

Royaume du Maroc
Université Mohammed V – Souissi

FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
RABAT



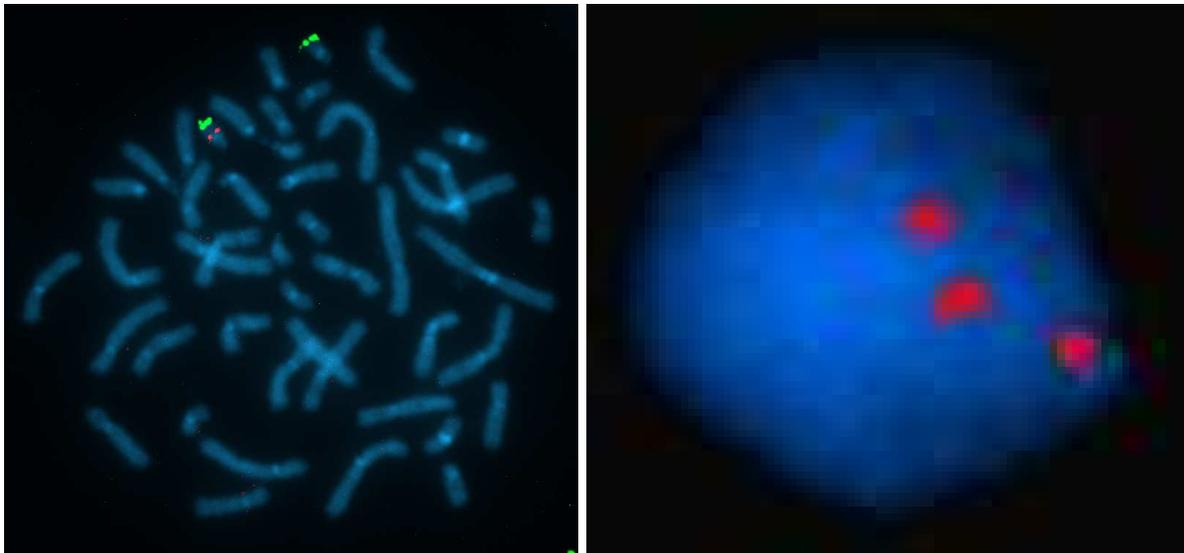
المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس – السويصي

كلية الطب والصيدلة
الرباط

Cours de Génétique Médicale

Pour les étudiants de 4ème année de Médecine

Professeur Abdelaziz SEFIANI



Dernière mise à jour : Septembre 2011

Ce document est destiné aux étudiants du 2ème cycle des études médicales. Il constitue un support pédagogique pour faciliter l'enseignement de la génétique médicale. Toutefois, il est fortement recommandé aux étudiants d'assister au cours magistral pour bénéficier d'explications supplémentaires et d'illustrations pratiques.

L'enseignement magistral est dispensé par le Professeur Abdelaziz SEFIANI, Directeur du Diplôme de Spécialité en Génétique et de l'UPR de Génétique à la Faculté de Médecine et Pharmacie de Rabat et par le Docteur Ilham RATBI, Professeur Assistante en génétique.

Les pré-requis nécessaires pour faciliter le suivi et la compréhension du cours concernent l'organisation générale, les modes de fonctionnement et les mécanismes de régulation du génome humain.

La totalité des illustrations qui accompagnent ce cours proviennent de dossiers cliniques réels et de situations vécues par des patients marocains et leurs familles, des résultats des prestations et des analyses génétiques et des travaux de recherche du Département de Génétique Médicale de l'Institut National d'Hygiène et de l'Equipe de Recherche sur l'Epidémiologie Moléculaire des Maladies Génétique au Maroc, équipe de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, accréditée par l'Université Mohamed V Souissi.

Pour ceux qui souhaitent approfondir leur savoir dans ce domaine, l'équipe pédagogique recommande deux ouvrages:

Génétique Médicale formelle, chromosomique, moléculaire, clinique. Masson, Paris, 2004

Biologie Moléculaire et Médecine, Médecine-Sciences, Flammarion., 3ème Edition 2007

Genetics In Medecine, Thompson & Thompson, Saunders Elsevier, Seventh Edition

LES OBJECTIFS DU COURS

L'objectif principal de ce cours, du domaine du savoir, vise l'intégration par le futur médecin généraliste des données génétiques et moléculaires dans le diagnostic, la prédiction et la prévention des maladies à composante génétique.

EN GENETIQUE FORMELLE

- Dessiner un arbre généalogique.
- Définir et savoir reconnaître les modes classiques de transmission des maladies mendéliennes.
- Connaître et donner des exemples de modes de transmission non mendéliens.

EN GENETIQUE DES POPULATIONS

- Calculer les fréquences géniques et les fréquences génotypiques dans une population humaine.
- Annoncer la loi de Hardy-Weinberg.
- Estimer sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg, la fréquence des hétérozygotes et des homozygotes pour un gène récessif.
- Calculer les coefficients de consanguinité et de parenté entre individus.
- Reconnaître les différents types de mariages consanguins.
- Expliquer le lien entre mariages consanguins et maladies autosomiques récessives.
- Conseiller un couple candidat à un mariage consanguin.

EN GENETIQUE CHROMOSOMIQUE

- Connaître chez l'homme, la fréquence et les conséquences des aberrations chromosomiques.
- Connaître les méthodes d'exploration des chromosomes.
 - Définir le caryotype humain et ses indications.

- Citer les étapes de réalisation d'un caryotype humain et ses indications.
- Connaître la nomenclature d'un caryotype métaphasique normal et des principales aberrations chromosomiques.
- Connaître les indications d'un caryotype en prométaphase.
- Connaître le principe et les indications de la technique FISH.
- Connaître les types et les mécanismes des aberrations chromosomiques.
 - Distinguer une anomalie chromosomique de nombre d'une anomalie de structure.
 - Distinguer une anomalie chromosomique homogène d'une anomalie en mosaïque.
 - Distinguer une anomalie chromosomique déséquilibrée d'une anomalie équilibrée.
 - Expliquer les différents mécanismes des anomalies chromosomiques de nombre.
 - Citer les anomalies chromosomiques de nombre viables chez l'homme.
- Connaître les signes cliniques évocateurs et les types cytogénétiques des anomalies chromosomiques viables chez l'homme.
 - Citer les principaux signes rencontrés dans les pathologies chromosomiques.
 - Citer la fréquence et les facteurs de risque de survenue d'une trisomie 21.
 - Connaître les symptômes évocateurs d'une trisomie 21.
 - Citer les types cytogénétiques de la trisomie 21 et leurs fréquences relatives.
 - Expliquer l'évolution et le suivi d'un enfant trisomique 21.
 - Conseiller les parents d'un enfant trisomique 21.
 - Expliquer les moyens de dépistage d'une grossesse à risque et les modalités du diagnostic prénatal de la trisomie 21.
 - Citer les principaux signes cliniques et les types cytogénétiques des trisomies 13 et 18.
 - Citer les principaux signes cliniques et les types cytogénétiques des syndromes 4p- et 5p-.
 - Connaître les signes cliniques et biologiques évocateurs d'un syndrome de Turner.
 - Connaître les signes cliniques et biologiques évocateurs d'un syndrome de Klinefelter.
 - Citer les autres anomalies des gonosomes fréquentes chez l'homme.
- Connaître l'apport de la cytogénétique dans les hémopathies malignes.
 - Expliquer l'intérêt du caryotype dans le diagnostic et la prise en charge des leucémies.
 - Citer les caractéristiques des anomalies chromosomiques des hémopathies malignes.

- Expliquer les mécanismes cytogénétique et moléculaire à l'origine du chromosome Philadelphie.
- Citer les principales anomalies chromosomiques associées à des hémopathies malignes.

EN GENETIQUE MOLECULAIRE

- Connaître les principales méthodes de diagnostic moléculaire.
 - Expliquer le principe de la PCR et ses différentes étapes.
 - Connaître des exemples d'application de la PCR dans le diagnostic des maladies héréditaires.
 - Expliquer le principe du séquençage fluorescent de l'ADN selon Sanger.
- Connaître les mécanismes des mutations et leurs conséquences en pathologie humaine.
 - Définir une mutation et distinguer entre mutation germinale et mutation somatique.
 - Connaître les types de mutations ponctuelles modifiant le phénotype.
 - Citer les types de mutations silencieuses et connaître leur intérêt dans l'étude du polymorphisme génétique.
 - Définir les mutations instables et donner des exemples de pathologies liées à des mutations instables.
 - Connaître à travers des exemples les autres mécanismes de mutations (délétions-duplications, fusion de gènes, surexpression de gènes, inversion et insertion de séquences, unidisomies parentales).

EN CONSEIL GENETIQUE ET DIAGNOSTIC PRENATAL

- Connaître la particularité et les éléments sur lesquels repose le conseil génétique.
- Citer les indications du conseil génétique.
- Savoir estimer, dans des cas simples, un risque génétique.
- Citer les pièges et les situations dans lesquelles le conseil génétique est difficile.
- Citer les possibilités offertes à un couple qui demande un conseil génétique.

- Connaître les aspects éthiques de la diffusion des informations sur les données génétiques.
- Connaître les techniques de prélèvement des tissus fœtaux.
- Citer les types d'analyses biologiques proposées pour la réalisation d'un diagnostic prénatal.
- Distinguer entre les stratégies directe et indirecte dans le diagnostic prénatal par analyse de l'ADN.

EN GENETIQUE DES CANCERS

- Comprendre les bases génétiques de la carcinogenèse.
- Citer les différents types de gènes impliqués dans les cancers et leurs fonctions.
- Distinguer entre cancer sporadique et cancer avec prédisposition génétique.

INTRODUCTION GENERALE

La recherche sur le génome humain continue à produire, en ce début de siècle, une quantité impressionnante de connaissances dans le domaine la génétique humaine et médicale. Grâce à des avancées technologiques spectaculaires et à des investissements financiers massifs, la génétique et la biologie moléculaire ont permis d'élucider la séquence totale du génome humain et de mieux connaître la localisation et la fonction des gènes, en particulier ceux impliqués dans des maladies humaines. L'impact révolutionnaire sur la société et sur le système de soins de la génétique médicale n'est certainement qu'à ses débuts.

Il est classique de considérer trois types de maladies génétiques :

Maladies héréditaires mendéliennes ou monogéniques où un seul gène est impliqué dans l'apparition de la maladie. Il existe ainsi plusieurs types d'hérédité mendélienne (autosomique dominante, autosomique récessive, récessive et dominante liée à l'X).

Le catalogue des maladies monogéniques, créé par Victor McKusick à la fin des années 70, existe sous forme d'une banque de données informatisée constamment réactualisée [**OMIM**, acronyme de « Online Mendelian Inheritance in Man »] et en libre accès sur le site <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim>. Chaque maladie est identifiée sous la forme d'un numéro à 6 chiffres (par exemple Achondroplasie MIM 100800).

Il existe également un serveur d'informations sur les maladies génétiques, dénommé **ORPHANET** en référence aux maladies rares, et qui est en libre accès : <http://www.orpha.net>

Maladies héréditaires non mendéliennes: elles concernent l'hérédité mitochondriale, l'empreinte parentale, les maladies oligogéniques (digénisme, trigénisme) et les maladies multifactorielles (hérédité complexe).

Maladies par aberrations chromosomiques dues à une anomalie de nombre ou de structure des chromosomes.

Une maladie **congénitale** est une maladie présente à la naissance, la cause pouvant être génétique ou non génétique. Par exemple, les malformations dues à la rubéole sont présentes à la naissance mais sont d'origine virale (virus de la rubéole). Les maladies génétiques peuvent être létales avant la naissance, présentes à la naissance (congénitales) ou se déclarer plus tard, parfois des années après la naissance.

L'incidence désigne le nombre de nouveaux cas d'une maladie par unité de temps dans une population.

La prévalence est le rapport du nombre de personnes atteintes à la population considérée.

On parle de la **réurrence** d'une maladie dans une fratrie, lorsqu'un deuxième enfant est atteint de la même maladie que le premier. Le risque de réurrence est la probabilité de survenue d'un deuxième cas compte tenue des connaissances actuelles en génétique.

LES MODES DE TRANSMISSION DES MALADIES HEREDITAIRES

I- DEFINITIONS

Le gène: La définition du gène a évolué avec le développement des connaissances en génétique. La biologie moléculaire permet de définir aujourd'hui le gène comme toute séquence d'ADN transcrite en ARN traduite ou non en peptide.

Locus: Les gènes sont disposés de façon linéaire sur les chromosomes. On appelle locus l'emplacement spécifique qu'occupe un gène sur un chromosome. Un même locus peut être occupé par des allèles différents.

Allèles: Un gène peut exister dans la population sous différentes formes. Deux gènes sont dits des allèles quand:

Ils occupent des loci identiques mais sont exclusifs l'un de l'autre.

Ils peuvent naître les uns des autres par mutations.

Ils ont la même fonction (avec une efficacité qui peut être différente)

Homozygote, hétérozygote : Chez l'homme (organisme diploïde à 46 chromosomes), deux allèles occupent les deux loci correspondants sur les deux chromosomes homologues.

Si les deux allèles sont identiques, on dit que le sujet est **homozygote** pour le locus considéré. Si les deux allèles sont différents, le sujet est dit **hétérozygote**.

L'état **hémizygote** désigne tous les gènes portés par le chromosome X chez le sexe masculin (présent en un seul exemplaire).

Pour un locus donné avec deux allèles **A** et **a**, 3 génotypes sont possibles:

AA et **aa** homozygotes

Aa hétérozygote.

Si dans une population un gène existe sous forme de **n** allèles, le nombre de génotypes possibles au niveau de ce locus est $n(n+1) / 2$.

III : HEREDITE DOMINANTE AUTOSOMIQUE

III-1 : DEFINITION

En génétique médicale, un caractère est dit dominant quand il est déterminé par un gène qui se manifeste à l'état hétérozygote.

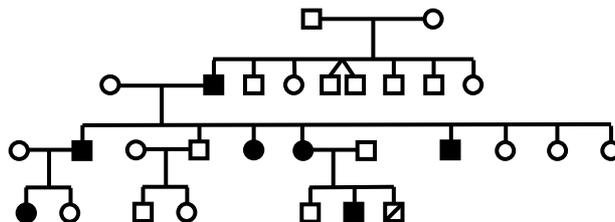
AA phénotype normal «sauvage»

Aa phénotype anormal

Très souvent on ne connaît pas le phénotype de la forme homozygote pour l'allèle muté responsable de la maladie (pour le voir il faudrait que deux malades se marient entre eux, ce qui est peu probable chez les humains). Certains cas, comme l'hypercholestérolémie familiale par exemple, suggèrent que chez l'homozygote **aa** la maladie est plus grave, plus précoce ou d'évolution plus rapide.

III-2 : CRITERES DE RECONNAISSANCE D'UNE MALADIE AUTOSOMIQUE DOMINANTE:

- Les deux sexes, garçons ou filles sont touchés de façon égale.
- Les sujets malades naissent d'un parent malade (transmission verticale d'une génération à une autre).
- Dans la descendance des sujets malades, **en moyenne**, un enfant sur deux est malade.
- Les sujets malades naissent en général d'un mariage entre un homozygote normal **AA** et un hétérozygote malade **Aa**.
- Les sujets sains sont homozygotes **AA** pour l'allèle normal et leurs enfants sont normaux.



Arbre généalogique illustrant une transmission autosomique dominante

III-3 FORMES SPORADIQUES D'UNE MALADIE DOMINANTE AUTOSOMIQUE

Très souvent, une maladie connue pour sa transmission autosomique dominante, apparaît chez un individu alors que ses parents et ses collatéraux sont indemnes. L'atteinte de l'enfant s'explique par alors par une nouvelle mutation (**néo-mutation**) et le génotype des deux parents est **AA**. Le risque de voir naître chez ce couple un second enfant atteint est théoriquement le même que celui de la population générale (dépend de la fréquence de survenue des mutations dans ce gène). Le risque de survenue d'une nouvelle mutation est plus élevé chez l'homme âgé que chez la femme (risque d'erreurs de réplication au cours de la spermatogenèse). Exemple de l'achondroplasie où 90% des cas sont dus à une néomutation.

La naissance d'un deuxième enfant atteint de parents sains s'explique par un **mosaïcisme gonadique**: Dans ce cas un des parents serait porteur au niveau de ses gonades d'une mosaïque de gamètes porteurs de l'allèle normal **A** et d'autres gamètes porteurs de l'allèle muté **a**. Le risque pour un couple indemne d'avoir un second enfant atteint d'une maladie autosomique dominante dépend de la fréquence des mosaïcismes gonadiques pour la pathologie en question (risque de 2 à 10%).



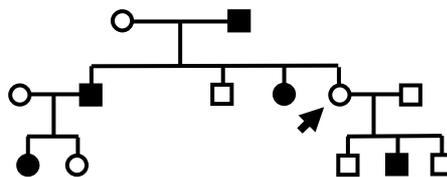
La première observation d'un mosaïcisme gonadique dans le syndrome de Noonan a été rapportée chez une famille marocaine dont deux enfants sont atteints du syndrome de Noonan et tous les deux porteurs d'une mutation hétérozygote du gène *PTPN11* (c.922A>G ; p.Asn308Asp). Aucun des deux parents n'étant porteur de cette mutation.

III-4 : MANIFESTATIONS IRREGULIERES DES MALADIES AUTOSOMIQUES DOMINANTES

III-4-1 : La pénétrance incomplète

Un gène dominant se manifeste chez le porteur hétérozygote. Dans certaines conditions, un porteur sûr du gène peut ne pas manifester la maladie en question. On dit qu'il y a eu «saut de génération» ou que la pénétrance de la maladie est incomplète.

La pénétrance peut varier en fonction de l'âge (exemple de la maladie de Huntington) et/ou du sexe (exemple du syndrome de prédisposition héréditaire au cancer su sein).



La pénétrance est un concept statistique qui illustre le pourcentage de porteurs du gène et qui expriment la maladie.

$$R = \frac{\text{Nombre de sujets atteints (Aa)}}{\text{Nombre total des sujets (Aa)}}$$

Quand la pénétrance est complète $R = 100\%$

Une pénétrance incomplète (exemple $R = 90\%$) signifie qu 10% des personnes hétérozygotes **Aa** n'expriment pas la maladie mais peuvent la transmettre.

La pénétrance incomplète serait due au fait que l'expression du gène concerné subit l'influence de **facteurs modificateurs**, d'autres gènes par exemple.

III-4-2: L'expression variable d'une maladie

Dans certaines maladies autosomiques dominantes, le gène morbide se manifeste chez les sujets hétérozygotes avec des degrés variables même au sein d'une même famille (tableau clinique plus au moins complet et/ou plus au moins grave). On dit que le gène a une expression variable. Dans la **neurofibromatose de Von Recklinghausen** par exemple, un ou plusieurs symptômes (tumeurs cutanées, taches café au lait, manifestations systémiques..) peuvent être absents chez le malade.

L'expression phénotypique de certaines mutations génétiques peut se limiter à un seul organe (exemple: rétinites pigmentaires AD qui comportent uniquement des atteintes ophtalmologique d'autres mutations entraînent l'atteinte de plusieurs tissus et organes (exemple: la sclérose tubéreuse de Bourneville), on parle alors d'**effet pléiotropique** d'un gène.

III-4-3- Manifestation retardée d'une maladie autosomique dominante et anticipation

Certaines maladies autosomiques dominantes se manifestent à un âge avancé, plusieurs années après la naissance et parfois après que le sujet ait atteint l'âge de la reproduction, c'est l'exemple de **la chorée de Huntington**.

L'**anticipation** désigne un phénomène observé dans certaines maladies génétiques, en particulier celles d'apparition tardive, et qui consiste en la manifestation de la maladie à un âge de plus en plus précoce d'une génération à une autre. L'anticipation s'observe surtout dans les maladies génétiques dues à des mutations par expansion des trinuécléotides (voir cours sur les mutations).

L'anticipation peut dépendre du sexe du parent transmetteur: les formes congénitales de la maladie de Steinert sont transmises par la mère, et les formes précoces sévères de la maladie de Huntington sont transmises par le père.

III-5 : EXEMPLES DE MALADIES AUTOSOMIQUES DOMINANTES

- Achondroplasie
- Neurofibromatose de Van-Recklinghausen
- Dystrophie myotonique de Steinert
- Hypercholestérolémie familiale
- Chorée de Huntington.

IV- HEREDITE RECESSIVE AUTOSOMIQUE

IV-1 : DEFINITION

On dit qu'un caractère déterminé par un gène est récessif, quand il n'est pas détectable chez le sujet hétérozygote **Aa** et il ne se manifeste que chez la personne homozygote porteuse de deux allèles **aa**. L'individu hétérozygote **Aa** ne diffère pas phénotypiquement de l'homozygote normal **AA**.

IV-2 : CRITERES DE RECONNAISSANCE D'UNE MALADIE AUTOSOMIQUE RECESSIVE

- Les deux sexes, garçons et filles, sont touchés de façon égale.
- Les sujets atteints naissent de parents normaux, mais forcément hétérozygotes. Une maladie autosomique récessive peut toucher plusieurs frères et sœurs: on dit que sa transmission est de type horizontal. En raison de la faible taille des familles, il est fréquent qu'un seul sujet soit touché (cas isolé).
- Dans les fratries de malades, on compte **en moyenne**, un sujet atteint sur 4.
- Un sujet malade (son conjoint étant homozygote **AA** le plus souvent) donnera naissance à des enfants normaux mais tous hétérozygotes, sauf si la fréquence du gène morbide est élevée dans la population ou si le mariage est de type consanguin. Le conjoint peut être alors hétérozygote **Aa**, le malade transmet la maladie à 50% de sa descendance: La transmission est dite de type **pseudo-dominant**.

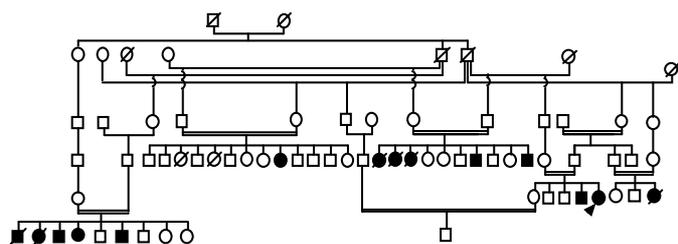
Dans les maladies autosomiques récessives, on trouve une proportion élevée de mariages entre apparentés (**consanguinité**).

