laboratoire de Cytogénétique du Centre Hospitalier Universitaire de Tizi-Ouzou. Nous avons appliqué les méthodes cytogénétiques conventionnelles aux lymphocytes en phase mitotique. Le marquage chromosomique en bandes morphologiques RHG a été réalisé sur des chromosomes allongés bloqués en métaphase. Ainsi, nous avons pu identifier et classer les paires de chromosomes en mettant en évidence la taille, la position des centromères et le nombre de bandes. Ce dernier possède des bandes majeures spécifiques (land marques) caractérisant chaque paire de chromosomes. Cependant, il existerait des cas qui nécessitent une technique de cytogénétique moléculaire (hybridation *In situ* à fluorescence (FISH)) qui permettent d'obtenir des résultats plus précis.

# **Références**

## **Bibliographiques**

---

## Référence

---

- **Abairrou.A.** (2013). *Application des Cytogénétiques Conventiionnelle et Moléculaire dans les Syndromes Myélodysplasiques*. Pour l'obtention du doctorat en pharmacie : Université Mohammed–Souissi- Rabat. 138p.
- **Abdelmoula.N-B., Portnoï.M-F., Vialard.F., Amouri.A., Akker.J-V.D., Taillemite.J-L.** (2000). Les techniques de cytogénétique moléculaire :principes et progrès. *Dossier Technique*. 16 :1405-11. 106.
- **Adamson.K-A., Cross. I., Batch. J-A., Rappold.G- A., Glass. I-A., Ball.S-G.** (2002). Trisomy of the short stature homeobox-containing gene (SHOX), resulting from a duplication-deletion of the X chromosome. *Clinical Endocrinology*. 56: 671-675.
- **Akimoto.N., Shimizu.T., Shikawa.M., Ishimaru.S., Furukaw.K-I.** (1994).The Surgical Treatment of Aortic Dissection in a Patient with Turner's Syndrome : Report of a Case. *Surg Today Jpn J Surg*. 24:929-932.
- **Ali cherif.S., Belmadi.M.** (2020). *Trisomie 21 et effet de la consanguinité et l'âge Maternelle*. Obtention du diplôme master en biologie. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 74p.
- **Amedimele.K.** (2015). *Les anomalies chromosomiques dans les syndromes dysmorphiques et malformatifs*. Thèse de doctorat en médecine. Université Cadi Ayyad. 87p.
- **Atkins. L., Bartsocas. C. S.** (1974). Down's syndrome associated with two Robertsonian translocations, 45, XX,-15,-21,+t(15q21q) and 46,XX,-21,+t(21q21q). *Journal of Medical Genetics*. 11(3):306–309.
- **Azevedo Moreira.L.M., Damasceno Espirito Santo. L., Lacerda.F., Carvalho.A.** (2013). Down syndrome due to rare inherited 15/21 Robertsonian translocation: genetics and reproductive counseling. *International Medical Review on Down's Syndrome*. 17(3):36-38.
- **Abairrou.A.** (2013). *Application des Cytogénétiques conventionnelle et moléculaire dans les syndromes myélodysplasiques*. Obtention du doctorat. UNIVERSITE MOHAMMEDV –SOUISSI-. 85p.