Autosomal recessive anhidrotic ectodermal dysplasia in a large Moroccan family

K Kabbaj, L Baala, H Chhouli, A Sefiani

Abstract
We studied a large Moroccan family in which anhidrotic ectodermal dysplasia is transmitted as an autosomal recessive trait. Fourteen family members, both males and females, were affected and they all had a common ancestor. Linkage analysis by homozygosity mapping in this family will permit the gene localisation of this rare form of anhidrotic ectodermal dysplasia.
(*J Med Genet* 1998;35:1043-1044)

Keywords: anhidrotic ectodermal dysplasia; autosomal recessive transmission; consanguinity



Arbre généalogique d'une famille de Dysplasie ectodermique anhydrotique autosomique récessive

La mutation 35delG du gène de la connexine 26, une cause fréquente des surdités non syndromiques autosomiques récessives au Maroc

I. Ratbi^{a,*}, S. Hajji^a, K. Ouldin^a, N. Aboussair^a, D. Feldmann^b, A. Sefiani^a

Fratries et consanguinité chez les familles étudiées

| FRATRIE | CONSANGUINITE |
|-------------------|---------------|
| ○ ○ ■ ○ ● ■ | - |
| ● ● | - |
| ■ ■ | - |
| ● ● □ ■ | - |
| ● ● ○ | + |
| ■ ○ □ ● | - |
| ● ● ■ ○ | + |
| ■ ^a | + |
| ■ ■ ○ | + |
| ■ | + |
| ■ □ □ ■ ○ ○ | - |
| □ ● ● | + |
| ○ □ ■ ● | - |
| ■ ^a | + |
| ● □ ■ | - |
| ● ^a | + |
| ■ ■ ● | - |
| ● ■ | + |
| ● ● ○ | - |
| ○ ● ○ ● | + |
| ■ ^a | + |
| ○ ■ ○ ■ ■ | + |
| ● ● □ ○ ○ ○ ○ ● ○ | - |
| ● ^a | + |
| ■ ■ | + |

■ Garçon sourd
 ● Fille sourde
 □ Garçon sain
 ○ Fille saine
 a Présence de cousins atteints dans la famille

IV-3 : EXEMPLES DE MALADIES AUTOSOMIQUES RESSESSIVES

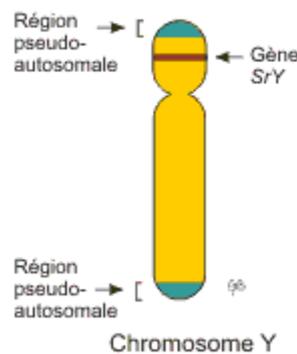
- Phénylcétonurie
- Fibrose kystique du pancréas
- Albinisme
- Xéroderma pigmentosum
- Amyotrophie spinale infantile

V : HEREDITE LIEE AU SEXE

V-1 : DEFINITIONS

Un **caractère lié au sexe** est déterminé par un gène porté par un gonosome. En plus des 22 paires d'autosomes, la femme possède deux chromosomes **X**, elle est dite **homogamétique** (produit un seul type de gamètes). L'homme a un chromosome **X** et un chromosome **Y**, il est dit **hétérogamétique** (produit deux types de gamètes).

Transmission pseudo-autosomique. Les chromosomes X et Y ont en commun des petites régions dites **séquences homologues PAR1 et PAR2**, au niveau des extrémités distales des bras court (p) et au niveau des bras long (q). Les gènes de ces régions se comportent comme des gènes autosomiques: on parle de transmission pseudo-autosomique.



Un **phénotype influencé par le sexe** se dit d'une maladie autosomique qui s'exprime chez les deux sexes, mais avec des fréquences inégales. L'hémochromatose par exemple est 10 fois plus fréquente chez les hommes que chez les femmes.

Un **phénotype limité au sexe** concerne des maladies autosomiques mais qui ne se manifestent que chez un seul sexe. Exemple les mutations du gène *AURKC*, en particulier m'anomalie récurrente c.144delC entraînent chez les hommes une infertilité avec un profil particulier au spermogramme (spermatozoïdes macrocéphales et multiflagellés). Le phénotype des femmes est normal.

L'inactivation du chromosome X (Théorie de Mary Lyon, 1961)

- L'un des deux chromosomes X des cellules somatiques d'une femme (46,XX) est inactivé (Processus d'extinction transcriptionnelle).
- Cette inactivation (lyonisation) se produit au hasard et porte soit sur le chromosome X d'origine maternelle (X_m), soit sur le chromosome X d'origine paternelle (X_p).
- L'inactivation survient à un stade précoce du développement embryonnaire et se transmet de façon stable et irréversible au cours des divisions cellulaires.
- Quel que soit le nombre de chromosomes X dans les cellules somatiques, un seul chromosome X est actif.
- Les femmes hétérozygotes Aa pour un gène récessif lié au chromosome X sont habituellement asymptomatiques. Cependant dans certains cas, en particulier lorsqu'il existe une inactivation préférentielle du chromosome X normal, la maladie s'exprimera avec une sévérité variable en fonction du degré d'inactivation de l'X normal.

V-2: HEREDITE RECESSIVE LIEE A L'X

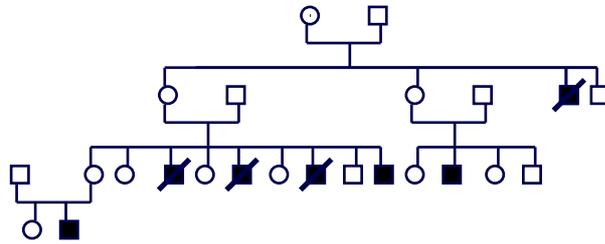
V-2-1 : Définition

Un gène récessif lié à l'X se manifeste presque exclusivement chez le garçon hémizyote qui ne possède qu'un seul chromosome X. Chez la fille le gène ne se manifesterait que dans certaines situations rares (homozygotie, inactivation préférentielle du chromosome porteur du gène normal, syndrome de Turner, gène inactivé par une translocation X;autosome).

V-2-2 : Critères de reconnaissance d'une maladie RLX

- Les sujets atteints sont pratiquement tous des garçons.
- Ils naissent en général du mariage d'une femme hétérozygote normale (conductrice ou porteuse de la maladie) et d'un homme normal.
- Dans les fratries des sujets malades, un garçon sur deux en moyenne est atteint, et une fille sur deux est conductrice.
- Dans la famille du père, les sujets sont sains, tandis que des hommes du côté maternel peuvent être atteints.
- Dans la descendance d'un malade tous les garçons sont sains et toutes les filles sont hétérozygotes (conductrices) et phénotypiquement normales.

- Tenir compte là aussi pour le conseil génétique des possibilités de néo-mutations, de pénétrance incomplète et de mosaïcisme gonadique.



Arbre généalogique d'une famille marocaine avec Hémophilie A

V-2-3 : Exemples de maladies récessives liées à l'X

- Myopathie de Duchenne
- Hémophilie A et B
- Déficit en G6PD
- Insensibilité aux androgènes

V-3 : HEREDITE DOMINANTE LIEE A L'X

- Un caractère est dit DLX si le gène qui le gouverne se manifeste chez l'homme hémizyote et chez la femme hétérozygote.
- Une mère atteinte transmet la maladie à un enfant sur deux et les deux sexes sont touchés.
- Souvent les garçons sont plus sévèrement atteints (souvent la maladie est létale) que les filles, du fait de la compensation chez la fille hétérozygote par l'allèle normal.
- Tous les garçons issus d'un père malade sont sains et toutes les filles sont malades.

Exemples de maladies DLX

- Rachitisme vitamino-résistant avec hypophosphatémie
- Syndrome d'Aicardi (agénésie du corps calleux + choréorétinite)
- Incontinentia pigmenti
- Syndrome de Rett

V-4 : HEREDITE LIEE AU CHROMOSOME Y: HEREDITE HOLLANDRIQUE

Il est admis actuellement que le chromosome **Y** est pauvre en gènes, à l'exception de ceux intervenant dans les processus de masculinisation ou de la spermatogénèse.

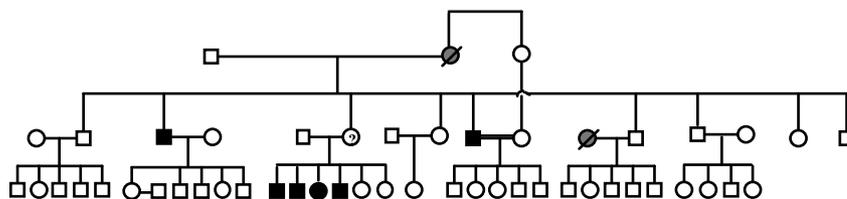
Un caractère dû à un gène sur le chromosome **Y** ne se manifesterait que chez le garçon et répondra à une **transmission père-fils**.

VI- HEREDITE MITOCHONDRIALE

- Les mitochondries sont héritées presque exclusivement de la mère: transmission de type maternel.
- Une maladie par mutation de l'ADN mitochondrial (mtDNA) se transmet toujours par la mère.
- Les enfants d'un homme malade sont tous sains.
- Il n'y a pas de transmission père-fils.

Une cellule est un mélange d'ADN mitochondrial muté et sauvage (état **hétéroplasmique**). Lors des divisions cellulaires successives, la répartition aléatoire des mitochondries peut aboutir à des cellules ayant l'ADNmt mutant à l'état pur **homoplasmiq**ue.

Le phénotype d'une cellule est fonction de la proportion de l'ADNmt muté et les degrés de dépendance de la cellule vis à vis de la fonction mitochondriale.



Arbre généalogique d'une famille marocaine avec une surdité mitochondriale

VII- EMPREINTE PARENTALE

Il s'agit d'un phénomène physiologique qui concerne quelques dizaines de gènes seulement, et qui conduit, dans des conditions normales, à l'expression d'une seule des deux copies parentales de chacun de ces gènes, soit la copie maternelle, soit la copie paternelle selon le gène considéré. Les gènes soumis à empreinte parentale jouent un rôle dans la croissance foetale et post-natale.

Les anomalies de l'empreinte parentale sont à l'origine de divers syndromes malformatifs, comportant des anomalies de la croissance, et de certaines tumeurs. Certains de ces syndromes sont bien caractérisés sur le plan clinique et moléculaire. C'est le cas des syndromes de Prader-Willi et d'Angelman, qui sont dus à une anomalie de l'empreinte parentale située sur le chromosome 15q11-q13.

VIII- DIGENISME, TRIGENISME

Deux ou trois gènes sont impliqués dans une maladie génétique.

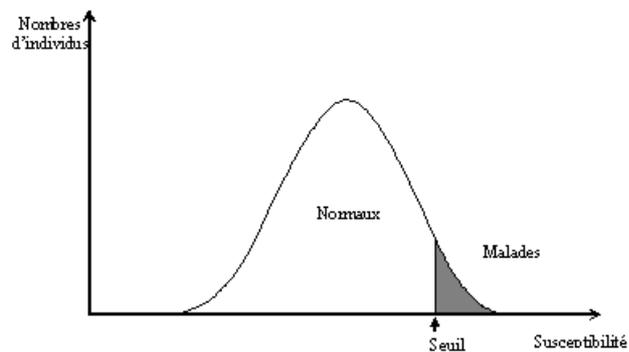
Certaines rétinites pigmentaires sont dues à un digénisme, dans certaines familles et pour être atteint les patients doivent être porteurs deux mutations, l'une sur le gène de la périphérine et l'autre sur un gène ROM1. Les membres de la même famille qui ont qu'une seule de ces deux mutations sont sains.

Le syndrome de Bardet-Biedl (caractérisé par une obésité, une rétinite pigmentaire et une polydactylie) est habituellement de transmission autosomique récessive mais il existe une minorité de cas d'oligogénisme (ou digénisme triallélique) : pour être malade, il faut être porteur de trois mutations, deux sur les deux allèles d'un gène (comme dans toute maladie récessive) et une troisième à l'état hétérozygote dans un deuxième gène. Les mutations hétérozygotes du deuxième gène modifient le phénotype (gènes modificateurs avec variation d'expressivité) ou plus encore, sont nécessaires à l'apparition du phénotype (hérédité triallélique).

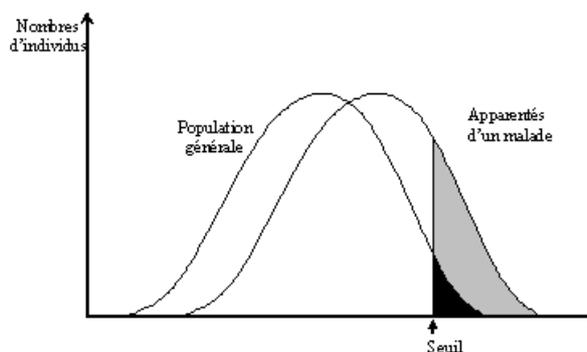
IX- HEREDITE MULTIFACTORIELLE

Des maladies communes (le diabète, l'obésité, l'hypertension artérielle, les allergies, les malformations congénitales et certains cancers) sont plus fréquemment observées dans certaines familles que dans d'autres. Mais la transmission de ces maladies n'est compatible avec aucune ségrégation mendélienne. On explique cette concentration familiale par un déterminisme multifactoriel de la maladie avec une contribution de facteurs génétiques et environnementaux.

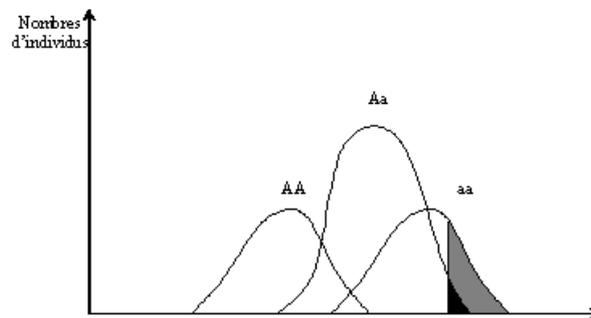
On suppose dans ces conditions l'existence d'une variable «non mesurable» qui est «la susceptibilité» de l'individu à la maladie. Cette variable dépendrait de plusieurs gènes (polygénie) et de facteurs apportés par le milieu. Chaque gène ou chaque facteur du milieu a un «petit effet» et la maladie se déclare dès que la susceptibilité atteint un seuil critique.



Les apparentés d'un patient partagent avec lui un certain nombre de gènes de susceptibilité, on y trouve parmi eux une proportion plus grande de personnes malades.



Ci-dessous, un exemple de modèle mixte avec un gène majeur **a** modulé par d'autres gènes et l'action du milieu.



CONSANGUINITE ET MALADIES HEREDITAIRES

I : RAPPELS DE GENETIQUE DE POPULATION

I-1 : Fréquence génique et fréquence génotypique

Soit un locus avec un système à deux allèles **A** et **a**, à qui correspond 3 génotypes: **AA**, **Aa** et **aa**.

Soit **p** la fréquence dans la population de l'allèle **A** et **q** la fréquence de l'allèle **a**

$$p + q = 1$$

Les fréquences géniques peuvent être déduites des fréquences génotypiques. En effet, la fréquence d'un allèle dans une population est égale à la fréquence des homozygotes plus la moitié de la fréquence des hétérozygotes.

$$p(A) = P + \frac{1}{2} H$$

$$q(a) = Q + \frac{1}{2} H$$

P est la fréquence des Homozygotes **AA**

Q est la fréquence des Homozygotes **aa**

H est la fréquence des hétérozygotes **Aa**

$$P + Q + H = 1$$

Exemple: Soit une population de 100 individus avec

30 **AA** soit 0.3 (30%)

60 **Aa** soit 0.6 (60%)

10 **aa** soit 0.1 (10%)

Le nombre total d'allèles (**A** et **a**) dans cette population est $(2 \times 100) = 200$

Le nombre d'allèles **A** est $= 2 \times 30 + 1 \times 60 = 120$

La fréquence $p(\mathbf{A}) = 120/200 = 0.6$ (60%)

Le nombre d'allèles **a** est $= 1 \times 60 + 2 \times 10 = 80$

La fréquence $q(\mathbf{a}) = 80/200 = 0.4$ (40%)

P = 0.3 **Q** = 0.1 **H** = 0.6

p = $0.3 + (1/2 \times 0.6) = 0.6$ **q** = $0.1 + (1/2 \times 0.6) = 0.4$

I-2 : La loi de HARDY et WEINBERG

I-2-1 : Définition

Dans une population panmictique, d'effectif illimité, sans sélection, ni migration, avec un taux de mutation constant, la fréquence des allèles **p(A)** et **q(a)** se maintient d'une génération à une autre. La fréquence des génotypes se maintient à partir de la 2^e génération à **p², 2pq et q²** pour respectivement **AA, Aa et aa**.

Quand les fréquences géniques demeurent constantes d'une génération à l'autre, on dit que la **population est en équilibre**.

I-2-2 : Loi de HARDY-WEINBERG et maladies autosomiques récessives

Cette loi permet de calculer la fréquence d'un gène récessif dans une population en équilibre

Soit la fréquence **p** de l'allèle **A** et la fréquence **q** de l'allèle **a**. **p+q = 1**

La fréquence dans la population des personnes malades **aa** est **q²**

R est la fréquence de la maladie dans la population.

$$q^2 = R$$

$$q = \sqrt{R}$$

La fréquence des personnes hétérozygotes **Aa** est **2pq**. Or la fréquence dans la population de l'allèle **A** est presque égale à 1 (l'allèle **a** morbide est rare) donc :

La fréquence des personnes hétérozygotes est 2q

Exemple : la phénylcétonurie

$$R = 1/10\ 000 \text{ naissances}$$

$$q = \sqrt{1/10\ 000} = 1/100$$

$$\text{Fréquence des hétérozygotes} = 2 \times 1/100 = \mathbf{2/100}$$

Si au Maroc : 800 000 naissances

80 malades

16 000 HTZ normaux

REMARQUE

Les gènes mutés des maladies récessives sont portés beaucoup plus par les individus hétérozygotes sains que par les malades.

| | |
|--|------------|
| 160 allèles a chez les malades aa | (2 x 80) |
| 16 000 allèles a chez les hétérozygotes Aa | (1x 16000) |

II- LA CONSANGUINITE

II-1 : Généralités

Deux individus sont dit apparentés, s'ils ont au moins un ancêtre commun. Celui-ci a transmis certains de ses gènes aussi **bien à l'un qu'à l'autre**. Par conséquent la différence génétique entre deux individus apparentés est moins grande que celle qui existe entre deux sujets pris au hasard dans la même population.

On appelle **mariage consanguin**, l'union entre deux individus apparentés. Les enfants qui naissent de tels mariages sont dits consanguins et sont plus souvent homozygotes que ne le voudrait de hasard.

De nombreux mariages consanguins ont été interdits par la religion et la législation civile.

Au Maroc, Cherkaoui et al. (J. Biosoc. Sci., 2009) ont estimé le taux de consanguinité dans la population marocaine à 15.25%.

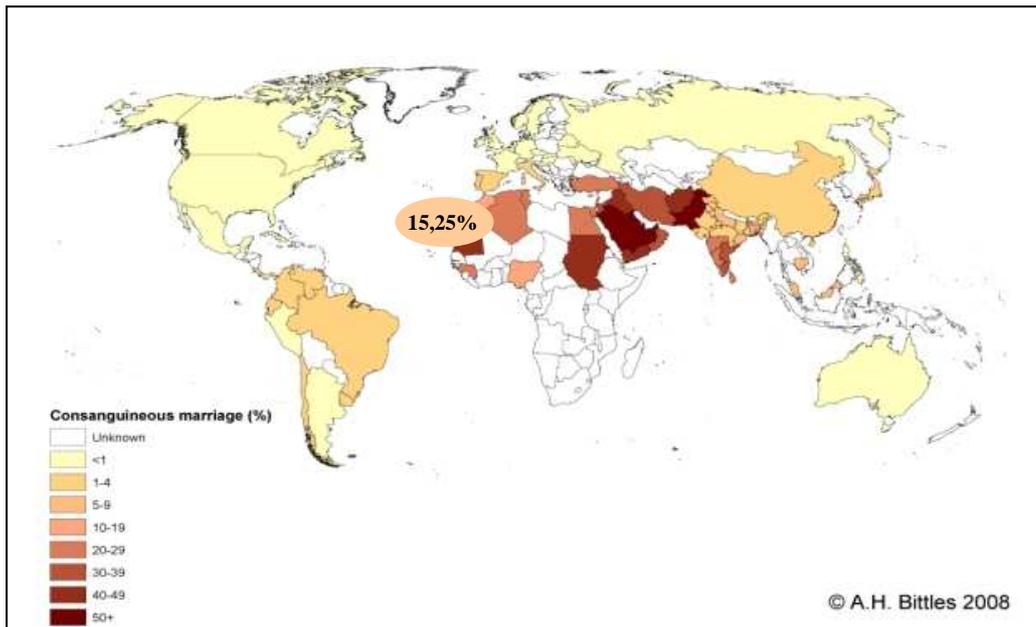
J. Biosoc. Sci., (2009) **41**, 575–581, © 2009 Cambridge University Press
doi:10.1017/S0021932009003393 First published online 12 May 2009

CONSANGUINEOUS MARRIAGES IN MOROCCO AND THE CONSEQUENCE FOR THE INCIDENCE OF AUTOSOMAL RECESSIVE DISORDERS

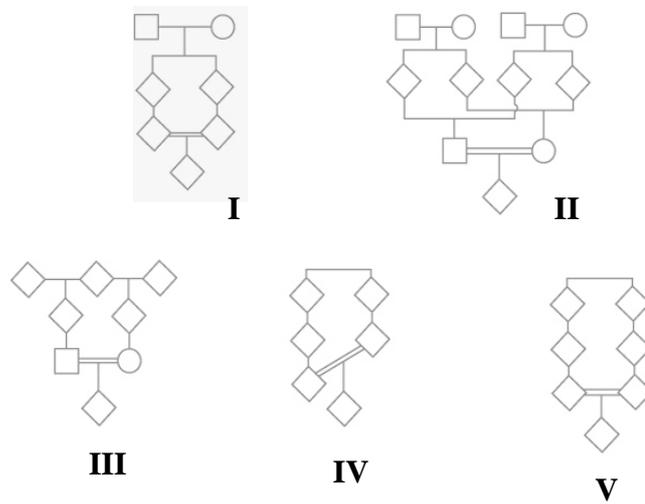
I. CHERKAOUI JAOUAD, S. CHAFAÏ ELALAOUI, A. SBITI, F. ELKERH, L. BELMAHI AND A. SEFIANI

Department of Medical Genetics, National Institute of Health, Rabat, Morocco

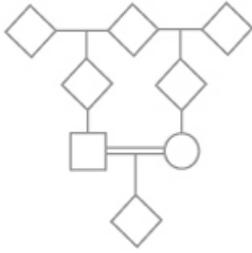
in the Department of Medical Genetics in Rabat on 176 families with autosomal recessive diseases diagnosed and confirmed by clinical, radiological, enzymatic or molecular investigations. The rate of consanguinity was also studied in 852 families who had infants with trisomy 21 confirmed by karyotyping. These families were chosen because: (i) there is no association between trisomy 21 and consanguinity, (ii) these cases are referred from different regions of Morocco and (iii) they concern all social statuses. Among 176 families with autosomal recessive disorders, consanguineous marriages comprised 59.09% of all marriages. The prevalence of consanguinity in Morocco was found to be 15.25% with a mean inbreeding coefficient of 0.0065. The differences in the rates of consanguineous marriages were highly



II-2 : Exemples d'unions consanguines



- I** : Cousins germains **II** : doubles cousins germains **III** : Demi-cousins germains
IV : cousins inégaux **V** : cousins issus de germains



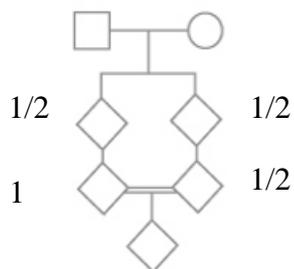
$$F_I = \frac{1}{2}^{2+2+1} = \frac{1}{32}$$

| | |
|--------------------------|---------------|
| Union père fille | $F_I = 1/4$ |
| Union oncle nièce | $F_I = 1/8$ |
| Cousins germains | $F_I = 1/16$ |
| Doubles cousins germains | $F_I = 1/8$ |
| Cousins 2° degré | $F_I = 1/64$ |
| Cousins 3° degré | $F_I = 1/256$ |

II-4 : Le Coefficient de parenté

Le coefficient de parenté (r) peut être défini comme la probabilité pour deux personnes d'avoir un ou plusieurs gènes en commun, provenant d'un même ancêtre.