- **Bechkri.S.** (2020). Cours de Génétique. Faculté des sciences de la nature et de la vie. p101.
- **Belmokhtar.R.** (2014). *Les anomalies Gonosomiques : Cas de Stérilité*. Obtention de Magister en Biologie. UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAÏD- tlemcen-. 99p.
- **Berger.R.** (2006). Cytogénétique humaine. De 1956 à 2006. *Pathologie Biologie*. 55 :1-12.
- **Ben Hamouda.H., Tfifha.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.
- **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 hybridization in the study of constitutional chromosomal abnormalities. *Pathologie Biologie*. 55: 13-18.
- **Binkert.F., Ph.D., Spreiz.A., Mag., Hföckner.M., Miny.P., M.D., von Dach Leu.B., Erdel.M., Zschocke.J., Utermann.G., Kotzot.D.** (2010). Parental origin and mechanism of formation of a 46, X, der(X)(pter/q21.1::p11.4/pter)/45,X karyotype in a woman with mild Turner syndrome. *Fertility and Sterility*. 94(1):15.
- **Billuart.P., Chelly.J., Gilgenkrantz.S.** (2005). Retards mentaux liés à l'X. *Médecine science*. 21 :947-53.
- **Bloom.S.E., Goodpasture.C.** (1976). An Improved Technique for Selective Silver Staining of Nucleolar Organizer Regions in Human Chromosomes. *Human Genetics*. 34:199-206.
- **Bois. E, Nassar.M, Zenaty.D, Léger.J, Van Den Abbeele.T, Teissier.N.** (2018). Atteintes otologiques du syndrome de Turne. *Annales Française d'Oto-rhino-laryngologie et de Pathologie Cervico-faciale*. 135 :23-28.
- **Cabrol. S.** (2007). Le syndrome de Turner. *Annales d'Endocrinologie*. 68 : 2-9.
- **Cereda.A., Carey.J-C.** (2012). The trisomy 18 syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*.7:81.
- **Chhah.Y.** 2016. *Les aspects cytogénétiques chez les patients adressés au CHU Mohammed VI pour suspicion d'anomalies chromosomiques : Etude rétrospective à propos de 160 cas*. Doctorat en Médecine. Université Cadi ayyad. 65p.

- **Conceicao.S., Oliveira., Alves.C.** (2011). The role of the SHOX gene in the pathophysiology of Turner syndrome. *Endocrinol Nutr.* 58(8), 433-442.
- **Chen.CP., Wu.PC., Lin.CJ., Su.YN., Chern.SR., Tsai.FJ., Chen-Chi Lee.CC., Town.DD., Chen.WL., Chen.LF., Lee.MS., Chen-Wen Pan.WP., Wayseen Wang.W.** (2010). *Balanced reciprocal translocations detected at amniocentesis. Originale Article.* 49(4) : 455-467.
- **Chevassus-Louis. N.** (2000). FISH : la renaissance de la cytogénétique. *Biofutur.* 200 : 18.
- **Coulibaly.F.** (2020).Cytogénétique Humaine. UNIVERSITE Félix HouPhouët BOIGNY. P48.
- **Davison.R-M., Fox. M., Conway.G-S.** (2000). Mapping of the POF1 locus and identification of putative genes for premature ovarian failure. *Molecular Human Reproduction.* 314–318.
- **Dimassi.S., Tilla. M.,Sanlaville. D.** (2017). Anomalies chromosomiques. *Journal de pédiatrie et de puériculture.* 30(5-6) : 249–270.
- **Donnai.D., Read.A.** (2008). Génétique médicale : De la biologie à la pratique clinique. 1<sup>re</sup> édition. Rue des minimes, 39 B-1000 Bruxelles : groupe De Boeck. [Hors collection science]. 460 p.
- **Dussardier.B., Kitzis. A.** (2009). Intérêt de la biologie moléculaire dans le diagnostic rapide de la trisomie 21 et des aneuploïdies les plus fréquentes. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.* 37 :611-619.
- **Dutrillaux. B.** (1973).Nouveau système de démarquant chromosomique : Les bandes T. *Chromosome(Berlin).* 41:3 9 5 - 4 0 2 .
- **Dupont C.** 2020. Cytogénétique prénatale. *EMC – Obstétrique.* 0(0):1-26. Essouissi.I. (2006). *Memoire de Fin d'Etudes du Fastere en Genetique Humaine. Mastere en Genetique Humaine.* Université de Tunis El Manar. p91.
- **Egea.G.** (2010). *Caracterisation de 10 Marqueurs Chromosomiques Surnumeraires (MCS) : apport de l'Hybridation Genomique Comparative sur Microreseau (CGH-array).* obtention du doctorat. Universite Joseph Fourier. 114p.
- **Fauret. A-L., Bilan. F., Patri. S., Couet. D., Marechaud. M., Pierre.F., Gilbert-Gentric.G.** (2013). *Altérations de la Polyploïdie Hépatocytaire au cours du Développement des Hépatopathies Stéatosiques dites Non-Alcooliques.* Thèse de

doctorat en Biochimie. Biothérapies. Biologie Moléculaire et Infectiologie. Université Paris Descartes. 203 p.

- **Fernández-Martínez.P., Zahonero.C., Sánchez-Gómez.P.** (2015) DYRK1A: the double-edged kinase as a protagonist in cell growth and tumorigenesis. *Molecular & Cellular Oncology*. 2(1):12.
- **Ferreira.S-I., Matoso.E., Pinto.M., Almeida.J., Liehr.T., Melo.J-B., Carreira.I-M.** (2010). X-chromosome terminal deletion in a female with premature ovarian failure: Haploinsufficiency of X-linked genes as a possible explanation. *Molecular Cytogenetics*. 3:14.
- **Flowers.N-J., Sci.B.M-L., Burgess.T.,(Hons). BSc., Giouzeppos.O., Shi.G., Sci.B.M., LoveC-J., , Hunt.C-E., Couns.GD-G., Scarff.K-L., PhD., Couns.MG., Archibald.A.D., PhD, Couns.GD-G., Pertile.M-D.** (2020). Genome-wide noninvasive prenatal screening for carriers of balanced reciprocal translocations. *Genetics in Medicine*. 12P.
- **Fukami.M., Seki.A., Ogata.T.** (2016). SHOX Haploinsufficiency as a Cause of Syndromic and Nonsyndromic Short Stature. *Mol Syndromol*. 7:3-11.
- **Gardner R-J-M., Sutherland G-R.** (1996). Chromosome abnormalities and genetic counseling. *Oxford University Press*. 30: 634.
- **Giorgetta.J.** (2019). Symptôme triple X : symptômes, types d'anomalées et traitements. *Le journal des femmes*. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2587628-syndrome-triple-x-definition-causes-s...>
- **Honda.H., Miharun.N., Ohashi.Y., Honda.N., Hara.T., Ohama.K.** (1999). Analysis of segregation and aneuploidy in two reciprocal translocation carriers, t(3;9)(q26.2;q32) and t(3;9)(p25;q32), by triple-color fluorescence in situ hybridization. *Original Investigation*. 105:428-436.
- **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] (consultée le 28/05/2022).
- **Pierre.M-J., Jonveaux.P., Lacombe.D., Leporrier.N., Lyonnet.S., Morraine.C.** (2004). Génétique médicale: Formelle, Chromosomique, Moléculaire, Clinique. Collège National Des Enseignants Et Praticiens Et Génétique Médicale. Edition Masson. Paris. 71-132p.