Le coefficient de parenté r de deux cousins germains est $1/8$



$$r = 1 \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{8}$$

Le coefficient de parenté r entre père et fille = $1/2$

Le coefficient de consanguinité d'une personne est toujours la moitié du coefficient de parenté de ses parents.

II-5 : Les effets de la consanguinité

La consanguinité joue un rôle important dans la manifestation d'affections récessives autosomiques, car elle se traduit par une augmentation de la proportion relative des homozygotes.

Exemples:

Dans la phénylcétonurie, la fréquence des hétérozygotes est : $1/50$

Le risque d'avoir un enfant malade si les parents ne sont pas apparentés est :

$$1/50 \times 1/50 \times 1/4 = 1/10000 \text{ (fréquence de la maladie)}$$

En cas de mariage entre cousins germains le risque est :

$$1/50 \times 1/8 \times 1/4 = 1/1600$$

Si un hétérozygote épouse sa cousine germaine.

$$1 \times 1/8 \times 1/4 = 1/32$$

Si le frère sain d'un malade épouse sa cousine germaine

$$2/3 \times 1/4 \times 1/4 = 1/24$$

II-6 : Consanguinité et conseil génétique

Pour conseiller ou déconseiller un mariage consanguin, il est nécessaire de chiffrer, après enquête génétique, le risque qu'un tel mariage fait courir à la descendance.

Le risque d'avoir un enfant handicapé est 2.3% dans la population générale. Ce risque augmente légèrement à 4 –5 % si les parents sont apparentés.

Le risque d'un mariage consanguin dépend du:

- degré de lien de parenté
- l'existence de maladies héréditaires autosomiques récessives ou multifactorielles dans la famille.

En général, un mariage consanguin est jugé dangereux si : le coefficient de consanguinité dépasse 1/16 avec coexistence de maladies autosomiques récessives.

METHODES D'ANALYSE DES CHROMOSOMES

La cytogénétique est **la science qui étudie les chromosomes** et leurs anomalies. Elle est basée sur l'observation et l'analyse des chromosomes des cellules en mitoses.

I : LE CARYOYPE METAPHASIQUE

1-1 : Définition

C'est l'ensemble des chromosomes classés d'un individu.

Le stock chromosomique est caractéristique de l'espèce. Il est composé d'un ensemble de N chromosomes tous différents qui constitue le lot de base du caryotype ou **lot haploïde**. Chez l'Homme, le stock de chromosomes complet est fait de deux lots haploïdes avec $N = 23$.

1-2 : Principe et technique du caryotype métaphasique

Le caryotype est la représentation obtenue par microphotographie de l'aspect morphologique de l'ensemble des chromosomes d'une cellule en métaphase. Cette technique de microscopie optique permet, à un instant du cycle cellulaire, l'observation du matériel héréditaire humain sans pour autant en analyser le contenu, c'est-à-dire les gènes.

1-2-1 : Obtenir des cellules en division : culture cellulaire

- Lymphocytes sanguins (cellules les plus utilisées) : Le sang total est recueilli stérilement sur héparine et incubé 48 à 72 heures dans un milieu de culture contenant une lectine à fort pouvoir mitogène (Phytohémagglutinine ou PHA)
- Fibroblastes obtenus après biopsies cutanées le plus souvent, la croissance cellulaire demande 1 à 3 semaines.
- Cellules amniotiques.
- Cellules du trophoblaste.
- Cellules de moelle et de tissu tumoral.

1-2-2 : Obtenir des métaphases analysables

- Blocage des divisions cellulaires en métaphase: par blocage de l'appareil fusorial (colchicine).
- Choc hypotonique: la dispersion chromosomique se fait grâce à l'action d'une solution hypotonique.
- Fixation des préparations chromosomiques (mélange méthanol/acide acétique)
- Etalement sur lames.

1-3 : Identifier les chromosomes

La morphologie simple

La coloration au Giemsa aboutit à une coloration homogène des chromosomes, et permet de classer les chromosomes en fonction de leur taille, et de leur indice centromérique.

Les méthodes classiques de marquage

Les méthodes de marquage révèlent le long des chromosomes une alternance des bandes transversales, faiblement colorées, dont la séquence est spécifique de chaque paire chromosomique. Les plus utilisées sont les bandes G obtenues par dénaturation enzymatique et les bandes R par dénaturation thermique. On obtient ainsi 300 à 500 bandes par lot haploïde de chromosomes.

D'autres techniques de marquage sont utilisées : Bandes Q (Quinacrine), Bandes C (centromérique) et Bandes T (télomérique).

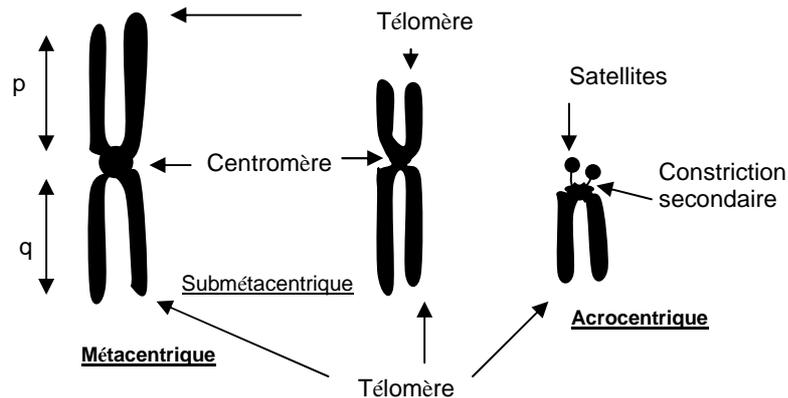
L'analyse fine du caryotype :

L'étude des cellules en prométaphase (fin de prophase ou début de métaphase), permet le passage d'un système de 300 bandes à un système à plus de 1000 bandes par lot haploïde. L'identification chromosomique est alors plus précise.

II : DESCRIPTION DU CARYOTYPE HUMAIN (LE CARYOTYPE NORMAL)

2-1 : Structure du chromosome métaphasique

Chaque chromosome est constitué de deux chromatides sœurs réunies par un centromère (ou constriction primaire) dont la position permet de définir les bras courts (p) et les bras longs (q). Les extrémités distales des chromosomes sont les télomères.



2-2 : Critères de classement des chromosomes :

Les chromosomes humains sont classés en fonction de leur taille et de la position du centromère qui définit l'indice centromérique: $p/(p+q)$.

L'indice centromérique permet de classer les chromosomes en :

Métacentriques ($p \approx q$)

Submétacentriques

Acrocentriques ($p \approx 0$)

Les chromosomes humains sont classés en 7 groupes :

Le groupe A : 1, 2 et 3

Le groupe B : 4 et 5

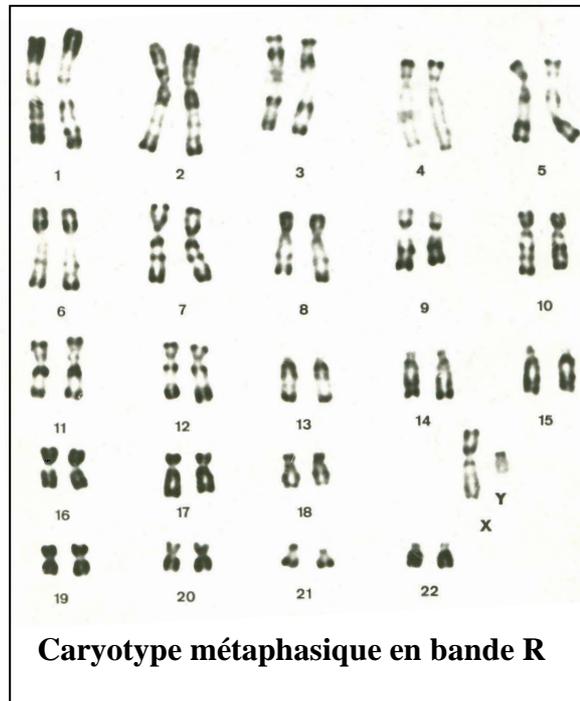
Le groupe C : 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et X

Le groupe D : 13, 14 et 15

Le groupe E : 16, 17 et 18

Le groupe F : 19 et 20

Le groupe G : 21, 22 et Y



2-3 : Nomenclature

Chez l'homme, le caryotype normal comprend 46 chromosomes, il est dit **euploïde** avec 44 autosomes et 2 chromosomes sexuels ou gonosomes.

46,XY Chez l'homme

46,XX Chez la femme

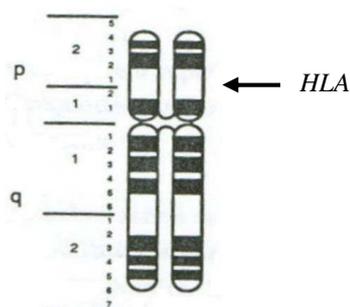
Nombre de chromosomes Virgule Formule sexuelle

2-4 : Apport des techniques de marquage :

Les techniques de marquage ont permis d'identifier avec précision chaque paire chromosomique en fonction de la séquence des bandes claires et sombres.

Chaque bras chromosomique est divisé en régions, chaque région en bandes numérotées du centromère au télomère.

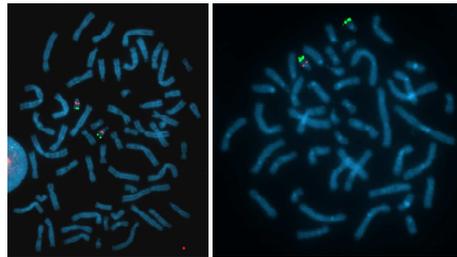
Par exemple: la dénomination 6p21. Le gène *HLA* est localisé en 6p21, c'est-à-dire sur la bande 1 de la région 2 du bras court du chromosome 6.



III : CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE : FISH

L'hybridation in situ en fluorescence (FISH pour « Fluorescent In Situ Hybridization ») est devenue un outil diagnostique de routine dans les laboratoires de cytogénétique pour caractériser de manière ciblée les microremaniements chromosomiques inférieurs à 3 Mpb, non détectables par le caryotype métaphasique. Son principe est de repérer, à l'aide d'une sonde (fragment d'ADN susceptible de réaliser une hybridation ADN-ADN in situ spécifique sur le chromosome), une ou plusieurs séquences d'ADN spécifique. La sonde est marquée par une substance fluorescente et le pouvoir de résolution de la FISH permet une analyse beaucoup plus fine de la structure des chromosomes. Il est à noter que cette cytogénétique dite moléculaire peut s'appliquer également aux noyaux interphasiques pour détecter des anomalies de nombre des chromosomes.

Il existe une **nomenclature internationale** (ISCN, 2009) des anomalies du caryotype et de la FISH.



FISH sur chromosomes métaphasiques à la recherche de la microdélétion 22q11. A gauche : FISH normale (présence de 2 spots rouges de la sonde 22q11.2 et 2 spots témoins verts). A droite : présence de la microdélétion 22q11, le spot rouge n'est visible que sur un seul chromosome 22.

D'autres techniques plus performantes de cytogénétique moléculaire telle que la **CGH** (pour « Comparative Genomic Hybridization ») et la **CGH-array** permettent une analyse encore plus fine des chromosomes à l'échelle moléculaire, et la détection de microremaniements.

IV : LES INDICATIONS DU CARYOTYPE METAPHASIQUE

- En période prénatale

- Antécédents d'anomalies chromosomiques
- Anomalies chromosomiques de structure équilibrée chez l'un des parents
- Age maternel avancé
- Signes d'appel échographiques
- Risque élevé aux tests sériques

- Le nouveau-né et l'enfant

- Ambiguïtés sexuelles
- Polymalformations
- Retard mental
- Dysmorphie (surtout avec retard mental)
- Retard de croissance chez une fille
- Impubérisme
- Maladies cassantes
- Leucémies

- L'adulte

- Aménorrhée
- Anomalies du spermogramme
- Hypogonadisme d'origine basse
- Maladie abortive
- Leucémies
- Bilan d'une procréation médicalement assistée (PMA)

V : ANOMALIES CONSTITUTIONNELLES OU ACQUISES

Dans les anomalies constitutionnelles, les différents organes et cellules de l'individu ont la même anomalie (sauf mosaïcisme). L'accident chromosomique existait déjà chez l'embryon, il s'est produit avant la fécondation dans l'un des gamètes, ou peu après, dans l'une des cellules du zygote.

Dans les anomalies acquises, un seul organe est touché (anomalie clonale), les autres organes sont normaux.

VI : ANOMALIES HOMOGENES OU EN MOSAIQUES

Si toutes les cellules du tissu examiné portent la même anomalie, on parle d'anomalies homogènes. Par exemple une anomalie constitutionnelle survenue chez un gamète parental se retrouvera chez toutes les cellules de l'enfant descendant (ex : trisomie 21 homogène).

La présence de cellules du tissu examiné portant l'anomalie alors que d'autres sont normales (notion de clone) définit le mosaïcisme. Exemple : une anomalie constitutionnelle survenue dans le zygote après quelques divisions cellulaires ne touchera qu'une partie des cellules de l'embryon puis de l'enfant [46,XY/47,XY,+21].

TYPES ET MECANISMES DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES

Les anomalies chromosomiques peuvent être des anomalies de nombre ou des anomalies de structure.

Une anomalie chromosomique peut être :

Homogène: présente dans toutes les cellules d'un individu.

En mosaïque: présente dans une sous population cellulaire. C'est une anomalie post-zygotique :

mos45,X/46,XX

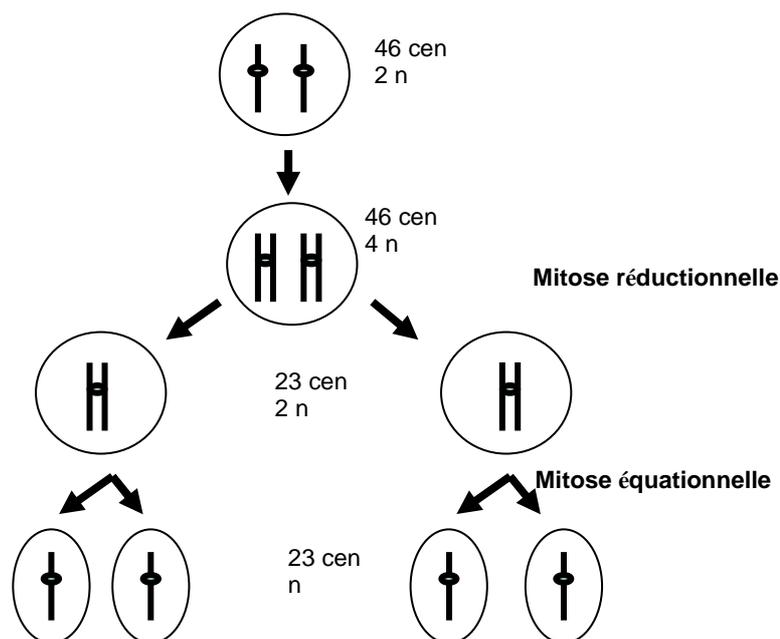
mos45,X/47,XXX/46,XX

I : LES ANOMALIES DE NOMBRE: ANEUPLOÏDIES

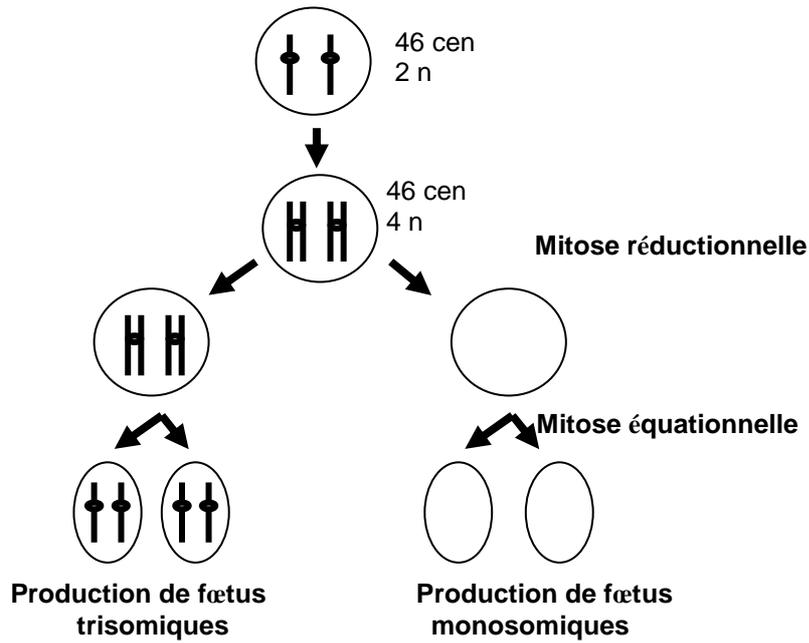
Ce sont des anomalies qui aboutissent à la perte d'un chromosome entier (monosomie) ou à la présence d'un ou de plusieurs chromosomes surnuméraires (Trisomies, tétrasomie, pentasomie).

Ces aberrations résultent d'une **anomalie de la disjonction au cours de la méiose**.

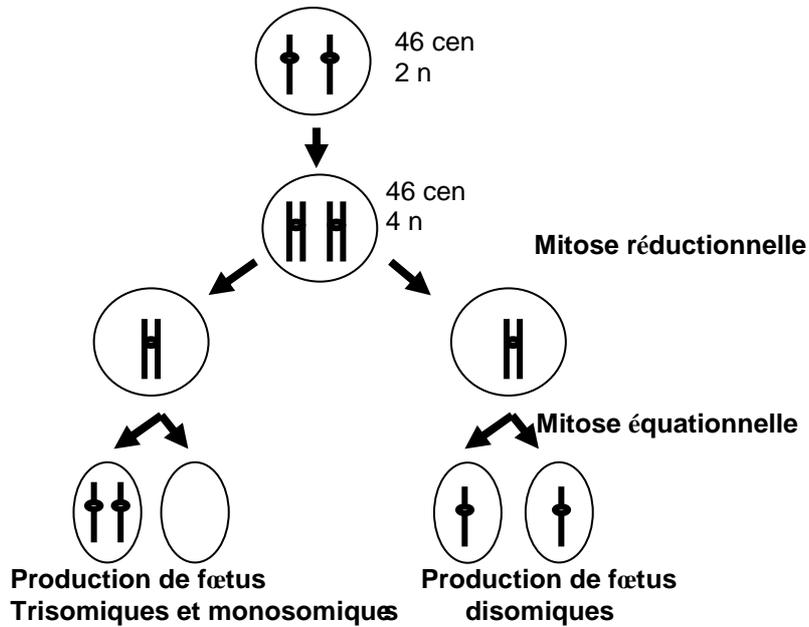
Méiose et migration des chromosomes



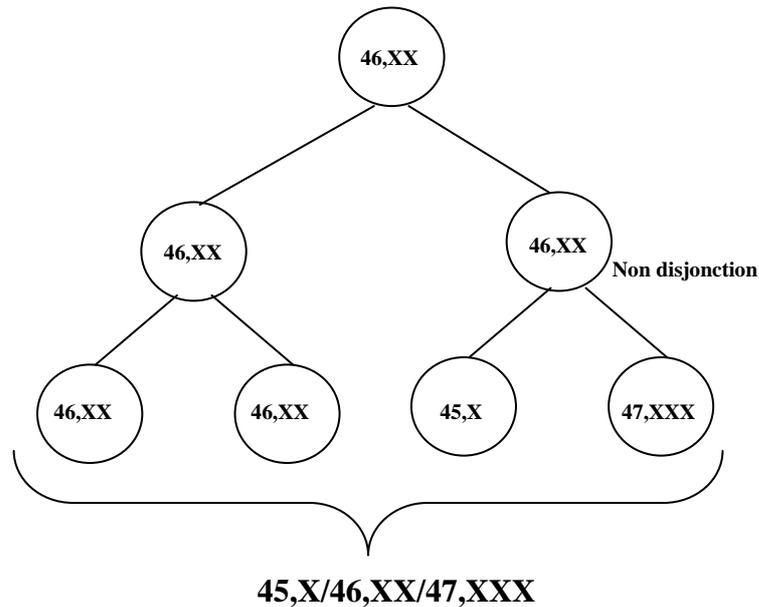
Accident à la 1^{ère} division méiotique



Accident à la 2^{ème} division méiotique



Non-disjonction mitotique (post-zygotique)



I-1 : LES TRISOMIES

Les trisomies des autosomes: les plus fréquentes sont:

| | |
|-----------|-------------|
| 47,XX,+21 | Trisomie 21 |
| 47,XY,+18 | Trisomie 18 |
| 47,XY,+13 | Trisomie 13 |

Les trisomies des gonosomes sont beaucoup plus fréquentes

47,XXX
47,XXY
47,XYY

I-2 : LES TETRASOMIES ET LES PENTASOMIES

Correspondent respectivement à des caryotypes à 48 et 49 chromosomes. Elles ne sont viables que pour les chromosomes sexuels.

I-3 : LES MONOSOMIES

Les monosomies des autosomes sont non viables et provoquent des fausses couches du premier trimestre.

Pour les chromosomes sexuels, seule la monosomie 45,X est viable (syndrome de Turner).

I-4 : LES POLYPLOIDIES

Elles sont dues à des accidents de la fécondation.

La plus fréquente des polyploïdies est la **triploïdie** caractérisée par la présence de 3 lots haploïdes.

69,XXX

69,XYY

69,XXY

Les triploïdies sont rares chez l'enfant vivant, et fréquentes dans les avortements spontanés.

Les triploïdies sont dues à deux mécanismes la **digynie** et la **diandrie**.

La digynie est la fécondation d'un ovule diploïde par un spermatozoïde normal.

La digynie peut être divisée en digynie I et en digynie II selon qu'elle est due à une non-disjonction lors de la première ou de la seconde division méiotique.

La diandrie: comprend deux mécanismes différents:

La **dispermie** ou fécondation d'un ovule normal avec 2 spermatozoïdes haploïdes normaux

La **diplospermie** ou fécondation d'un ovule normal par un spermatozoïde diploïde. La diplospermie est dite I ou II selon que la non-disjonction a lieu à la 1^{ère} ou à la 2^{ème} division méiotique.

69,X^MX^PX^P

diplospermie II

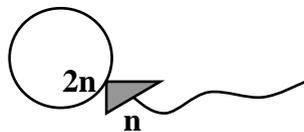
69,X^MYY

diplospermie II

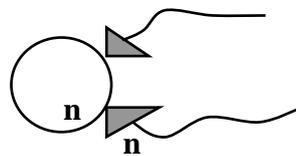
69,X^MX^PY

diplospermie I

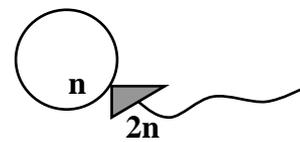
Dygynie I ou II



Diandrie



Dispermie



Diplospermie I ou II

II : LES ANOMALIES DE STRUCTURE

Les anomalies de structure sont la conséquence de cassures chromosomiques suivies ou non de recollements anormaux.

Elles peuvent être **équilibrées** ou **non équilibrées**

Les anomalies de structure équilibrées sont sans conséquences phénotypiques sur le sujet qui les portent, mais elles peuvent entraîner à la méiose des gamètes déséquilibrés et donc des zygotes anormaux.

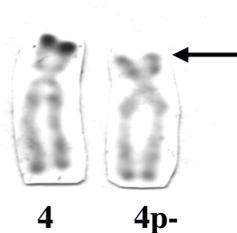
Les anomalies de structure non équilibrées peuvent survenir de novo ou être la conséquence d'un remaniement équilibré chez un parent. Les anomalies non équilibrées engendrent des trisomies ou des monosomies partielles.

Les anomalies de structures peuvent toucher un chromosome, deux chromosomes (homologues ou non) ou plus.

II-1 : ABERRATIONS PORTANT SUR UN CHROMOSOME

II-1-1 : Avec une seule cassure chromosomique

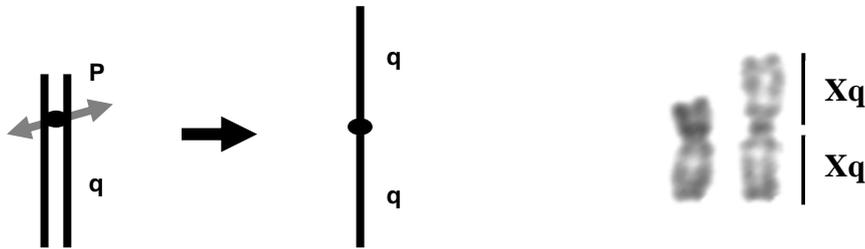
- **La délétion terminale**: une cassure avec perte du segment acentrique entraînant une monosomie partielle.



Caryotype partiel chez un patient **46,XY,del(4p)** ayant une dysmorphie faciale, un syndrome polymalformatif et un retard mental.

- **L'isochromosome**: un chromosome fait de deux bras identiques.

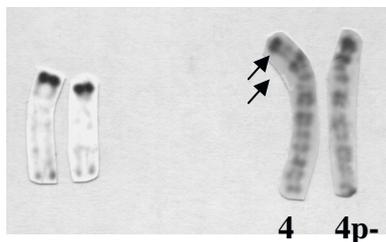
L'isochromosome du bras long du chromosome X : 46,X,i(Xq) est une anomalie fréquente dans le syndrome de Turner.



II-1-2 : Avec deux cassures

La délétion interstitielle

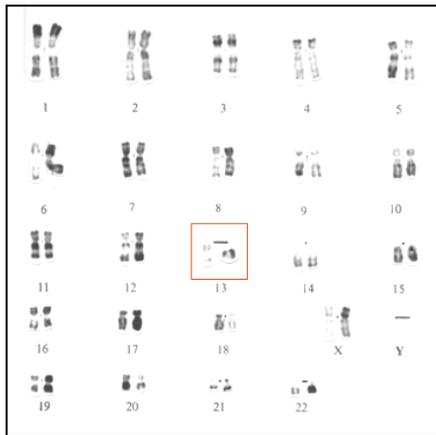
Elle correspond à deux cassures sur un même bras chromosomique avec perte du segment intermédiaire. Elle est à l'origine d'une monosomie partielle.



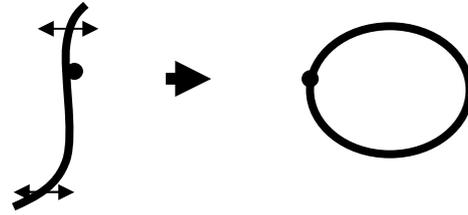
Caryotype partiel chez un patient **46,XY,4p-** avec dysmorphie et retard mental

Le chromosome en anneau

Il correspond à deux cassures sur les deux bras du chromosome avec fusion des deux extrémités du segment centromérique et perte des deux fragments télomériques.



46,XX,r(13)

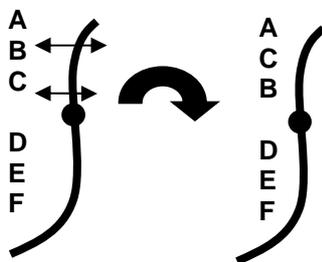


Caryotype avec un chromosome 13 en anneau chez une fille polymalformée.

Les inversions

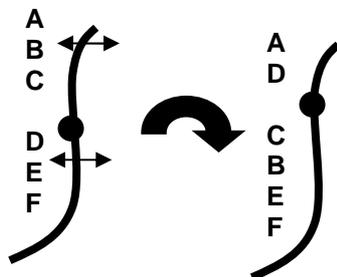
Elles sont dues à deux cassures sur un même chromosome, avec une rotation de 180° du segment intermédiaire.

Elles sont dites **paracentriques** si le centromère n'est pas inclus dans le segment intermédiaire, et **péricentriques** si le centromère est inclus.



Une inversion paracentrique

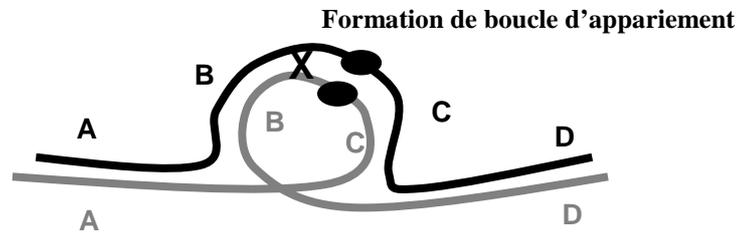
46,XY,inv(1)(p11p21)



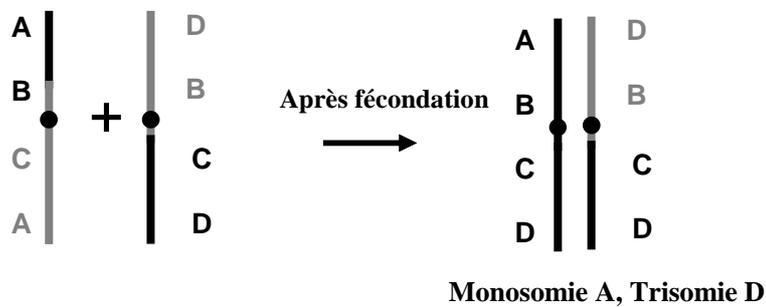
Une inversion péricentrique

Modification de l'indice centromérique
46,XY,inv(1)(p11q31)

L'inversion péricentrique est une anomalie équilibrée sans conséquence phénotypique pour le porteur par contre il y a le risque de produire des gamètes anormaux au cours de la méiose (avortements à répétition, enfants malformés)



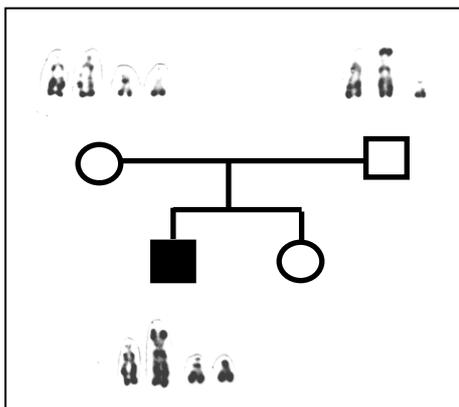
Aneusomie de recombinaison: Gamètes déséquilibrés



II-2 : ABERRATIONS PORTANT SUR DEUX CHROMOSOMES

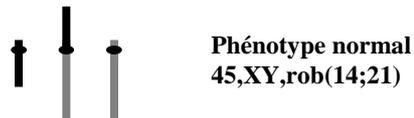
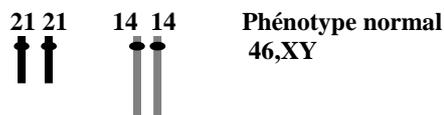
II-2-1 : Les translocations robertsoniennes

Sont dues à des fusions centromériques entre 2 chromosomes acrocentriques.

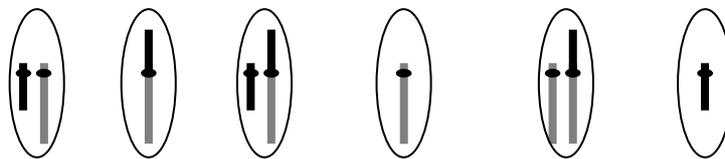


Trisomie 21 par translocation
t(14;21) d'origine paternelle

La personne porteuse de la translocation robertsonienne t(14;21) produit 6 types de gamètes.



Production de 6 types de gamètes



| | | | | | | |
|-------------|---|---|--------|---------|--------|---------|
| Phénotype : | N | N | Tri 21 | FC | FC | FC |
| Caryotype | N | t | t | Mono 21 | Tri 14 | Mono 14 |

Théoriquement un porteur d'une t(14;21) a une probabilité de 33% d'avoir un enfant trisomique 21.

- enfant normal, caryotype normal 1/3
- enfant normal, caryotype avec translocation équilibrée 1/3
- enfant trisomique 21, caryotype avec translocation 1/3

En fait le risque observé est moindre

20% si la mère est porteuse

5% si le père est porteur

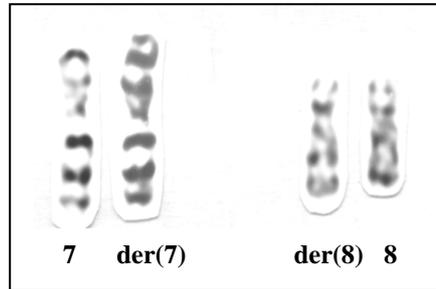
On observe une transmission préférentielle de la translocation : plus d'enfants normaux porteur de la translocation que d'enfants avec un caryotype normal.

Les translocations robertsoniennes sont responsables de la **majorité des formes familiales** de trisomies 21.

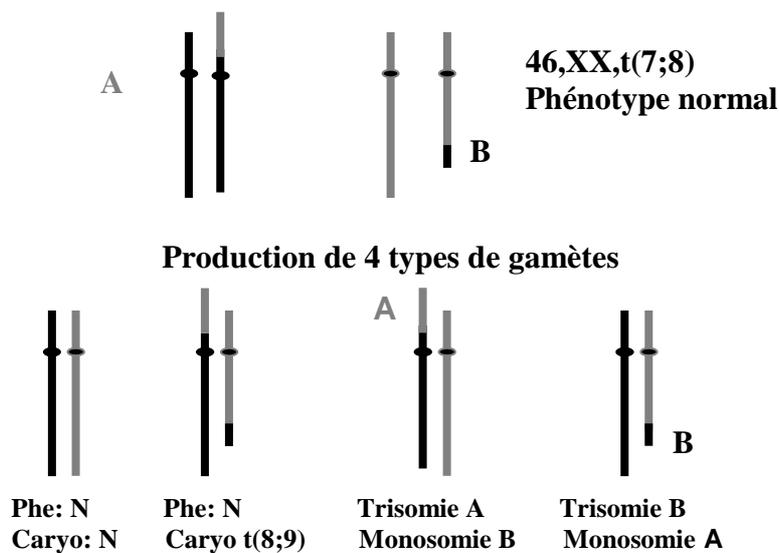
Un sujet porteur de la t(21;21) ne pourra former que des gamètes déséquilibrés, et n'aura que des enfants trisomiques 21 ou des fausses couches.

II-2-2 : Les translocations réciproques:

Ces translocations sont dues à des échanges de segments chromosomiques entre deux chromosomes.



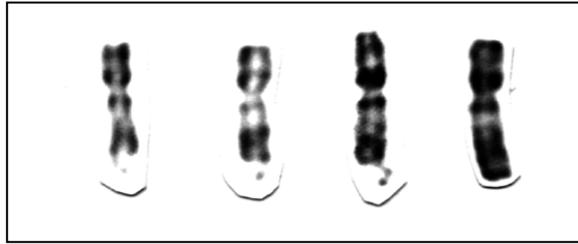
Translocation entre le chromosome 7 et le chromosome 8 chez un couple marocain avec fausses couches à répétition



II-3 : LA FRAGILITE CHROMOSOMIQUE

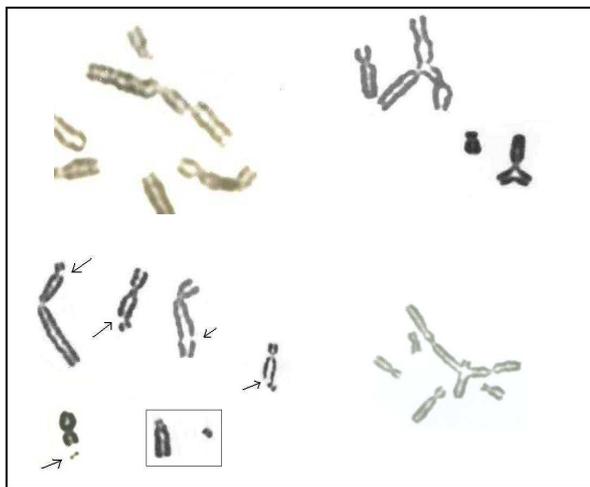
On appelle site fragile, un site prédisposé à faire des cassures chromosomiques.

On les observe sur des chromosomes non colorés sous forme de lacunes touchant un ou les deux chromatides.



La fragilité du chromosome X en q27.3 : 46,XY, fra(X)(q27.3) est une cause de déficience mentale héréditaire chez le garçon.

II-4 : LES INSTABILITES CHROMOSOMIQUES



Maladie de Fanconi, Ataxie télangiectasie et syndrome de Bloom

III : FREQUENCE DE LA PATHOLOGIE CHROMOSOMIQUE

Les données dont on dispose pour apprécier la fréquence des anomalies chromosomiques constitutionnelles sont majoritairement antérieures au développement des techniques cytogénétiques, et sous-évaluent de ce fait la fréquence des anomalies de structure. L'existence d'une forte **sélection** des embryons génétiquement déséquilibrés rend cette estimation encore plus difficile. Cette sélection porte essentiellement sur les anomalies des autosomes, à l'exception de la monosomie X.

15% des conceptions finissent par un avortement spontané dont la moitié est due à des anomalies chromosomiques.

6‰ des naissances sont porteuses d'anomalies chromosomiques.

2‰ aberrations des chromosomes sexuels

1.4‰ trisomies 21 et autres autosomes

0.6‰ remaniements de structure non équilibrés

2‰ remaniements équilibrés

IV: SYMPTOMES FREQUENTS DANS LES PATHOLOGIES CHROMOSOMIQUES

Etat général

- Retard de croissance intra-utérin (RCIU)
- Déficit moteur
- Retard mental généralement sévère

Face et crâne

- Microcéphalie
- Ossification incomplète
- Micrognathie
- Anomalie de position des yeux:
 - Hypertélorisme
 - Hypotélorisme
 - Anomalies d'orientation des fentes
- Implantation basse et déformation des oreilles.

Anomalies des mains et des pieds

- Polydactylies
- Anomalies des longueurs des doigts
 - Brachydactylies
 - Arachnodactylies
 - Syndactylies
 - Anomalies des dermatoglyphes

Malformations internes

- Anomalies congénitales du cœur et des gros vaisseaux
- Malformations cérébrales
- Malformations du système génito-urinaire

Plus rarement

- Retard mental isolé
- Syndrome malformatif avec capacités mentales normales
- Malformation isolée

LA TRISOMIE 21

La trisomie 21 constitue la maladie chromosomique viable la plus fréquente. Elle associe, comme toutes les autres maladies chromosomiques autosomiques, une dysmorphie, un retard psychomoteur et dans 1/3 des cas des malformations associées.

En 1846, première description clinique sous le nom «d'idiotie furfuracée» par SEGUIN. En 1866, DOWN la re-décrit sous le terme d'«idiotie mongolienne». En 1959, LEJEUNE associe le tableau de trisomie à la présence d'un chromosome 21 surnuméraire.

I : EPIDEMIOLOGIE ET FACTEURS DE RISQUE

Fréquence

Un enfant trisomique naît pour 700 naissances vivantes (1.3 ‰). Cette fréquence est retrouvée dans toutes les populations, les groupes ethniques ou socio-économiques considérés.

La fréquence de la trisomie 21 à la conception est de 7.3 ‰ dont seul 1.3 ‰ arrivent à terme et 6‰ sont à l'origine de fausses couches spontanés.

Le sex ratio est de 3 garçons / 2 filles.

L'âge maternel avancé

C'est le seul facteur actuellement bien reconnu comme facteur de risque dans l'étiologie de l'affection.

L'âge maternel moyen de mères marocaines de trisomiques 21 est de 34.4 ans (28.2 ans dans la population de mères d'enfants non trisomiques).

Cytogenetic and epidemiological profiles of Down syndrome in a Moroccan population: a report of 852 cases

Jaouad I C, Cherkaoui Deqaqi S, Sbiti A, Natiq A, Elkerch F, Sefiani A

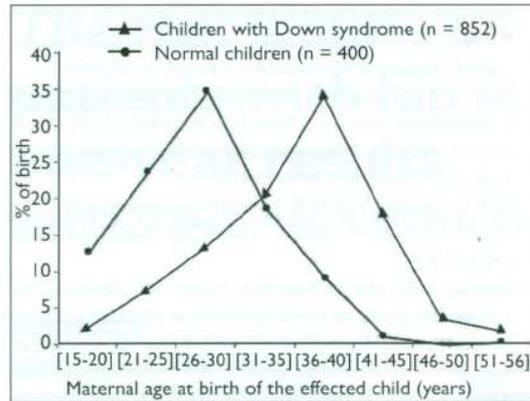


Fig. 3 Prevalence of normal and trisomic newborns according to maternal age at term (current study).

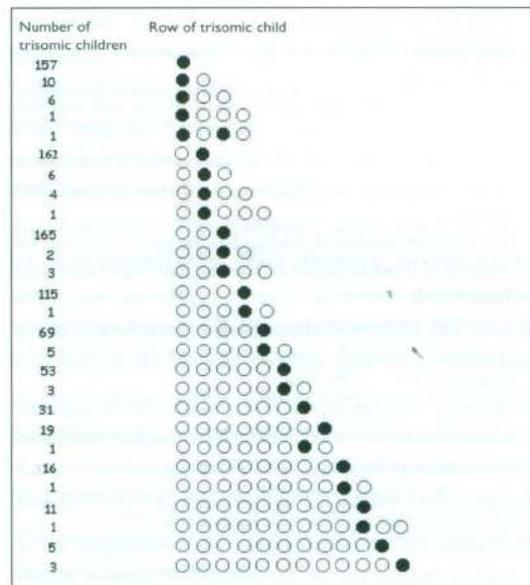


Fig. 4 Row of birth of trisomic child (n = 852).

La répartition des trisomiques 21 en fonction de l'âge maternel suit une courbe bimodale, le 1^{er} pic correspond au maximum de natalité, le second pic est lié à l'âge maternel.

Le risque d'avoir un enfant trisomique croît peu jusqu'à 30 ans puis de façon exponentielle jusqu'à 50 ans.

Table II. Frequency of trisomy 21 at delivery according to maternal age.⁽¹⁹⁾

| Maternal age | Risk of trisomy 21 |
|--------------|--------------------|
| 20 years | 1/1480 |
| 25 years | 1/1350 |
| 30 years | 1/940 |
| 35 years | 1/353 |
| 40 years | 1/85 |
| 45 years | 1/30 |

Deux explications ont été proposées pour expliquer l'effet de l'âge maternel.

- Le vieillissement de l'œuf du par exemple à un espacement des rapport sexuels (German, 1968).
- La théorie immunologique

L'âge paternel avancé ne semble pas jouer un rôle dans la survenue de la trisomie 21.

La mosaïque parentale : $mos47,XX,+21/46,XX$ et $mos,47XY,+21/46,XY$ avec un faible pourcentage de cellules trisomiques. Le phénotype du parent est normal mais il peut être à l'origine d'enfants trisomiques.

Aucun autre facteur (radiations ionisantes, histoire gynécologique particulière, contraception hormonale, consanguinité) n'est clairement incriminé dans la survenue de la trisomie 21.

II : CLINIQUE

L'ensemble des signes est très évocateur du diagnostic sans qu'aucun n'en soit pathognomonique.

Le diagnostic clinique est souvent facile, mais il peut ne pas être évident chez le nouveau né.

II-1 : Le syndrome dysmorphique associe à divers degrés:

Un visage évocateur :

Microcéphalie fréquente, cou court, nuque plate,

Faciès lunaire,

Aspect des narines en "prise de courant",

Hypertélorisme ou pseudo hypertélorisme,

Épicanthus (régresse avec l'âge),

Fentes palpébrales en haut et en dehors,

Taches de Brushfield dans l'iris (pathognomoniques, visibles sur yeux bleus).

Macroglossie, glossite exfoliative, langue scrotale (chez l'adolescent et l'adulte),

Bouche souvent ouverte,

Palais ogival étroit,

Retard de dentition (anomalies de nombre, agénésie des incisives latérales...)