- **JORDE.L.B., CAREY. J.C., BAMSHAD.M.J., WHITE.R.L.** (2004). Génétique médicale. 1<sup>er</sup> édition . 62, rue Camille Desmoulins 92442 Issy-les-Moulineaux Cedex : Elsevier Masson. [Campus Reference].446p.
- **Kammoun.M., Chaabouni.M., Trabelsi.I., Ouertani.L., Kraoua.I., Chelly.R., M'rad.L., Ben Jemaa.F., Maâzoul.H., Chaabouni .** (2008).Article original Analyse génétique du syndrome de Turner : étude tunisienne de 89 cas Genetic analysis of Turner syndrome: 89 cases in Tunisia I. *Annales d'Endocrinologie.* (69) 440–445.
- **Kesler.S-R., Ph-D.** (2007). Turner Syndrome. *Child Adolesc Psychiatric Clin N Am* 16: 709–722.
- **KIM.S-R., SHAFFER.L.G.** (2002)Robertsonian Translocations: Mechanisms of Formation, Aneuploidy, and Uniparental Disomy and Diagnostic Considerations. *Genetic Testing.* 6(3):6.
- **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).
- **Lafage-Pochitaloff.M.** (2003). Notions de base en cytogénétique conventionnelle et moléculaire : application au diagnostic des hémopathies malignes : Essential of conventional and molecular cytogenetics: application diagnosis of hematological malignancies. *Pathologie Biologie.* 51 :307-311.
- **Laham.A-J., Saber-Ayad. M., El-Awady.R.** (2020). DYRK1A: a down syndrome-related dual protein kinase with a versatile role in tumorigenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences.* P17.
- **Lemieux. N, Drouin.R, Richer.C.** (1990). High-resolution dynamic and morphological G-bandings (GBG and GTG): a comparative study. *Human genetics.* 85:261-266.
- **Li, Y., et al.** (2014). Constitutional and somatic rearrangement of chromosome 21 in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature.* 508 (7494), 98-102.
- **Maayoufi.S., Hamouda.F., Djebien.S.** (2017). Profil cytogénétique du syndrome de Turner : à propos d'un cas. *Morphologie.*101(335): 259.
- **Malan. V., Lapierre. J-M., Vekemans.M., Romana.S-P.** (2007). La CGH array : un bouleversement de la pratique hospitalière en cytogénétique. *ITBM-RBM.* 28 :245-251.

- **Malan.V, Romana.S.** (2012). Diagnostic des anomalies chromosomiques par CGH array en pathologie constitutionnelle : la fin du caryotype en première intention. *archives de pediatries.* 19 :437-442.
- **Mangs.A-H., Morris.B.J.** (2007).The Human Pseudoautosomal Region (PAR): Origin, Function and Future. *Current Genomics.*8: 129-136 129.
- **Marcelo Razera.B., Deise Helena.S., Rosana Aparecida Bicudo.S., Ester Silvei.R., Danilo.M-F.** (2013). A rare non-Robertsonian translocation involving chromosomes 15 and 21. *Sao Paulo Medical Journal.* 131(6): 427–431.
- **Martin. K-R., Corlett.A., Dubach.D., Mustafa.T., Coleman.H-A., Parkington.H-C., Merson.T-D., Bourne.J-A., Porta.S., Arbones.M-L., Finkelstein.D-I., Pritchard.M-A.** (2012). Over-expression of RCAN1 causes Down syndrome-like hippocampal deficits that alter learning and memory. *Human Molecular Genetics.* 21(13): 3025–3041.
- **Mau1. U-A., Petruch .R-U., Kaiser1.P., Eggermann.T.** (2000). Familial Robertsonian translocation 15;21 and rare paracentric inv(21): unexpected re-inversion in a child with translocation trisomy 2. *European Journal of Human Genetics.* 8:815–819.
- **Neumann.F., Gourdain.S., Albac. C., Dekker.A-D., Linh Chi Bui., Dairou.J., Schmitz-Afonso.I., Hue.N., Rodrigues-Lima.F., Delabar.J-M., Potier.M-C., Le Caër.J-P., Touboul.D., Delatour. B., Cariou. K., Dodd.R-H.** (2018). *DYRK1A inhibition and cognitive rescue in a Down syndrome mouse model are induced by new fluoro-DANDY derivatives. Scientific Reports, 8(1), 2859.*
- **Nemos.C., Bursztejn. A-C., Jonveaux. P.** (2008). Gestion des variations du nombre de séquences génomiques (CNV) en génétique humaine constitutionnelle utilisant l’hybridation génomique comparative en microréseau d’ADN (HGCM) : Management of the CNVs in constitutional human genetics using array CGH. *Pathologie Biologie.* 56 : 354–361.
- **Nuria R.** (2011). *Identification and characterisation of disease-related copy number variations (CNVs) by high-dense SNP oligonucleotide microarrays.* Thèse de doctorat en génétique humaine. Université de Barcelone. 230p.
- **Otter.M., Schrandt-Stumpel. C-T., Curfs. L-M.** (2009).Triple X syndrome: a review of the literature. *European Journal of Human Genetic.* 18(3), 265–271.

- **Pasternak.J.J.** (2003).Génétique moléculaire humaine : Une introduction aux mécanismes des maladies héréditaires. 1<sup>er</sup> édition. [Science médicale]. 1<sup>er</sup> édition. 7, rue des jacquemont, F-75017: De Beock Université. 512p.
- **Poirier. K., Esch. H-V., Friocourt. G., Saillour.Y., Bahi.N.,Backer.S., Souil.E., Castelnau-Ptakhine.L., Beldjord. C., Francis. F., Bienvenu.T., Chelly.J.** (2003). Neuroanatomical distribution of ARX in brain and its localization in GABAergic neurons. *Molecular Brain Research*. 122(1) : 35-46.
- **Poot.M., Hochstenbach.R.** (2021). Prevalence and Phenotypic Impact of Robertsonian Translocations. *Molecular Syndromol*.12:1–11.
- **Popescu.CP.** (1990). Conséquences des anomalies de la structure chromosomique chez les animaux domestiques. *Roprod Nutr Dev*. 1 :105-106.
- **Pouw, J-S et al.** (2021). *Cytogénétique conventionnelle* [Prestations].CHUV. Cytogénétique [en ligne].consulté le 24 mai 2022.
- **Ranke.M.B., Saenger.P.** (2001). Turner’s syndrome. *The Lancet*. 358: 309–14.
- **Riche.C-L., Drouin.R-M., Orlando.M., JEA.P.** (1983). High-resolution idiogram of Giemsa R-banded human prophase chromosomes. *Gene T Cytol*. 25.
- **Rovet.J.** (2004). Turner Syndrome: A Review of Genetic and Hormonal Influences on Neuropsychological Functioning. *Child Neuropsychology*. 10(4)/ 262–279.
- **Sybert.V.P., McCauley.E.** (2004). Turner’s Syndrome. *medical progress*. 351:1227-38.
- **Salhane.H.** (2013). *Anomalies Cytogénétiques dans les Leucémies Aigues Myéloïdes :Données Récentes*. Pour l’obtention du doctorat en pharmacie : Université Mohammed V-Souissi-Rabat. 152p.
- **Samri. I., Bouguenouch.L., Hamdaoui.H., El Otmani.I., El Omairi.N., Chaouki.S., Hida.M., Ouldin.K.** (2013). Marqueurs chromosomiques: à propos d'un cas. *Journal médical panafricain*. 15:104.
- **Serre.J-L., Blottière.L.** (2013). *Génétique*. 2<sup>ème</sup> édition. 11 rue Paul Bert 92240 Malakoff. Dunod. 192p. [maxi fiches].
- **Stewart.F.** (2010). The anatomy of a chromosome. *Ulster Med J*. 79(3):110-113.
- **Strachan,T, Read.A.** (2004). Génétique moléculaire humain. 4<sup>ème</sup> édition. SAS Paris: Lavoisier.782p.
- **Tartaglia.N-R., Howell.S., Sutherland.A., Wilson.R., Wilson.L.** (2010) A review of trisomy X (47,XXX). *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 5:8.

- **Tjio. JH., Levan.A.** (1956). The chromosome number of man. *Hereditas*. 42:1-6.
- **Vialard F., Molina Gomes D.** (2011). Les nouvelles technologies d'analyse du génome: quelles utilisations en diagnostic prénatal. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*. (39) 1: 32-41.
- **Viotti.M.** (2020). Preimplantation Genetic Testing for Chromosomal Abnormalities: Aneuploidy, Mosaicism, and Structural Rearrangements. *Genes*. 11(6): 602.
- **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.
- **Yang.X., Yeb.Z., Zhang.x., Wang.H., Liu. C.** (2017). A finding in genetic polymorphism analysis study: A case of non-mosaic 47, XXX without manifestations. *Legal Medicine*. 27: 38–42.
- **Yelouassi.E.** 2021. Syndrome de Turner : Origine, Symptômes et Traitements. *Information hospitalière*. 318.
- **Zanni.G.** (2013). Syndrome de déficience intellectuelle liée à l'X-hypoplasie cérébelleuse. Orphanet. [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?lng=FR&Expert=137831](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=FR&Expert=137831).