Des mains et pieds:

Courts et trapus,

Brachymésophalangie du 2e et du 5e doigts,

Clinodactylie du 5^e,

Voûte plantaire effondrée,

Orteils séparés des autres par un sillon.

Une peau sèche, marbrée (livedo), infectée au pourtour des orifices.

Une hyperlaxité ligamentaire.

Un diastasis des muscles droits; hernie ombilicale fréquente.

II-2 : Le retard psychomoteur est constant

Une hypotonie dès la naissance (tenue de tête à 6 mois, tenue assise à 1 an, marche à 2 ans).

Le retard mental, peu net chez le nourrisson, s'établit rapidement. Il est profond et définitif avec des variations selon les individus. L'arriération mentale varie aussi avec l'âge, le quotient intellectuel ($QI = \frac{\text{Age mental}}{\text{Age réel}}$) est en moyenne de 50% à 5 ans puis diminue progressivement.

Les enfants trisomiques sont affectueux, doux, joyeux, avec des difficultés de langage. Ils aiment jouer, mimer, ranger des objets. Ce sont des enfants minutieux qui gardent une mémoire normale.

Épilepsie possible (chez 3% à 9%, contre 1% dans la population générale).

II-3 : Les dermatoglyphes:

- Pli palmaire transverse unique (PPTU) dans 75 % des cas (contre 1 % de la population non trisomique)
- Le triradius axial en t" (75 % des cas).
- L'indice de transversalité > 30.

II-4 : Les malformations

Le diagnostic de trisomie 21 impose la recherche de malformations (présentes dans 45% des cas) qui peuvent aggraver le pronostic vital et nécessiter une thérapeutique urgente.

Cardiaques (40%): canal atrio-ventriculaire (CAV), communication inter ventriculaire (CIV), communication inter auriculaire (CIA), persistance du canal artériel (CA)

Digestives (10%) : sténose duodénale (1/3 des sténoses duodénales se trouvent chez les trisomiques 21), imperforation anale...

Oculaires: cataracte (congénitale ou acquise), astigmatisme, myopie, strabisme, glaucome congénital, nystagmus.

II-5 : Autres anomalies

Hématologiques: Leucoblastoses transitoires pouvant se compliquer en leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) ou non lymphoblastiques (LANL) plus souvent. Les leucémies mégacaryocytaires (LANL M7) sont particulièrement fréquentes

Immunologiques: hyporéactivité à la tuberculine, déficit immunitaire

Métaboliques: hyperuricémie, glycémie perturbée, TSH souvent augmentée, hypo ou hyperthyroïdie.

III : LE CARYOTYPE

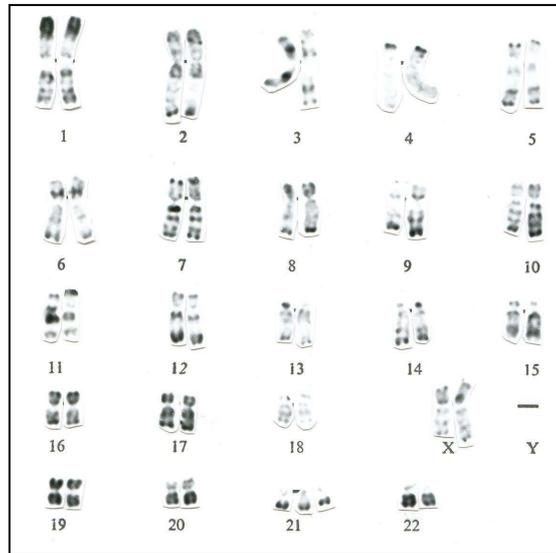
L'étude cytogénétique permet de confirmer un diagnostic évident cliniquement.

Le caryotype est surtout essentiel pour prodiguer un conseil génétique.

La trisomie 21 peut être due à trois types cytogénétiques principaux de trisomie 21.

La trisomie 21 libre

- Le plus souvent homogène (92.5% des trisomies 21)



La non disjonction dans un caryotype : 47,XX,+21 ou 47,XY,+21 peut être à :

| | |
|-----------------------------------|-----|
| La première division maternelle : | 70% |
| La deuxième division maternelle : | 20% |
| La première division paternelle : | 5% |
| La deuxième division paternelle : | 5% |

C'est fréquemment des cas sporadiques par accident (rôle de l'âge maternel)

Le caryotype des parents n'est pas nécessaire

- Elle peut être en mosaïque (2.7% des trisomies 21)

C'est un accident post zygotique (mitotique) sous-estimé car on ne détecte que ceux avec un phénotype de trisomie 21.

C'est une mosaïque $mos47,XX,+21/46,XX$ et $mos47XY,+21/46,XY$

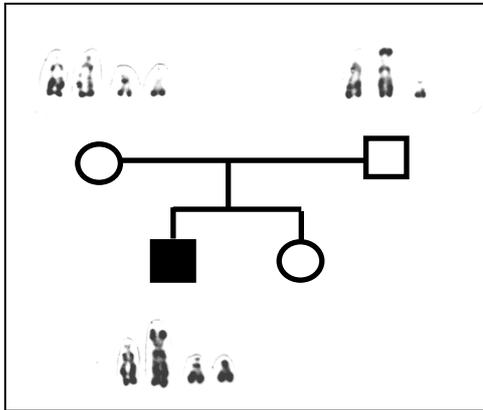
Le plus souvent exprimée par un phénotype typique, mais peut aussi donner un syndrome atténué.

Le caryotype des parents n'est pas nécessaire.

La trisomie 21 par translocations (4.8% des trisomie 21)

Les plus fréquentes sont les translocations d'un chromosome du groupe D avec le chromosome 21

Le plus souvent surviennent de novo (70%)



Trisomie 21 par translocation
t(14;21) d'origine paternelle

Les trisomies 21 partielles

Elles ne sont pas visibles sur caryotype métaphasique. Les trisomies 21 partielles sont souvent secondaires à des remaniements équilibrés chez les parents. Elles ont permis de localiser le phénotype de la trisomie 21 au niveau 21q22.1.

IV : L'EVOLUTION

Retard statural (adulte \approx 1,50 m), excès pondéral (régime alimentaire), la voix devient rauque.

La puberté est retardée mais normale, la libido faible.

La reproduction : on ne connaît pas de cas de paternité; une vingtaine de cas de maternité sont rapportées avec un risque de 50 % trisomie 21 dans la descendance et 50 % d'enfants normaux (contraceptifs).

Hypothyroïdie, Basedow (doser T3, T4, TSH régulièrement).

Développement mental: le $QI \approx 50$ (en moyenne); entre 30 et 80 selon les sujets, variations avec l'âge.

L'insertion sociale est fonction de l'environnement familial et de la prise en charge médico-pédagogique de l'enfant.

La rééducation psychomotrice est utile dès 6 mois, kinésithérapie, orthophonie, école maternelle et classe intégrée si possible.

Vieillesse précoce: Le comportement peut passer brusquement de l'enfant gai et sociable à l'adulte triste, inactif, inexpressif ; risque de démence sénile (maladie d'Alzheimer).

V : LE PRONOSTIC

L'espérance de vie, faible auparavant, a été considérablement améliorée par l'utilisation de l'antibiothérapie et de la chirurgie.

Le pronostic peut être aggravé par:

- l'extrême sensibilité aux infections des trisomiques 21.
- les malformations, en particulier cardiaques.
- l'apparition d'une leucémie aigüe (chez 1 % des enfants trisomiques 21, soit 20 fois plus que dans la population générale).

- pronostic intellectuel: (voir évolution).

VI : LA PRISE EN CHARGE

Chirurgicale en cas de malformations.

Antibiothérapie des épisodes infectieux, traitement antifongique du pied d'athlète.

Prise en charge médico-pédagogique, rééducation psychomotrice, kinésithérapie, orthophonie.

Surveillance de la fonction thyroïdienne (dosages une fois par an).

Surveillance ophtalmologique (attention à la sensibilité à l'atropine), auditive.

Radiographie cervicale (instabilité cervicale avec risque de luxation).

Statique plantaire (chaussures)

Dos plat (natation).

Cicatrices chéloïdes (n'opérer que si nécessaire; éviter la chirurgie esthétique).

Développer et encourager la créativité artistique.

VII : CONSEIL GENETIQUE ET CONDUITE A TENIR DEVANT UN COUPLE AYANT UN ENFANT TRISOMIQUE 21

Pour conseiller les parents d'un trisomique 21, il faut obligatoirement avoir le résultat de l'examen cytogénétique: le caryotype du trisomique 21 et si nécessaire celui des parents.

La Trisomie 21 libre

C'est un accident, le risque de récurrence est de 1 à 2% en fonction de l'âge de la mère. Un diagnostic prénatal est proposé tout fois pour rassurer le couple.

Trisomie 21 par translocation de novo

C'est un accident, le risque de récurrence est de 1 à 2% en fonction de l'âge de la mère. Un diagnostic prénatal est proposé toutefois pour rassurer le couple.

Trisomie 21 par translocation secondaire à une translocation équilibrée chez un parent

Si la mère est porteuse de la translocation: 20% de risque

Si le père est porteur de la translocation: 5 % de risque

Proposer un diagnostic prénatal +++

En cas de t(21;21) chez un parent le risque de trisomie 21 est de 100% L'adoption est la seule proposition possible. L'insémination artificielle avec un donneur est interdite par l'islam.

VIII : LE DIAGNOSTIC PRENATAL DE LA TRISOMIE 21

INDICATIONS

Age maternel avancé

Antécédent d'enfant trisomique

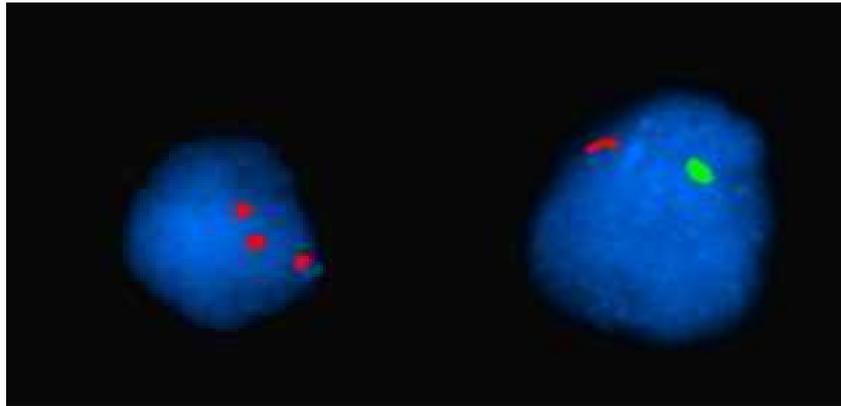
Translocation robertsonienne équilibrée chez un parent

Signes d'appel échographiques: **La clarté nucale** correspond à l'épaisseur de la nuque. Une mesure supérieure à 3 mm est considérée comme suspecte à la 12^{ème} semaine d'aménorrhée. Ce dépistage est fiable dans environ 80 % des cas de trisomie 21 et peut mettre sur la piste d'autres pathologies fœtales.

Les marqueurs sériques : Ce sont des protéines normales en circulation chez la mère et dont la mesure permet de dépister un risque accru de trisomie 21 au début de la grossesse. Un ensemble de trois marqueurs, désigné sous le nom de **triple test**, comprend la gonadotrophine chorionique humaine (hCG), l'oestriol (uE3) et l'alpha-foetoprotéine (AFP). La mesure de ces trois protéines, en fonction du nombre de semaines de gestation, peut donner un risque approximatif, que le fœtus ait une trisomie 21. La fiabilité de ce test est de

l'ordre de 60 % ou plus selon les critères d'évaluation et le taux de faux positifs retenu. L'efficacité du dépistage est augmentée si les deux approches, échographie fœtale et marqueurs sériques, sont complétés simultanément.

Il existe un test plus précoce associant la clarté nucale et les taux des marqueurs sériques maternels : PAPP-P et hCG, qui permet de proposer une amniocentèse au cours du 1^{er} trimestre.



Diagnostic anténatal d'une trisomie 21 par FISH sur amniocytes, chez un fœtus de sexe masculin (à gauche: 3 spots rouges correspondant aux 3 chromosomes 21 ; à droite: un spot rouge correspondant au chromosome X et un spot vert correspondant au chromosome Y).

LA TRISOMIE 13

Le syndrome majeur est dû à une trisomie 13 complète. Il existe aussi des trisomies 13 partielles.

1ère description : 1960 par Patau et coll.

Fréquence : 1/ 4 000 à 1/ 10 000

I : CLINIQUE

Dysmorphie cranio-faciale :

Petit crâne, front fuyant, parfois tempes rétractées.

Fentes palpébrales horizontales, avec microphthalmie bilatérale.

« Gueule-de-loup »: bec de lièvre, fente palatine.

Thorax et membres :

Dernières côtes amincies ou absentes.

Hexadactylie uni- ou bilatérale, doigts chevauchés.

Pied en piolet

Malformations :

Les plus constantes sont oculaires et cérébrales (arhinencephalie), cardiaques (80%), urinaires (30 – 50 %), digestives.

Retard mental : semble profond. Crises convulsives, hypotonie.

Evolution : moyenne de survie de 4 mois.

II : CYTOGENETIQUE

- Trisomie libre : 47,XY (ou XX), + 13 dans 80 % des cas
- Une mosaïque : mos47 XX,+ 13/46,XX et mos47 XY,+ 13/46,XY
- Une translocation : t(13q,Dq), le plus souvent t(13q,14q), survenant de novo, ou bien transmise par les parents.

III : CONSEIL GENETIQUE

- Rassurant en cas de trisomie libre ou de mosaïque.

- Si une translocation est retrouvée, il faut réaliser le caryotype des parents :

Soit leur caryotype est normal : il s'agit alors d'une translocation de novo et donc le conseil génétique est rassurant.

Soit la translocation est retrouvée chez l'un des parents, il faut alors réaliser un diagnostic prénatal par caryotype sur cellules amniotiques ou villosités chorales pour les grossesses ultérieures. En cas d'une t(13q,13q) : il y a un risque de récurrence ou d'avortement de 100%.

LA TRISOMIE 18

1ère description : 1960 par Edwards et coll.

Fréquence : 1/ 8 000 naissances

I : CLINIQUE

Prématurité dans presque tout les cas, activité fœtale faible, hydramnios, petit placenta, artère ombilicale unique sont fréquents.

Nourrisson hypotrophique avec une hypoplasie des muscles squelettiques et du tissu adipeux sous-cutané.

Dysmorphie cranio-faciale :

Un crâne petit avec saillie de l'occiput, dolichocephalie , des oreilles bas implantées pointues «faunesques», microstomie avec palais ogival, micrognathisme, racine du nez fine.

Les anomalies ophtalmologiques les plus courantes associent un épicanthus, un hypertélorisme, et une hypoplasie des arcades supra orbitaires

Thorax et membres : Le cou est court avec un excès de peau. Thorax et bassin étroits, sternum court, déformations des mains avec une atteinte particulière des 2ème et 5ème doigts, **chevauchement des doigts**, déformations des pieds en piolet, syndactylies fréquentes.

Malformations : cardiaques, reins en fer à cheval avec anomalie du bassinet, sténose du pylore, déhiscence diaphragmatique, diverticule de Meckel

Evolution : Le pronostic vital est très mauvais puisque la majorité des enfants atteints décèdent avant l'âge de un an

II : CYTOGENETIQUE

80 % trisomie 18 libre et homogène

10% mosaïques

10% translocation transmise ou de novo entraînant une trisomie 18 plus ou moins complète

III : CONSEIL GENETIQUE

- Rassurant en cas de trisomie libre ou en mosaïque

- Si une translocation est retrouvée, il faut réaliser le caryotype des parents :

Soit leur caryotype est normal : il s'agit alors d'une translocation de novo et donc le conseil génétique est rassurant.

Soit la translocation est retrouvée chez l'un des parents, il faut alors réaliser un diagnostic prénatal.

LA MONOSOMIE 4p⁻ :

Syndrome de WOLF-HIRSCHHORN

1^{ère} description : 1965 par Wolf et coll.

Sex ratio: 1M / 2F

I : CLINIQUE

Hypotrophie sévère (dès la naissance, et s'accroît avec l'âge)

Dysmorphie cranio-faciale :

- Microcéphalie, avec saillie des bosses frontales; rides du front lorsque l'enfant pleure. Hypertélorisme.
- Casque de « guerrier grec » : bords du nez rectilignes, prolongeant la ligne des sourcils, avec pointe du nez carrée, de la même longueur que la racine, petit menton en retrait.

Malformations : dues à des « défauts de fermeture » : les plus constantes sont le bec de lièvre, fente palatine, spina bifida.

Malformations viscérales : cardiaques (50 %).

Encéphalopathie profonde. Le retard mental est très prononcé $QI < 20$.

Evolution : La durée de vie peut aller jusqu'à 20 ans, conditionnée par la sévérité des malformations.

II : CYTOGENETIQUE

- 90 % : délétion de novo surtout au niveau de la bande 4p16 (caryotype des parents normal)
- 10 % : translocation.
- Cas particulier : chromosomes 4 en anneau
- Microdélétions du chromosome 4p (diagnostic par FISH).

III : CONSEIL GENETIQUE

- Un caryotype des parents est nécessaire, pour détecter une éventuelle anomalie chromosomique de structure à l'origine du syndrome de Wolf de l'enfant.
- Si une translocation est retrouvée chez les parents, un diagnostic prénatal est indiqué pour les grossesses ultérieures, sinon le conseil génétique est rassurant.

LA MONOSOMIE 5p- **Le Syndrome du cri du chat**

Le syndrome du cri du chat a été associé à une monosomie 5p-, la première fois en 1963 par LEJEUNE.

L'incidence de la maladie est de 1/20000 à 1/50000. La prévalence chez les retardés mentaux (QI < 50) est de l'ordre 1/350.

I : CLINIQUE

RCIU

Hypotonie constante.

Retard psychomoteur, retard mental profond avec l'âge, troubles de la coordination du langage.

Cri caractéristique ressemblant à un miaulement.

Dysmorphie :

Chez le nourrisson : microcéphalie, visage lunaire, hypertélorisme, épicanthus, strabisme, micrognathie, parfois saillie de la suture métopique.

Avec l'âge, la dysmorphie se modifie, elle devient plus atténuée, la microcéphalie persiste mais le visage s'allonge.

Malformations : cardiopathies, anomalies cérébrales, anomalies oculaires, malformations rénales et abdominales, malformations squelettiques.

Evolution : la létalité est faible, à l'âge adulte ils demeurent hypotrophiques et de taille inférieure à la normale.

Diagnostic différentiel : syndrome d'Angelman.

II : CYTOGENETIQUE

- Le caryotype métaphasique confirme le diagnostic. La taille de la délétion est variable allant de la totalité du 5p à une délétion limitée à la région 5p15.2-15.3. L'anneau du chromosome 5 et les translocations non équilibrées de novo sont rares.

- Cytogénétique moléculaire : des microdélétions ont été décrites par FISH et/ou prométaphase.

III : CONSEIL GENETIQUE

- Le caryotype des parents est nécessaire. Le conseil est rassurant si le caryotype des parents est normal. En cas de translocation parentale, le diagnostic anténatal est possible par l'étude du caryotype fœtal.

LE SYNDROME DE TURNER

Le syndrome de Turner est secondaire à un déséquilibre chromosomique: monosomie X et variantes. Il associe un retard de croissance avec impubérisme, des malformations cardiaques et/ou rénales fréquentes et une intelligence normale.

Le syndrome de Turner survient chez 1 sur 2 500 nouveaux-nés de sexe féminin.

La monosomie X est une cause fréquente de fausses couches du premier trimestre. La monosomie X représente environ 10% de toutes les fausses couches précoces.

I : CLINIQUE:

Le diagnostic de Turner peut être évoqué en période néo-natale (dysmorphie, malformation) ou chez la jeune fille (retard de croissance, impubérisme).

I-1 : La forme néo-natale:

Retard de croissance intra utérin.

Fréquence de l'artère ombilicale unique.

Syndrome de Bonnevie–Ullrich associant un lymphoedème du dos des mains et/ou des pieds (dur, non inflammatoire, régresse en 2 ans), excès de peau sur la nuque (pterygium colli).

I-2 : Dans l'enfance et l'adolescence:

Petite taille (l'adulte ne dépassera pas 1,50 m).

Visage triangulaire, hypertélorisme, ptosis, épicanthus possible, fentes palpébrales en bas et en dehors, cou court, pterygium colli (plus de 50 % des cas), cheveux implantés bas sur la nuque, palais ogival, micrognatisme, oreilles bas implantées.

Thorax en bouclier, mamelons trop écartés.

Brachymétopie du 4e doigt, cubitus valgus, affaissement du plateau tibial interne (signe de Kosowicz), ostéoporose intense (et risque accru de fractures) après 45 ans.

Naevi constants, vitiligo et/ou taches café au lait, tendance aux cicatrices chéloïdes (n'opérer que si nécessaire; éviter la chirurgie esthétique), ongles hypoplasiques

Organes génitaux externes de type infantile, utérus hypoplasique, aménorrhée primaire et stérilité, absence de développement mammaire, pilosité pubienne réduite.

Intelligence normale ou subnormale

Les malformations:

- cardiaques (20-30%): dont coarctation de l'aorte (10-15 %), toute coarctation de l'aorte chez une fille doit faire évoquer un syndrome de Turner.
- rénales (40-50 %): rein en fer à cheval, hydronéphrose
- luxation congénitale de la hanche, scoliose.

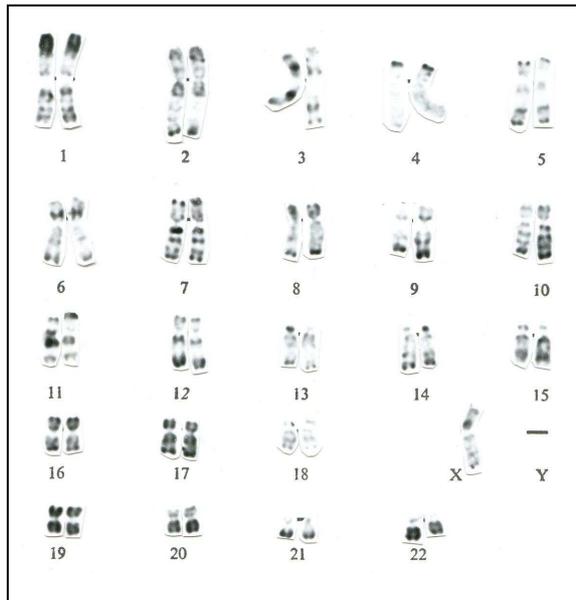
Déficits sensoriels : surdité (40%).

Anomalies oculaires : myopie, cataracte, strabisme

Manifestation possible de **maladies récessives liées à l' X**. Toute maladie récessive liée au sexe chez une fille doit faire pratiquer un caryotype.

II : LE DIAGNOSTIC CYTOGENETIQUE:

La monosomie 45, X homogène est responsable de 55 % des cas de Turner, par perte du chromosome X maternel dans 20-30% des cas, ou perte du gonosome paternel (un X ou un Y) dans les 70-80% des cas.



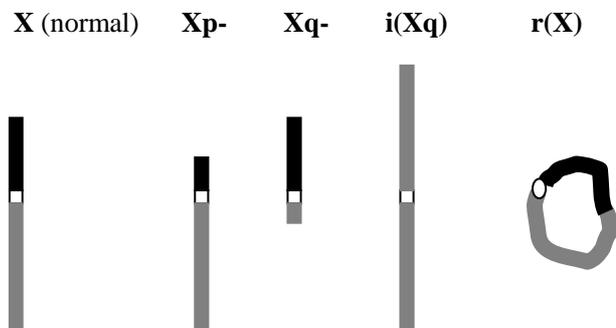
Caryotype 45,X en bandes R

Les anomalies de structure du chromosome X

L'isochromosome i(Xq)

Les délétions del(Xp) et del(Xq)

L'anneau du chromosome X: r(x)



C'est la délétion du bras court du chromosome X qui est responsable de la majeure partie du syndrome, sauf la déficience ovarienne qui est plutôt causée par la perte du bras long.

Les mosaïques, sont à l'origine de phénotypes Turnériens plus ou moins typiques, parfois féconds avec aménorrhées secondaires. Lorsqu'elle est soupçonnée, la présence de matériel génétique provenant du chromosome Y doit être recherché par PCR, FISH ou par coloration à la Quinacrine.

ASPECTS CYTOGENETIQUES DU SYNDROME DE TURNER A propos de 66 cas

N. ABOUSSAIR, S. CHERKAOUI, A. NATIQ, S. HAJJI, A.A. SEFIANI

Tableau I : Nombre et fréquence des différentes anomalies cytogénétiques retrouvées chez nos patientes

| Formule chromosomique | Age moyen (ans) | Nb | % |
|--------------------------------|-----------------|-----------|------------|
| Monosomie homogène | | | |
| 45,X | 15.88 | 30 | 45,45 |
| Monosomie X en mosaïque | | | |
| 46,XX/45,X | 9.7 | 5 | 7,57 |
| 47,XXX/45,X | 14 | 2 | 3,03 |
| 47XXX/46,XX/45,X | 12 | 1 | 1.51 |
| Isochromosome | | | |
| 46,X,i(Xq) | 11.31 | 9 | 16,57 |
| 46,X,i(Xq)/45,X | 16.5 | 11 | 13,63 |
| Délétion de l'X | | | |
| Délétion 46,XX p- | 14 | 1 | 1,51 |
| Délétion 46,XX q- | 16 | 1 | 1,51 |
| Chromosome X en anneau | | | |
| 46,X,r(X)/45,X | 9 | 2 | 3,03 |
| Chromosome Y | | | |
| 46,XY/45,X | 8 | 4 | 6.06 |
| Total | 12.64 | 66 | 100 |

III : LE BILAN BILOGIQUE ET RADIOLOGIQUE

Déficiência ovarienne (déficit en stéroïdes sexuels, aménorrhée). Gonades réduites à des bandelettes fibreuses (régression des cellules germinales au 3e mois intra utérin; biopsie non indispensable).

Tendance à l'hyperglycémie; HTA (20-30%).

Fréquence des pathologies auto-immunes (thyroïde: surveiller T4, TSH, anticorps).

Radiographies et échographies (squelette, appareil urinaire, coeur).

IV : LE DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

Les dysgénésies gonadiques.

Le syndrome de Noonan. C'est une maladie génétique autosomique dominante avec malformations cardiaques, retard mental léger avec fertilité ou infertilité.

Les autres pathologies avec aménorrhée primaire: femmes XY: phénotype féminin avec caryotype 46,XY.

V : CONSEIL GENETIQUE ET PRISE EN CHARGE

La monosomie X, homogène ou en mosaïque, est une anomalie accidentelle ; le risque de récurrence lors d'une grossesse ultérieure est considéré comme faible.

En cas d'anomalie de structure de l'un des chromosomes X, le caryotype parental doit être pratiqué.

Prise en charge des malformations.

Gonadectomie si présence d'un chromosome Y en mosaïque (risque néoplasique).

Oestrogénothérapie et hormone de croissance pour compenser le retard de croissance, induire le développement de caractères sexuels secondaires et la menstruation, et prévenir l'ostéoporose.

Soutien psychologique.

LE SYNDROME DE KLINEFELTER

Le syndrome de Klinefelter se définit par la présence chez des sujets de phénotype masculin, d'un chromosome X supplémentaire.

Le seul signe constant est l'**azoospermie** liée à la sclérose des tubes séminifères et responsable de la stérilité.

Il concerne 1,5 /1 000 nouveaux nés mâles.

L'âge maternel augmenté est un facteur de risque. L' X surnuméraire est d'origine maternelle le plus souvent.

I : CLINIQUE

Rarement suspecté avant la puberté (retard mental; anomalie des organes génitaux externes non spécifiques)

Le diagnostic est suspecté le plus souvent à la puberté ou chez l'adulte (gynécomastie, atrophie testiculaire), ou lors d'un bilan d'infertilité.

L'aspect physique est généralement normal; deux formes sont classiquement décrites:

- la forme longiligne macroskèle
- la forme gynoïde (obésité gynoïde: 25 % des cas; gynécomastie: 15-25 % des cas; diamètre bitrochantérien > diamètre biacromial).

Le développement de la verge est normal. Les testicules sont petits, indolores.

La pilosité est peu fournie ou normale, de répartition féminine.

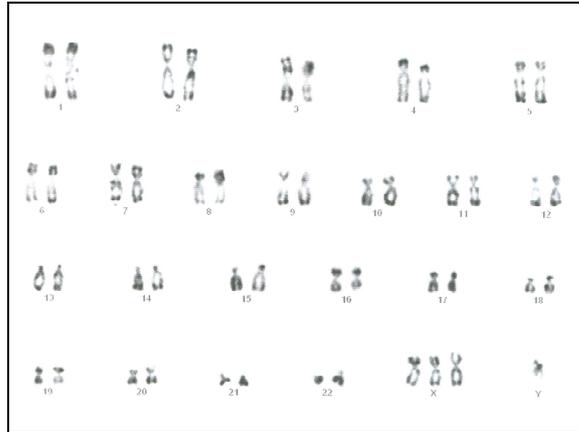
La libido est diminuée, impuissance à 30 ans fréquente, stérilité.

Le développement intellectuel normal ou peu abaissé. Dyslexie/dysphasie et trouble des fonctions exécutives frontales, tendances caractérielles et psychotiques.

Le cancer du sein: risque multiplié par 50 par rapport à l'homme normal (près de 10% des cancer du sein chez l'homme).

II : LE CARYOTYPE

- 47, XXY homogène: 80 % des cas.
- 48,XXXY 49, XXXXY 48, XXYY: 10 % des cas.
- Mosaiques chromosomique: 5-10 % des cas (rarement féconds).



Caryotype à 48,XXXY chez un Klinefelter

III/ BILAN BIOLOGIQUE

- Elévation des gonadotrophines et androgènes bas.
- Spermogramme: azoospermie chez les sujets non-mosaiques; des foyers résiduels de spermatogénèse sont parfois retrouvés, et des spermatozoïdes matures peuvent par injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI: intracytoplasmic sperm injection), permettre la paternité.
- Biopsie testiculaire (non indispensable): tubes séminifères atrophiques, hyperplasie leydigienne.

IV : PRISE EN CHARGE

La testostérone permet de corriger le déficit en androgènes, et d'induire une virilisation, avec une action également sur l' humeur et l' estime de soi.

Le syndrome de Klinefelter est une anomalie accidentelle. Le risque de récurrence lors d'une grossesse ultérieure est considéré comme faible.

AUTRES DYSGONOSOMIES

47,XXX OU TRIPLE X

La fréquence de la trisomie X est de 0,8 pour 1000 filles (découverte fortuite)

Cette formule chromosomique s'observe chez des femmes plutôt grandes, avec une puberté normale et une fertilité le plus souvent normale. Le QI est normal (quelques difficultés concernent les facultés d'abstraction et de lecture).

Les femmes trisomie X n'ont pas de phénotype particulier qui motiverait la réalisation d'un caryotype (découverte fortuite).

47,XYY OU DOUBLE Y

Il s'agit d'hommes phénotypiquement normaux sans anomalies somatiques particulières. Ils sont plutôt grands, sans l'existence d'une dysgénésie gonadique ou d'une infertilité.

LES HOMMES XX

Hommes phénotypiquement normaux.

Les hommes XX ont des organes génitaux masculins sans ambiguïté avec des petits testicules et une histologie proche de celle observée chez les hommes atteints d'un syndrome de Klinefelter.

Hypogonadisme et stérilité

Pas de retard mental

La plupart des hommes XX portent, à l'extrémité d'un chromosome X, le gène SRY, gène majeur de déterminisme du sexe masculin. 10 % des hommes XX n'ont pas de gène SRY et l'étiologie reste inexplicée (intervention d'autres gènes).

FEMMES XY

Femme avec dysgénésie gonadique pure.

Apparence féminine normale sans ambiguïté sexuelle avec structures mullériennes normales, aménorrhée primaire

Taille supérieure à la normale

15 à 20 % présentent une mutation ponctuelle du gène SRY. Dans les autres cas on ne trouve pas d'anomalies du gène SRY (autres gènes ?)

Le syndrome d'insensibilité complète aux androgènes chez des femmes XY.

LA CYTOGENETIQUE DES HEMOPATHIES MALIGNES

I : INTERET CLINIQUE DE LA CYTOGENETIQUE DANS LES HEMOPATHIES MALIGNES

La recherche des anomalies chromosomiques dans les hémopathies malignes est un élément essentiel dans la prise en charge de ces maladies. Elle permet de i : confirmer, voire d'établir le diagnostic clinique, ii : de suivre l'évolution d'un patient (contrôle de rémission complète, dépistage d'une rechute, détection de la maladie résiduelle), iii : d'évaluer le pronostic, et iv : d'adapter le protocole thérapeutique.

Le caryotype, la FISH et la biologie moléculaire font partie aujourd'hui du bilan d'une hémopathie.

Les anomalies cytogénétiques de structure altèrent souvent des gènes situés aux points de cassure de certains remaniements (oncogènes, gènes suppresseurs de tumeurs, gènes de facteurs de croissance ou de leurs récepteurs ou encore gènes des immunoglobulines)

II : CARACTERISTIQUES DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DES HEMOPATHIES MALIGNES

Les anomalies chromosomiques des hémopathies malignes se caractérisent par leurs caractères i : **acquis**, limité aux seules cellules tumorales, ii : **clonal**, toutes les cellules possèdent la même anomalie primaire. Un clone étant défini par au moins 2 cellules possédant le même chromosome surnuméraire ou la même anomalie de structure ou au moins 3 cellules lorsqu'il y a perte d'un même chromosome.

Les anomalies chromosomiques des hémopathies malignes peuvent être **non aléatoires** : retrouvées plus souvent que ne le voudrait le hasard (la trisomie 8 dans la leucémie aigue myéloïde LAM) ou **plus au moins spécifiques** d'un type de leucémie (la t(15;17) dans la leucémie aigue lymphoïde LAM3 ou la t(8;14) dans LAL3)

Les anomalies chromosomiques des hémopathies malignes peuvent être **primaires** (présentes dans toutes les cellules du clone tumoral) ou **secondaires** surajoutées au cours de l'évolution à l'anomalie primaire.

La fréquence des anomalies chromosomique est de l'ordre de 95% dans les LMC, de 70 à 80% dans les leucémies aiguës lymphoblastiques, et de 50% dans les leucémies aiguës myéloïdes.

Un caryotype normal est en général un facteur de bon pronostic, contrairement aux anomalies complexes.

Un grand nombre de ces anomalies chromosomiques sont associées à un type cytologique et/ou immunologique particulier et correspondent parfois à des entités clinico-biologiques, de bon ou de mauvais pronostic.

III-: ANOMALIES CYTOGENETIQUES DANS LES PATHOLOGIES DE LA LIGNEE MYELOIDE

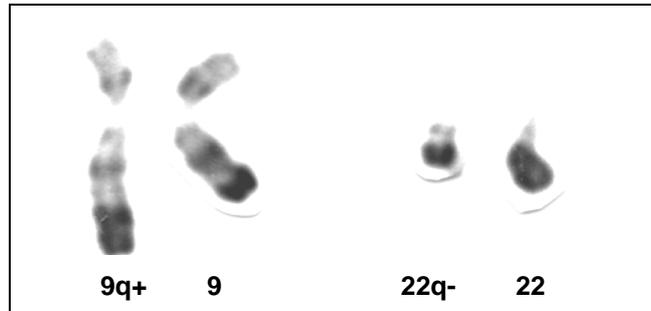
III-1 Anomalies cytogénétiques dans les Syndromes myéloprolifératifs.

Les syndromes myéloprolifératifs sont des hémopathies malignes caractérisées par la prolifération clonale des cellules myéloïdes. La leucémie myéloïde chronique (LMC), la polyglobulie de Vaquez, la thrombocytémie essentielle et la myélofibrose primitive constituent les principales pathologies du groupe **des** syndromes myéloprolifératifs.

III-1-1 Apport de la génétique dans la LMC

La LMC a bénéficié très tôt d'un marqueur biologique : le chromosome de Philadelphie (Ph1). Ce marqueur identifié en 1960 par Nowell et Hungerford à Philadelphie, a été la première anomalie spécifique d'un processus malin. Il fut dès lors reconnu comme marqueur spécifique (non pathognomonique) dans la LMC.

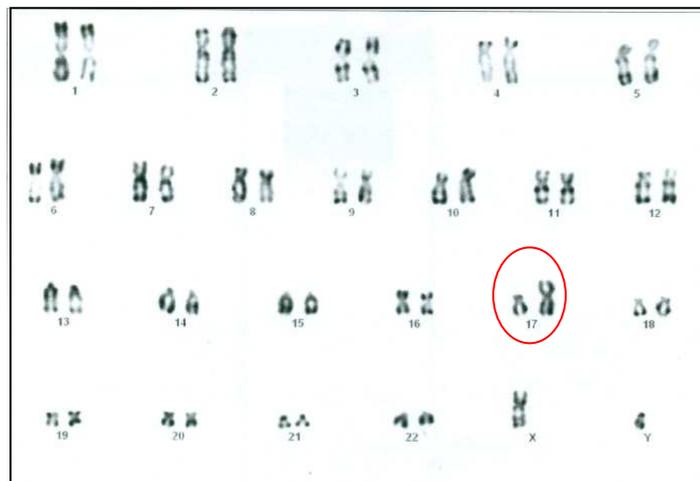
Il s'agit d'une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22, cassés respectivement en 9q34 et 22q11. Il apparaît parfois sous une forme variante (moins de 10% des cas) se traduisant par des translocations complexes impliquant un ou plusieurs chromosomes en plus du chromosome 9 et du chromosome 22.



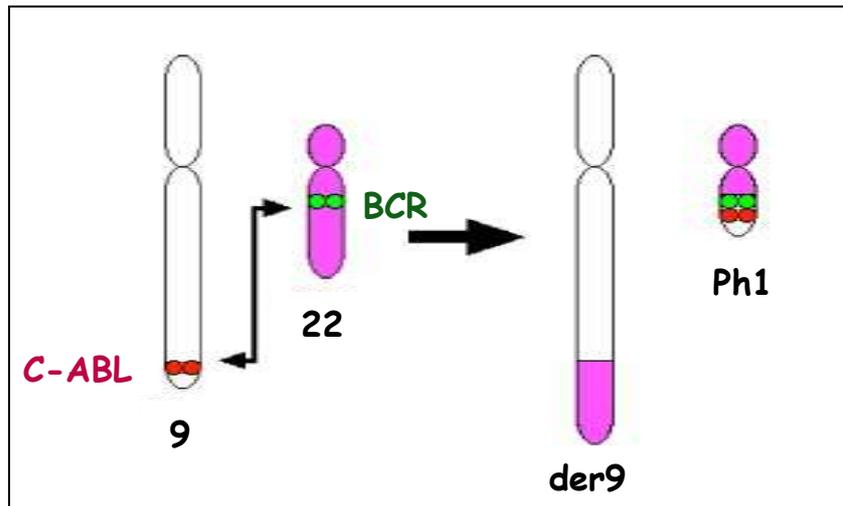
Translocation t(9;22)(q34;q11) : Chromosome Philadelphie

Le processus malin se met en place dans une cellule pluripotente ce qui explique l'atteinte de presque toutes les lignées.

Dans la LMC en phase d'acutisation, d'autres anomalies additionnelles peuvent coexister avec le chromosome Ph1 : Ph surnuméraire et/ou trisomie 8, et/ou isochromosome 17q ...



L'équivalent moléculaire du chromosome Ph1 est le gène de fusion *BCR-ABL*, transcrit en un ARNm hybride et traduit en une protéine de 210 kDa à forte activité tyrosine kinase, jouant un rôle dans la leucémogénèse.



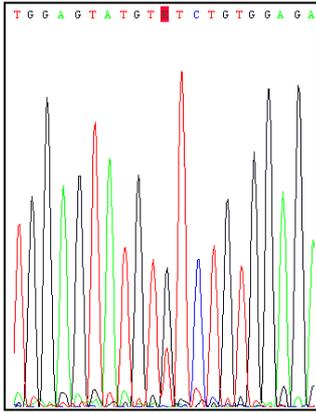
Dans certains cas, le chromosome Ph1 peut être masqué à cause de la taille du fragment transloqué qui est submicroscopique, on a alors recours à la cytogénétique moléculaire (hybridation in situ : FISH) ou à la PCR en temps réel.

La recherche du chromosome Philadelphie est nécessaire pour confirmer le diagnostic de la LMC et pour surveiller l'évolution sous certains traitements anti mitotiques.

III-1-2 Apport de la génétique dans les autres syndromes myéloprolifératifs

Il n'y a pas d'anomalies chromosomiques spécifiques.

La découverte en 2005 de la mutation JAK2 V617F a permis aux trois autres syndromes myéloprolifératifs classiques (polyglobulie de Vaquez, thrombocytemie essentielle et myélofibrose primitive) de bénéficier à leur tour d'un marqueur moléculaire, même si cette mutation n'est pas retrouvée chez tous les patients présentant ces pathologies.



JAK2 est une protéine à fonction tyrosine kinase, de la sous-famille des protéines JAK (pour Janus Kinase) qui sont des molécules de signalisation intracellulaire non réceptrices. La mutation transversion G→T du gène JAK2 au niveau du nucléotide 1849 entraîne la substitution de la valine en position 617 par une

phénylalanine (V617F). Cette mutation somatique est détectée chez plus de 90 % des patients atteints de polyglobulie de Vaquez, mais aussi chez plus de 50 % des patients atteints de thrombocyémie essentielle et chez environ la moitié des patients atteints de myélofibrose primitive

III-2: Anomalies cytogénétiques dans les leucémies aigues myéloïdes (LAM)

Dans les LAM, il existe une accumulation de précurseurs myéloïdes non matures dans la moelle (blastes>20%), le sang ou d'autres tissus.

Les techniques cytogénétiques conventionnelles et moléculaires sont maintenant intégrées dans le panel des analyses indispensables au diagnostic de leucémie aiguë.

Les anomalies chromosomiques contribuent à définir le type de leucémie et présentent aussi l'intérêt d'être des facteurs pronostiques indépendants, essentiels pour les choix thérapeutiques.

Anomalies chromosomiques de pronostic favorable

- **t(8;21)(q22;q22)** se retrouve le plus souvent dans les **LAM2**
- **t(15;17)(q25;q21)** pathognomonique des **LAM3** (leucémie promyélocytaire)
- **inv (16)(p13q22)** pathognomonique de la **LAM4** à éosinophiles

Anomalies chromosomiques de pronostic défavorable

Concernent 30% des patients mais ne sont pas spécifiques :

- délétion du chromosome 5 del(5) ou du chromosome 7 del(7)
- réarrangement 3q21

- réarrangement 11q23 (surtout LAM4/ LAM5 ou LA biphénotypique)
- t(9;22)(q34;q11) (LAM1 ou 2 le plus souvent)
- t(6;9)(p23;q34)

Anomalies chromosomiques de pronostic intermédiaire

- Caryotype normal chez l'adulte jeune
- Trisomie 8, perte de l'Y et la trisomie 6

IV-: ANOMALIES CYTOGENETIQUES DANS LES PATHOLOGIES DE LA LIGNEE LYMPHOIDE

IV-1 : Les leucémies lymphoïdes chroniques

Les leucémies lymphoïdes chroniques (LLC) présentent un profil chromosomique très particulier, caractérisé par des déséquilibres génétiques multiples et récurrents.

Les anomalies chromosomiques sont détectées dans plus de **80 % des cas** des LLC. Elles peuvent être isolées ou associées entre elles ou bien encore apparaître au cours de l'évolution de la maladie.

Les anomalies cytogénétiques les plus fréquemment retrouvées dans les LLC sont les délétions de la région **13q** de bon pronostic, la trisomie 12, et les délétions **11q et 17p** qui constituent des facteurs indépendants prédictifs d'une progression rapide.

IV-2- : Les leucémies aiguës lymphoblastiques

Les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) sont des proliférations clonales malignes des cellules souches engagées dans la différenciation lymphoïde B (LAL-B) ou T (LAL-T). Des anomalies chromosomiques clonales sont retrouvées dans la majorité des cas : 80 % chez l'enfant et 70 % chez l'adulte. On distingue des anomalies de nombre et des anomalies de structure bien que ces deux types d'anomalies soient parfois associés : le pronostic est alors celui qui est lié à l'anomalie de plus mauvais pronostic.