# **ANNEXE**

---

## Annexe I

---

### Matériel analytique



**Agitateur à barreau magnétique**



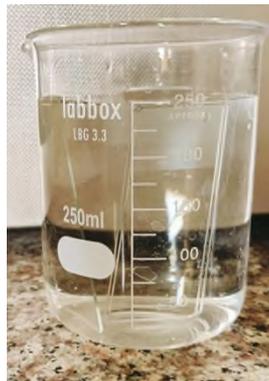
**Agitateur**



**Bec benzène**



**Balance**



**Bécher**



**Centrifugeuse**



**Embouts**



**Etuve**



**Fiole jaugée**



**Hotte**



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



**Micro ordinateur**



**Micropipettes**



**pH mètre**



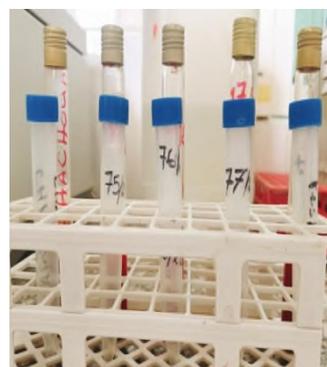
**Pipette Pasteur**



**Plaque de glace**



**Seringue**



**Tubes**



**Tube héparine**

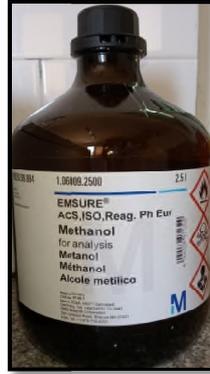
- **Agitateur en continu ou par impulsions (Marque : Vortex IKA MS 3 basic digital) avec vitesse d'agitation allant de 0 à 3000 tours/min.**
- **Bain marie (Mettler) avec contrôleur de température et une résolution de 0,1 °C, température maximale 95 °C, REF : (L210.0100).**
- **Balance de précision (Ohaus) 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.**

## Annexe II

### Réactifs



Acide acétique



Alcool  
(méthanol)



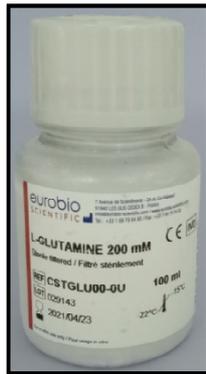
Colchicine



Colorant de  
GIEMSA R



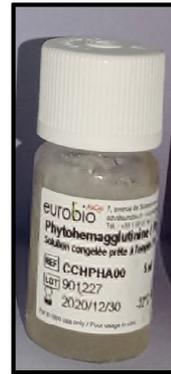
KCL



L-GLUTAMINE



Pénicilline +  
Streptomycine



Phytohemagglutinine



RPMI



Sérum de veau  
foetal



Solution saline



Solution acide

(H 2 NaO 4 P)



Solution basique

(NaH 2 PO 4 +2H 2 O)

- **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.**
- **L-glutamine (eurobioscientific), REF : CSTGLU00-0U.**
- **Milieu Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 Medium (eurobio scientific), REF: CM1RPM08-01.**
- **Pénicilline et Streptomycine en sérum physiologique (eurobioscientific), REF : CABPES01-0U.**
- **Phytohemagglutanine (eurobioscientific), REF : CCHPHA00.**
- **Potassium chloride B.P. (KCl).**
- **Sérum de veau foetal (eurobioscientific), REF : CVFSVF00-0U.**
- **Solution saline équilibrée de l'Earle (eurobioscientific), REF : CS3SSE14-0U.**

## Annexe III : 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 crane :**

- 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 .....**

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

**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 .....**

.....