IV-2- 1 Les Anomalies de nombre dans les LAL

| | |
|---------------------------------------|-------------------------|
| - Hypodiploïdie : < 45 chromosomes | mauvais pronostic |
| - Tétraploïdie : 82- 97 chromosomes | mauvais pronostic |
| - Hyperdiploïdie : 47- 50 chromosomes | pronostic intermédiaire |
| - Hyperdiploïdie : > 50 chromosomes | bon pronostic |
| - Hyperdiploïdie : > 55 chromosomes | très bon pronostic |

IV-2- 2 : Anomalies de structure dans les LAL_

Leucémies aiguës lymphoblastiques B

La **t(12;21)(p13;q22)**, non détectable en cytogénétique conventionnelle (pronostic favorable)

La **t(8;14)(q24;q32)** et ses formes variantes : t(2;8)(p12;q24) ou t(8;22)(q24;q11), observées dans les LAL3B dites de type Burkitt hyperleucocytaires (pronostic intermédiaire)

La **t(4;11)(q21;q23)** chez 60% des enfants de moins de un an avec LAL préB très hyperleucocytaires (pronostic défavorable)

La **t(9;22)(q34;q11)** des LAL de l'enfant et 20% à 30% des LAL de l'adulte (pronostic défavorable)

Leucémies aiguës lymphoblastiques T

Ce sont des leucémies essentiellement de l'adulte jeune. Elles sont moins fréquentes que les B et de moins bon pronostic chez l'enfant. Les remaniements intéressent les sites de localisation des gènes des récepteurs des cellules T en 14q11, en 7q34.

IV-3 : Les lymphomes

Dans les lymphomes, le foyer leucémique est situé dans les ganglions lymphatiques. L'envahissement de la moelle et du sang est secondaire.

IV-3-1 : lymphomes non Hodgkiniens type B

La **t(8;14)(q24;q31)** : lymphomes de Burkitt, 40% de tous les lymphomes de l'enfant et 5% de ceux de l'adulte (risque élevé)

La **t(14;18)(q32;q21)** : lymphomes B folliculaires à petites cellules clivées (risque faible)

La **t(11;18)(q21;q21)** ou **t(1;14)(p22;q32)**: lymphomes B de la zone marginale (risque faible)

La **t(11;14)(q31;q22)** : lymphomes du manteau (risque intermédiaire)

IV-3-2 : lymphomes non Hodgkiniens type T

La **t(2;5)(p23;q35)** : lymphomes anaplasiques

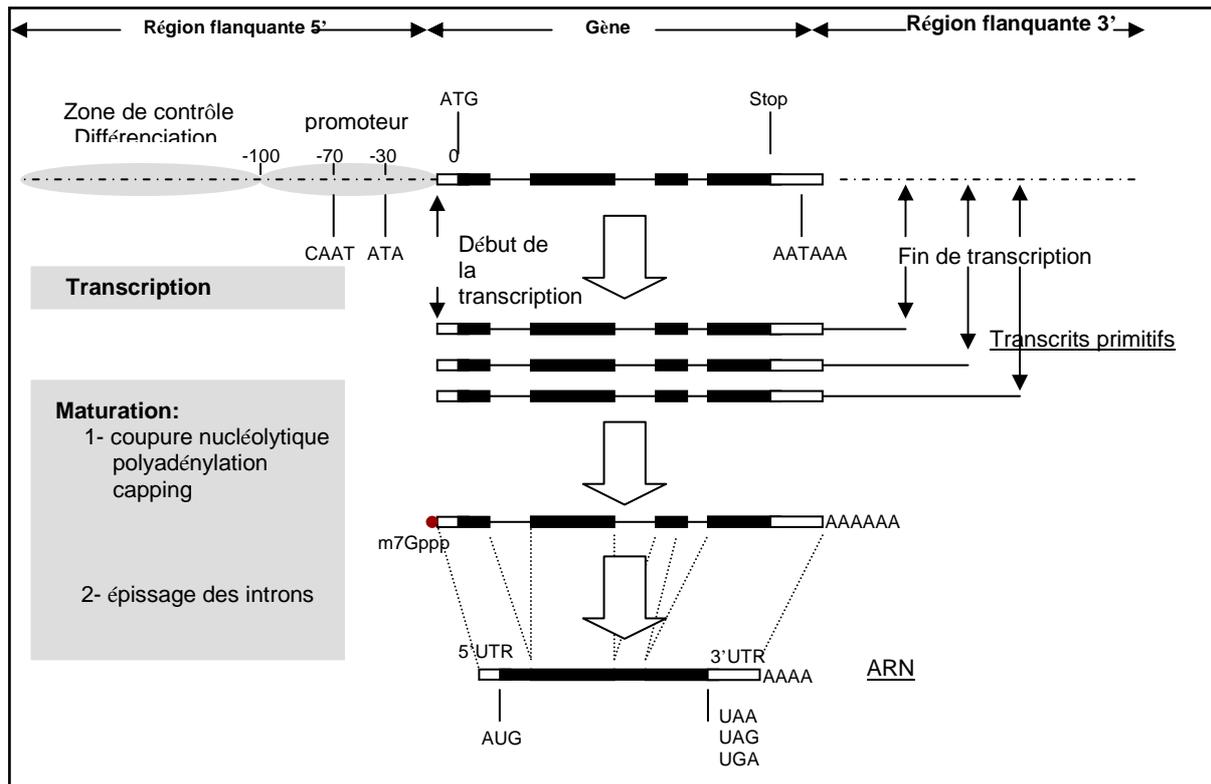
VI : CONCLUSION

La cytogénétique classique reste la technique de première intention, permettant d'analyser l'ensemble des chromosomes. La cytogénétique moléculaire lui est complémentaire, car elle est réalisée avec des sondes ciblées, à la recherche d'une anomalie attendue. Elle est particulièrement importante dans la détection de la maladie résiduelle.

La biologie moléculaire permet en outre de conforter, préciser ou quantifier une anomalie donnée.

PRINCIPALES TECHNIQUES D'ANALYSE DE L'ADN

I : RAPPEL SUR LE GENE ET SON EXPRESSION



L'ADN est présent dans toutes les cellules nucléées et sa séquence est identique dans toutes les cellules d'un même organisme.

Il y a 12 picogrammes d'ADN par cellule. 1 ml de sang contient environ 5 millions de leucocytes soit 60 mg d'ADN. Cette quantité est largement suffisante pour le diagnostic moléculaire et parfois pour des études de recherche.

L'analyse de l'ADN est un moyen de diagnostic utilisé depuis plusieurs années. Cette technologie évolue très vite mais reste délicate et ses indications doivent être posés lors d'une consultation de génétique médicale.

Nous allons traiter deux techniques largement utilisées en diagnostic médical: la PCR et le séquençage de l'ADN.

II : REACTION DE POLYMERISATION EN CHAINE (PCR)

II-1 : PRINCIPE DE LA PCR

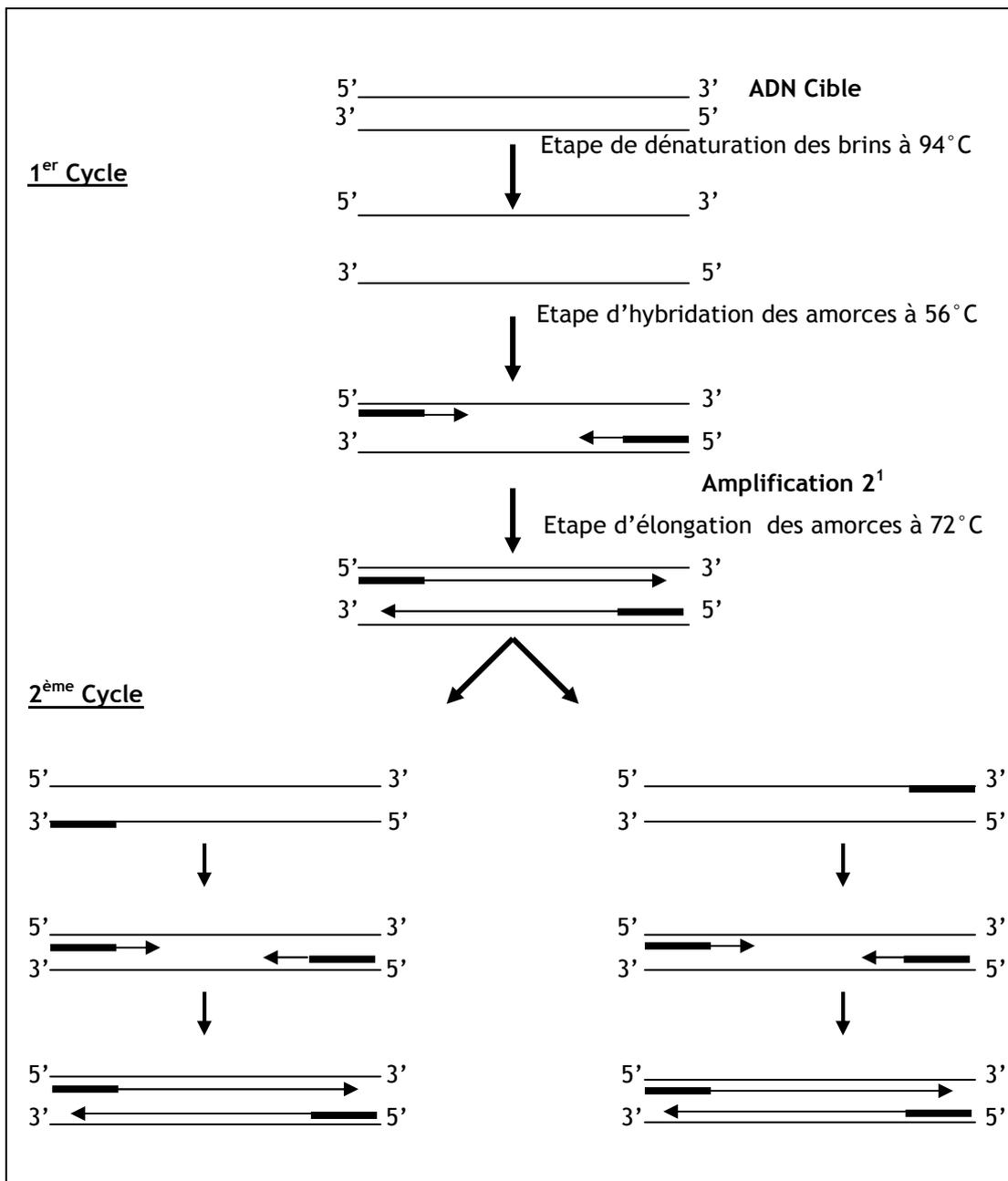
La PCR standard est une technique d'amplification *in vitro*. Elle permet d'amplifier spécifiquement de façon exponentielle une séquence d'ADN, à partir d'une très petite quantité de matériel, et faciliter ainsi son analyse.

La PCR standard est basée sur :

- L'action d'une ADN polymérase thermostable : la Taq polymérase.
- La connaissance des séquences flanquant l'ADN cible, ce qui permet de synthétiser des amorces de 15 à 25 paires de bases. Ces amorces (ou primers) seront, une fois hybridées à leurs séquences complémentaires respectives, allongées dans les sens 5' → 3'
- La répétition pendant une trentaine de fois d'un cycle d'amplification fait de trois étapes :
 - 1- Une étape de dénaturation qui se fait généralement à 94°C et qui permet la séparation des deux brins d'ADN
 - 2- Une étape d'hybridation des amorces délimitant le fragment à amplifier. La température d'hybridation est spécifique de chaque couple d'amorces. L'hybridation est permise grâce à un abaissement de la température. Cette étape est particulièrement importante, car elle conditionne la spécificité de la réaction.
 - 3- Une étape d'extension d'amorces à 72°C. Elle permet la synthèse des deux nouveaux brins d'ADN par incorporation des 4 désoxynucléotides triphosphates (dNTP)
- Chaque brin néo-synthétisé sert de matrice pour une nouvelle synthèse au cycle suivant. Après n cycles on aura une amplification exponentielle de la séquence d'ADN cible (2^n copies où n représente le nombre de cycles effectués).

La PCR est donc une combinaison de réactions enzymatiques et de dénaturation physico-chimique par la chaleur. Elle permet de produire, en quelques heures, de grandes quantités de l'ADN de la région à étudier. Cette quantité est suffisante pour être visualisée sous forme d'une bande fluorescente directement par électrophorèse et après coloration au bromure d'éthidium.

Principe de la PCR



II-2 : LES APPLICATIONS DE LA PCR

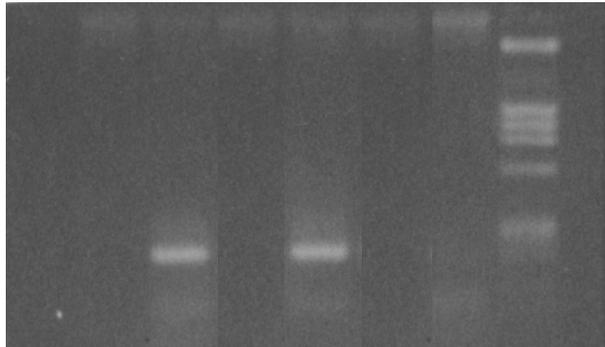
La PCR a de multiples applications dans tous domaines des sciences de la vie.

II-2-1 : Détection d'une séquence spécifique d'ADN

La technique PCR standard, permet de confirmer ou non la présence dans l'ADN étudié d'une séquence spécifique recherchée (déterminée par la spécificité des primers utilisés). Exemples :

- En microbiologie : Recherche chez l'homme de séquences minoritaires spécifiques d'un agent infectieux donné (HCV, HIV). Pour les virus à ARN, on fait précéder la PCR par une rétro transcription qui synthétise un ADN viral à partir de son ARN (on parle de **RT-PCR**)

- En génétique humaine :
 - 1) Recherche de séquences spécifiques du chromosome Y pour un diagnostic de sexe.



A B C D

Amplification d'une séquence spécifique du gène *SRY*

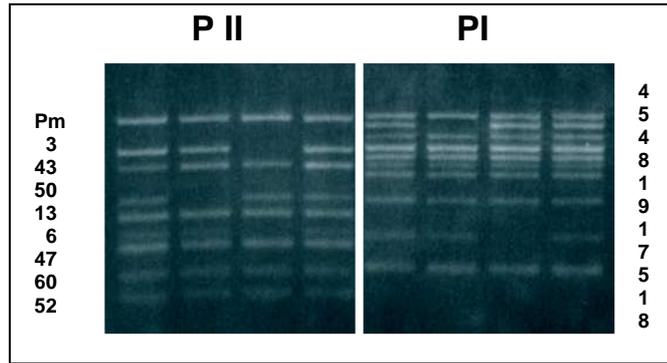
A : Contrôle négatif

B : Fœtus (liquide amniotique) de sexe masculin

C : Femme XX

D : Homme XY

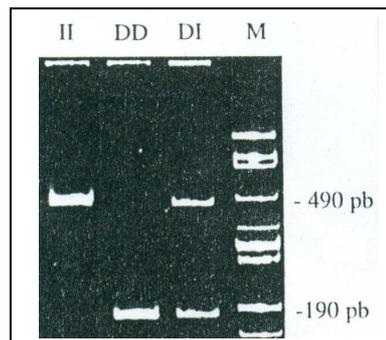
2) L'amplification simultanée de plusieurs séquences dispersées dans une région donnée afin d'explorer un gène donné (**PCR multiplex**). La recherche des délétions du gène de la dystrophine (myopathie de Duchenne/Becker)



II-2-1 - Détection d'une variation de séquence

- Etude d'une variation de la taille du segment amplifié

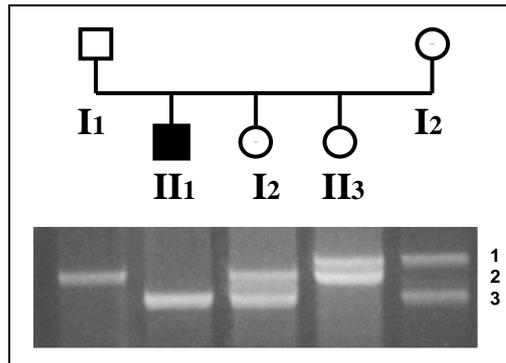
Le polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine *ACE* (présence ou absence d'un fragment de 300 bases détermine deux allèles, un avec la délétion D ; et l'autre avec insertion.



Polymorphisme Délétion / Insertion du gène ACE

- 1 : Homozygote II
- 2 : Homozygote DD
- 3 : Hétérozygote DI
- M : marqueur de taille

- Détection des marqueurs génétiques déterminés par des variations de taille : Les **VNTR** (Variable Nucleotides Tandem Repeats) et les **CA repeat** ou **STR** (Short tandem repeat)



Analyse par PCR du marqueur St14 chez une famille d'hémophilie

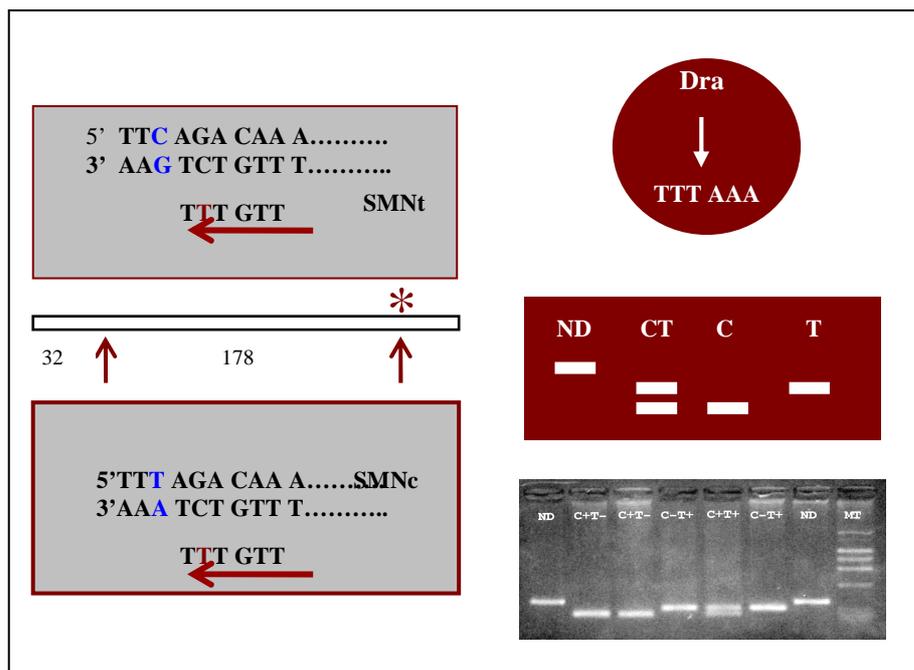
- I1 : Père (allèle 2)
- I2 : Mère hétérozygote (allèles 1 et 3)
- II1 : Enfant hémophile (allèle 3)
- II2 : Soeur conductrice (allèles 2 et 3)
- II3 : Soeur non conductrice (allèle 1 et 2)

- Recherche d'une mutation qui supprime ou crée un site de restriction

Les enzymes de restriction sont des enzymes d'origine bactérienne qui reconnaissent des séquences spécifiques d'ADN et qui coupent à leur niveau.

- PCR avec création artificielle d'un site pour enzyme de restriction

Diagnostic moléculaire des amyotrophies spinales infantiles par la mise en évidence de la délétion télomérique du gène *SMN* (présente chez 95% des patients)



II-3 : LA PCR EN TEMPS REEL

La PCR en temps réel utilise le principe de base de la PCR classique, avec pour différence une amplification mesurée non pas en final mais tout au long de la réaction, donc en temps réel. A chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN est mesurée grâce à un marqueur fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits. Ceci permet d'obtenir une cinétique de la réaction et donc la quantification de l'ADN alors que la PCR classique ne donne que la mesure finale. Les deux principaux systèmes de détection utilisés pour la quantification du signal fluorescent en temps réel sont les agents intercalants (SYBR®Green) et les sondes marquées. La PCR en temps réel a de nombreuses applications en génétique humaine, en particulier la détection de polymorphismes et de mutations, l'analyse d'expression des gènes.



Recherche de mutation par RT PCR et sonde spécifique d'allèle : méthode Taqman

III : LE SEQUENÇAGE DE L'ADN

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre des nucléotides sur la molécule d'ADN. C'est le niveau de résolution le plus élevé pour rechercher la présence de mutations ponctuelles dans un gène. La détermination de la séquence nucléotidique d'un gène est source d'informations importantes concernant sa structure, sa fonction et ses mutations. L'automatisation du séquençage de l'ADN a rendu cette technique la méthode de choix pour l'exploration de la séquence nucléotidique.

Deux méthodes de séquençages ont été décrites. La méthode chimique (Maxam et Gilbert, 1977) et la méthode enzymatique (Sanger).

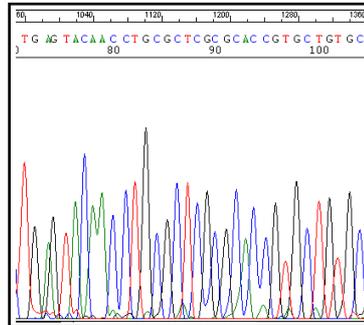
La méthode, proposée par F. Sanger (prix Nobel de chimie en 1980), repose sur l'utilisation de nucléotides particuliers appelés didésoxynucléotides qui bloquent la synthèse de l'ADN par les ADN polymérases après leur incorporation. Cette méthode a considérablement évolué grâce à la mise au point de séquenceurs automatiques et de marquages des nucléotides à l'aide de fluorochromes.

Le séquençage de l'ADN est devenu une technique rapide et fiable utilisée fréquemment dans le diagnostic des maladies héréditaires. Il se pratique aujourd'hui à grande échelle (la séquence complète de plusieurs organismes vivants a été identifiée dont celle de l'Homme).

L'automatisation du séquençage de l'ADN est une combinaison de réactions toutes automatisées :

- des techniques de PCR.
- Des techniques de fluorescence avec usage de didésoxynucléotides (ddNTP) marqués par des fluorochromes de couleur différente et qui permettent d'interrompre, à différents niveaux, la synthèse d'ADN. Ce blocage est dû à l'impossibilité qu'ont ces nucléotides de former une liaison phosphodiester avec un autre nucléotide en raison de l'absence du groupement hydroxyle sur le carbone 3'
- Migration des brins d'ADN marqués dans un gel contenu dans un capillaire de séquençage.

- Excitation par un rayon Laser fixe qui émet un signal spécifique, différent selon le nucléotide marqué
- Les signaux sont lus électroniquement, enregistrés puis visualisés sous forme de pics de quatre couleurs différentes (correspondants aux bases A, G, C et T).



LES MUTATIONS ET LEURS CONSEQUENCES

EN PATHOLOGIE HUMAINE

I : DEFINITIONS

Le terme de mutation a été utilisé pour la première fois en 1901 par Hugo de Vrie. Il désigne tout changement **accidentel** et **héritable** du matériel génétique.

Pendant longtemps, une mutation n'était repérée que lorsqu'elle entraînait une modification du phénotype. Actuellement, et avec le développement des techniques de biologie moléculaire en particulier la détermination de la séquence de l'ADN, une mutation est identifiée même si elle est sans conséquence sur l'organisme qui la porte.

Les mutations **chromosomiques** ou **génomiques** sont des changements du nombre ou de la structure des chromosomes (cours de cytogénétique)

Les mutations **géniques** sont des changements au niveau de l'ADN qui n'altèrent pas la structure des chromosomes (caryotype normal)

Les mutations géniques peuvent être des **mutations ponctuelles** ou secondaires à de **gros remaniements**.