.....

.....

## Résumé

Les maladies génétiques généralement sont causées par divers anomalies chromosomiques. Le présent travail est basé sur l'étude de deux cas d'aneuploïdie (le Syndrome de Turner en mosaïque, le Syndrome de triple X caractérisé par un chromosome X supplémentaire) ainsi qu'une anomalie de structure telle que la trisomie 21 par translocation robertsonienne du chromosome 21 sur le chromosome 15. Ces anomalies sont détectées grâce à la technique de cytogénétique conventionnelle (établissement de caryotypes). Le marquage en bandes RHG (Reverse bandin gusing Heat and Giemsa) permet d'identifier et de classer les paires de chromosomes en mettant en évidence la taille, la position des centromères et le nombre de bandes. Le rôle important de la cytogénétique classique est de démontrer tout type d'anomalies chromosomiques en déterminant les caryotypes prénataux ou postnataux, Néanmoins, le cas de la trisomie 21 par translocation robertsonienne du chromosome 21 sur le chromosome 15 fait appel à la cytogénétique moléculaire de type FISH (Fluorescence *In Situ* Hybridation), dans le but de déterminer les régions perdues des deux chromosomes (15, 21).

**Mots clés :** Cytogénétique, banding RHG, Syndrome de Turner, Syndrome de triple X, trisomie 21 par rob(15,21) ou (46, XX, rob(15,21) +21).

## Summary

Genetic diseases are generally caused by various chromosomal abnormalities. The present work is based on the study of two cases of aneuploidy (mosaic Turner syndrome, triple X syndrome characterized by an extra X chromosome) as well as a structural anomaly such as trisomy 21 by Robertsonian translocation from chromosome 21 to chromosome 15. These abnormalities are detected using the conventional cytogenetic technique (establishment of karyotypes). Labeling with RHG bands (Reverse banding Heat and Giemsa) makes it possible to identify and classify pairs of chromosomes by highlighting the size, the position of the centromeres and the number of bands. The important role of classical cytogenetics is to demonstrate all types of chromosomal abnormalities by determining prenatal or postnatal karyotypes. FISH (Fluorescence In Situ Hybridization), with the aim of determining the lost regions of the two chromosomes (15, 21).

**Keywords:** Cytogenetics, RHG banding, Turner syndrome, Triple X syndrome, trisomy 21 by rob (15, 21) or (46, XX, rob(15,21) +21).

## ملخص

تحدث الأمراض الوراثية بشكل عام بسبب تشوهات الكروموسومات المختلفة، يعتمد العمل الحالي على دراسة حالتين من حالات اختلال الصبغة الصبغية (متلازمة تيرنر الفسيفسائية، متلازمة ثلاثية اكس التي تتميز بوجود كروموسوم X اضافي) بالإضافة الى شذوذ بنيوي مثل التثلث الصبغي 21 بواسطة انتقال روبرتسون من الكروموسوم 21 الى الكروموسوم 15. هذه التشوهات تم اكتشافها باستخدام تقنية الوراثة الخلوية التقليدية (انشاء الأنماط النووية). ان المصقات باستخدام نطاقات RHG (النطاقات العكسية الحرارية وGiemsa) تجعل من الممكن تحديد و تصنيف أزواج الكروموسومات من خلال ابراز الحجم و موضع السنتروميترات و عدد النطاقات. يتمثل الدور المهم للوراثة الخلوية الكلاسيكية في اظهار جميع أنواع التشوهات الصبغية من خلال تحديد الأنماط النووية قبل الولادة أو ما بعد الولادة FISH (تهجين في الموقع)، بهدف تحديد المناطق المفقودة من الكروموسومات (15، 21).

الكلمات المفتاحية: علم الوراثة الخلوية، نطاقات RHG، متلازمة تيرنر، متلازمة ثلاثية اكس، تثلث الصبغي 21 بواسطة روب (15، 21) او (46، XX، روب (15، 21) +21).