Mutation somatique et mutation germinale : Une mutation somatique touche une cellule somatique et elle est héritable par toutes les cellules qui en sont descendantes, par contre elle n'altère pas le capital génétique transmissible par l'individu. On dit qu'elle intéresse un clone cellulaire. Si la mutation est fonctionnellement défavorable, le clone disparaît progressivement, par contre si la mutation confère à la cellule un avantage sélectif, le clone peut s'amplifier considérablement ; c'est ainsi que l'on explique la genèse de certains cancers. Une mutation germinale touche les cellules germinales, elle est transmise ainsi à la descendance et se retrouvera dans toutes les cellules de l'individu qui l'a hérité.

Mutagenèse dirigée : c'est le changement délibéré d'une séquence d'ADN provoqué par les chercheurs.

II : LES MUTATIONS PONCTUELLES

Ce sont des mutations affectant une seule base. On distingue Les **substitutions nucléotidiques** qui sont des remplacements d'une base par une autre (il peut s'agir alors d'une **Transition** ou d'une **Transversion**).

Les transitions correspondent au remplacement d'une base pyrimidique (C ou T) ou une base purique (A ou G) par une base du même type.

Les transversions correspondent au remplacement d'une base pyrimidique (C ou T) par une base purique (A ou G) ou vice versa.

Les transitions sont 2 fois plus fréquentes que les transversions.

Les **délétions** et les **insertions** d'une base ou d'un petit nombre de bases sont également considérées comme des mutations ponctuelles.

II-1 : LES FACTEURS FAVORISANT LES MUTATIONS PONCTUELLES

- Le défaut de correction des erreurs de la réplication.
- Les points chauds (hot spot) de mutations CpG.
- Glissement ou dérapage (slippage) de l'ADN Polymérase au niveau de courtes répétitions.

II-2 : LES CONSEQUENCES DES MUTATIONS PONCTUELLES

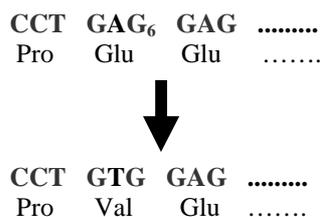
Une mutation peut avoir un effet détectable si elle concerne une séquence d'ADN transcrite, un gène de structure par exemple, mais également si elle touche un des sites de l'ADN qui jouent un rôle dans l'expression génétique.

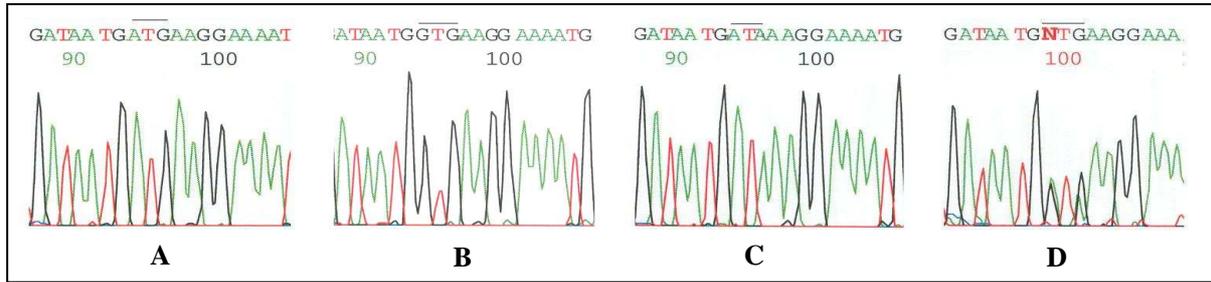
II-2-1 : MUTATIONS MODIFIANT LE PHENOTYPE

- Les mutations faux sens

Elles modifient la signification d'un codon. Il en résulte un changement d'un AA sur la protéine correspondante. La conséquence de cette mutation est variable selon la nature du changement et son emplacement.

Exemple : La **drépanocytose** est secondaire à une mutation au niveau du codon 6 de la chaîne β de l'hémoglobine **mutation E6V (p.Glu6Val)**.





Recherche des mutations du codon 694 par séquençage de l'exon 10 du gène *MEFV*

A: Homozygote normal (ATG)

B: Homozygote pour la mutation M694V (p.Met694Val) (GTG)

C: Homozygote pour la mutation M694I (p.Met694Ile) (ATA)

D: Hétérozygote composite M694V/M694I (p.Met694Val/p.Met694Ile) (GTG/ATA)

- Les mutations non sens

Ce sont des substitutions aboutissant à des codons stop UAA UAG UGA sur l'ARNm. Elles entraînent l'interruption prématurée de la traduction et la protéine finale est en général non exprimée.

| | |
|-------------------------|-----|
| Mutation Ocre : | UAA |
| Mutation Ambre : | UAG |
| Mutation Opale : | UGA |

Exemple : Une des **βo thalassémie** (Méditerranéenne, Sardaigne) est due à une mutation ambre au niveau du codon 39 : **Q39X (p.Gln39Stop)** CAG (Gln) →TAG (stop)

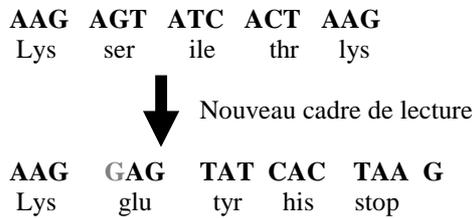
- Les mutations élancement

Elles portent sur la séquence correspondant à l'un des trois codons stop qui devient significatif, entraînant ainsi une prolongation de la traduction jusqu'au codon stop suivant. Il en résulte une élancement de la chaîne polypeptidique.

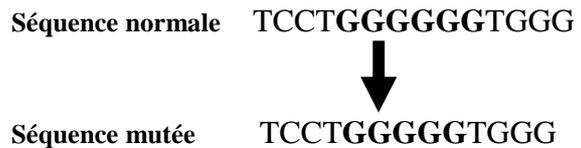
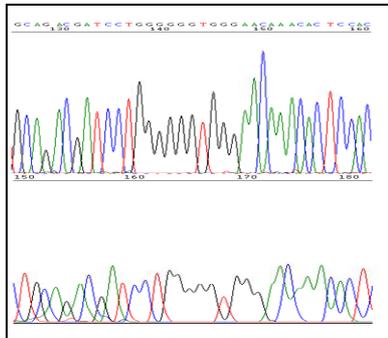
Exemple : L'hémoglobine **Constant Spring** est due à une élancement du gène de la chaîne α2 de l'hémoglobine (+ 33 AA): TAA (stop) →CAA (Gln)

- Les mutations décalant le cadre de lecture (Frameshift)

Elles agissent par délétion ou insertion d'une base, de deux bases ou d'un non multiple de 3 bases et conduisent à une protéine incomplète qui est presque toujours rapidement dégradée.

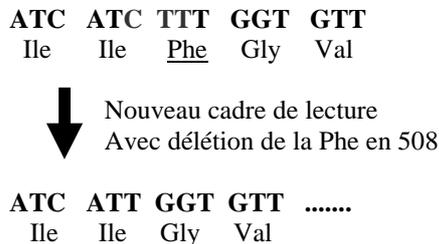


Exemple: La mutation **c.35delG** du gène *GJB2* est une mutation fréquente dans les surdités non syndromiques autosomiques récessives.



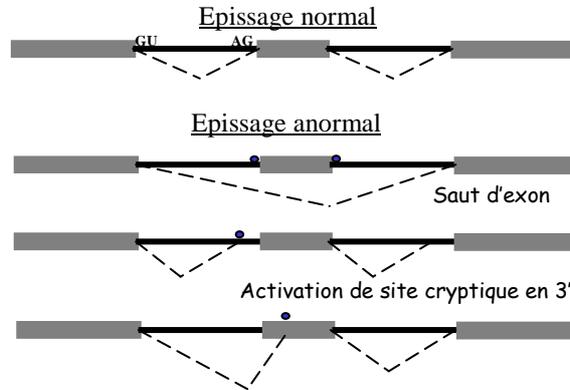
- Les délétions- insertions de codons

Exemple : La délétion d'une phénylalanine en position 508 de la protéine CFTR est la mutation la plus fréquente dans la mucoviscidose.



- Les mutations dans les jonctions exons-introns

Ces mutations créent ou suppriment un site d'épissage et sont responsables d'un décalage du cadre de lecture.



- Les mutations à effet quantitatif

Intéressent les régions promotrices et les régions régulatrices et se traduisent pas une perturbation du niveau de transcription et donc d'expression du gène.

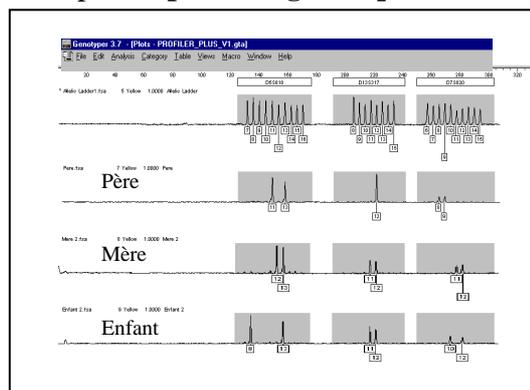
II-2-2 : LES MUTATIONS SILENCIEUSES

Ce sont des changements de séquences de l'ADN qui n'ont pas de retentissement sur les caractères observables.

- Parce qu'elles agissent sur l'ADN non codant
- Les mutations iso-sémantiques
- La modification d'un AA sans grande importance fonctionnelle
- Les mutations récessives à l'état hétérozygote

Le **polymorphisme génétique** généré par ces mutations est d'une grande utilité en génétique humaine (diagnostic et recherche)

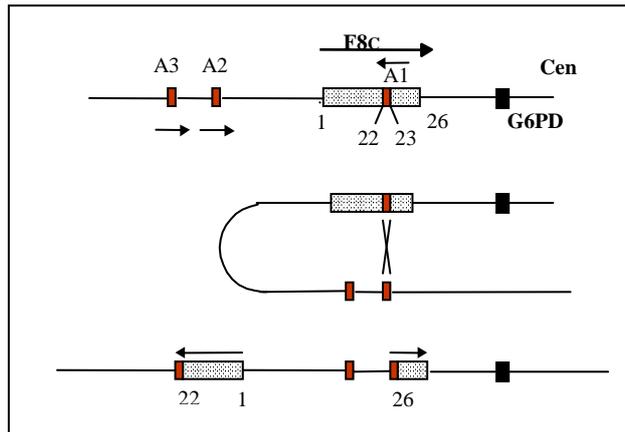
Exemple : Etudes de filiation par **empreintes génétiques**



III : LES REMANIEMENTS IMPORTANTS

Il existe des mutations faisant intervenir plusieurs paires de bases à type de délétions, d'insertions de grande taille ou d'inversions. Certaines insertions sont dues à des éléments génétiques mobiles (séquences ALU chez l'homme).

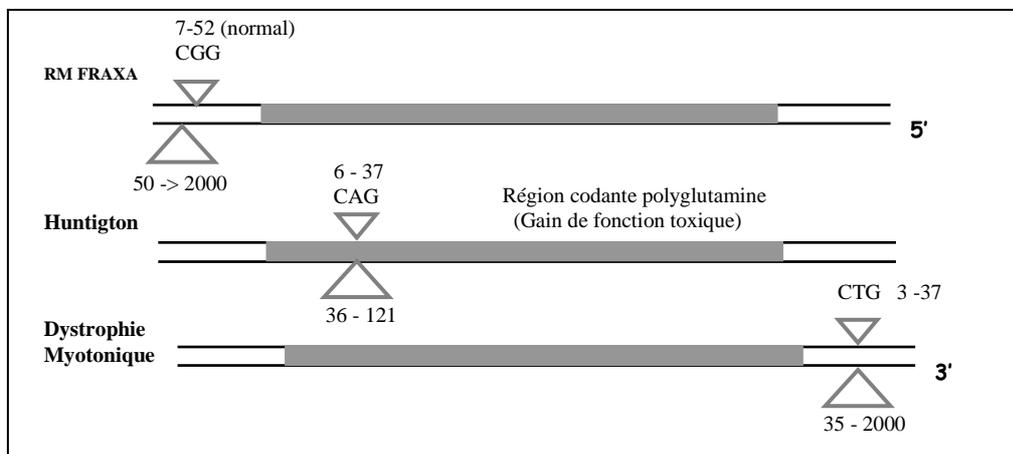
Exemple : Près de 50% des **hémophilies A sévères** sont dues à une **inversion** au niveau du gène du facteur VIII de la coagulation. Une inversion est la rotation d'une séquence d'ADN de 180°.



IV : LES MUTATIONS PAR EXPANSION DE TRINUCLEOTIDES

Découvertes en 1991, les mutations instables par expansion de trinucleotides sont responsables de plusieurs maladies génétiques en particulier des maladies neurodégénératives.

Ce mécanisme de mutation explique, dans certaines maladies neurologiques, le phénomène d'**anticipation** (la maladie apparaît de plus en plus précocement et elle est de plus en plus grave d'une génération à l'autre du fait de l'augmentation du nombre de répétitions).



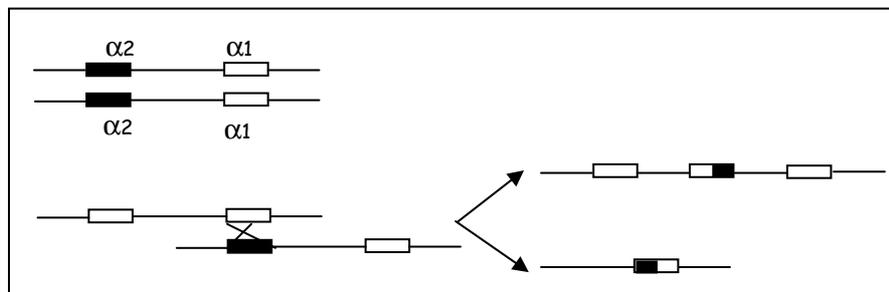
Autres maladies avec expansion de trinucleotides:

- Les ataxies spino-cérébelleuses (CAG)
- L'atrophie musculaire spino-bulbaire (GAG)
- L'ataxie de Friedrich (GAA)

V : AUTRES MECANISMES DE MUTATION

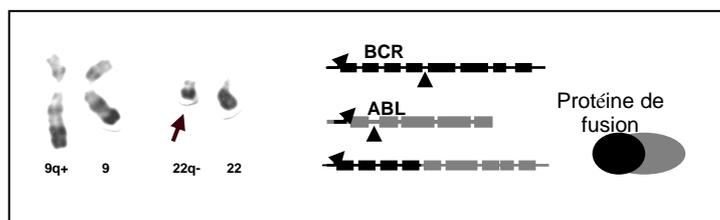
V-1 : Délétion-duplication de gènes (par crossing-over inégal)

Les α thalassémies sont dues à des délétions secondaires à des crossing-over entre les gènes α de l'hémoglobine.



V-2 : Fusion entre deux gènes

Exemple : Le chromosome Philadelphie t(9;22)(q34;q11) entraîne la fusion des gènes *BCR* sur le chromosome 22 et *ABL* sur le chromosome 9. La protéine de fusion a une forte activité tyrosine kinase à l'origine du développement tumoral.



V-3 : Surexpression de gènes

V-4 : Les disomies uniparentales

C'est la présence dans une cellule diploïde de 2 séquences homologues héritées d'un seul parent, voire de deux chromosomes entiers.

Le Prader –Willi est dans 30% des cas du à une disomie uniparentale d'origine maternelle.

LE CONSEIL GENETIQUE

Le conseil génétique est une consultation spécialisée de médecine préventive. C'est un acte médical particulier qui consiste à évaluer la probabilité pour qu'un enfant à naître soit atteint d'une affection qui est déjà survenue dans la famille ou qui a un risque plus élevé d'y survenir du fait d'une situation particulière.

I : LE CONSEIL GENETIQUE REPOSE SUR

- Le diagnostic précis de l'affection

L'identification formelle de la maladie est l'un des impératifs du conseil génétique, surtout en cas de recours à des investigations anténatales chez le fœtus.

Le diagnostic de la maladie pour laquelle le couple consulte doit être communiqué au généticien (document écrit) par un spécialiste informé du fait que sa conclusion servira de base à un conseil génétique.

Des investigations complémentaires s'avèrent souvent nécessaires pour un diagnostic de certitude. Si l'enfant atteint est décédé, il convient de récupérer son dossier médical complet avec toutes les informations disponibles.

- L'enquête génétique

C'est une des plus importantes étapes du conseil génétique. L'enquête familiale doit être minutieuse et aboutir à un arbre généalogique le plus complet possible. Très souvent, les informations capitales pour le conseil ne sont délivrées qu'au terme de consultations répétées. Si le couple rapporte d'autres cas chez les apparentés, le diagnostic doit être vérifié par le généticien avant de conclure au caractère familial.

- Des connaissances actualisées sur la maladie

Son mode de transmission, sa pénétrance et son expression clinique.

L'évolution de la recherche sur la pathologie, en particulier les progrès de la génétique : le ou les gènes responsables, leurs localisations et leurs mutations.

Les possibilités offertes par le diagnostic anténatal, les modalités pratiques de sa réalisation et les risques d'erreurs.

Ces informations sont recueillies à partir des ouvrages et des revues spécialisés, des systèmes d'aide au diagnostic informatisés, et des bases de données sur le réseau internet.

II/ LES INDICATIONS DU CONSEIL GENETIQUE

Le conseil génétique intéresse tout couple supposé à risque ou qui s'interroge sur l'avenir de leur enfant à naître.

- Les couples ayant déjà eu un enfant malade. C'est la situation la plus fréquente
- Un conjoint ou un apparenté atteint
- Des antécédents de fausses couches et de mort-nés
- Les mariages à risque (consanguinité et endogamie)
- Les incidents en début de grossesse (infections, prise de médicaments et irradiations)
- Des circonstances particulières (âge maternel, procréation médicalement assistée)

III : LE CALCUL DU RISQUE GENETIQUE

Le conseil génétique permet de rassurer les personnes dont les craintes sont génétiquement non justifiées. C'est le cas lorsque :

- Le risque de récurrence de la pathologie est très faible ou ne diffère pas de celui de la population générale.

- Le consultant, du fait du mode de transmission et/ou de l'étiologie de la maladie n'est pas une personne à risque.

Le risque est réel et calculable lorsque le diagnostic a été déterminé clairement, que l'affection est connue comme génétique, que les arguments bibliographiques ou généalogiques sont en faveur d'un mode de transmission précis.

Le calcul du risque est simple quand l'affection obéit aux règles de l'hérédité mendélienne. Il peut devenir plus complexe dans certaines situations : maladie à expression tardive, pénétrance incomplète, les tests de diagnostics biologiques engendrent des faux positifs et des faux négatifs. Dans ces cas le calcul du risque repose sur l'utilisation des méthodes de probabilités conditionnelles (théorème de Bayes)

IV : DIFFICULTES ET PIEGES DU CONSEIL GENETIQUE

Dans certain cas, le conseil génétique est relativement facile à donner :

- Le diagnostic de l'affection en cause dans la famille est parfaitement établi.
- L'origine étiologique est déterminée sans ambiguïté (maladie acquise, pathologie chromosomique, maladie monogénique sans hétérogénéité ou locus morbide clairement identifié)

Dans d'autres cas, en revanche, la situation est beaucoup plus difficile :

- Le diagnostic est impossible à établir (le couple consulte pour des termes vagues : hypotonie, cécité, retard mental)
- Une hétérogénéité étiologique (une surdité peut être d'origine infectieuse, accidentelle ou génétique)
- Hétérogénéité génétique de la maladie : plusieurs modes de transmission et plusieurs gènes en cause (une rétinite pigmentaire peut être AD, AR, RLX et une vingtaine à ce jour de gènes en sont responsables)
 - La pénétrance de la maladie est incomplète
 - L'origine de la maladie est encore mal connue
 - Un mécanisme de transmission génétique inhabituel.

V : LES POSSIBILITES OFFERTES A UN COUPLE A RISQUE

- **Ne pas avoir d'enfant** : cette attitude est compréhensible pour les couples qui ont déjà eu des enfants sains et qui n'ont pas les moyens pour bénéficier des progrès de la médecine prédictive.

- **Avoir un enfant après un diagnostic prénatal**

- **Avoir un enfant avec un autre partenaire** : L'insémination avec donneur de sperme proposée dans les pays occidentaux est interdite par l'Islam.

- **Adopter un enfant**

- **Ne pas tenir compte du conseil**

Le choix du couple dépendra du risque estimé par le généticien mais certains facteurs modifient cette perception du risque. Ce sont :

- La gravité de la maladie, les possibilités thérapeutiques et le degré de l'handicap qu'elle entraîne

- Le nombre d'enfants sains du couple

- La possibilité d'un diagnostic anténatal

- Les considérations éthiques et religieuses

- Le vécu et les expériences personnelles du couple.

VI : CONSEIL GENETIQUE ET ETHIQUE

La transmission de l'information aux consultants sur le diagnostic, le pronostic et le risque de récurrence de l'affection qui les concerne doit se faire dans des termes appropriés au niveau culturel de chacun, en respectant les règles éthiques de la profession.

Le conseiller en génétique a pour obligation de donner toutes les informations utiles et actualisées aux couples ou à la personne qui consulte afin qu'il puisse faire des choix éclairés (**le droit à l'information**).

Une autre règle d'éthique est de ne pas révéler un risque potentiel, si ce n'est pour servir l'intérêt objectif du demandeur (**le droit de ne pas savoir**). Nombre d'informations peuvent

être destructrices si elles sont délivrées inutilement, au mauvais moment, au mauvais destinataire.

L'information ne peut être délivrée qu'à l'individu directement concerné et ne peut l'être à son conjoint ou à ses apparentés qu'avec son consentement.

LE DIAGNOSTIC PRENATAL

Précédé d'une consultation génétique qui en établit les possibilités mais aussi les limites, le diagnostic prénatal est un acte médical permettant de dépister in utero la présence d'anomalies foetales ou de maladies génétiques.

On évalue à environ 3% le nombre de fœtus viables qui présenteraient une anomalie sévère à la naissance. Le diagnostic de ces pathologies foetales conduit à une prise en charge particulière et parfois à une thérapeutique in utero.

Le diagnostic prénatal permet aux couples à risque d'envisager une grossesse puisqu'une alternative leur est offerte.

Le diagnostic peut être réalisé par imagerie médicale ou après prélèvement de liquide amniotique ou de tissus d'origine foetale selon la nature de l'anomalie recherchée.

I : L'ECHOGRAPHIE ANTENATALE

I-1 : L'échographie fœtale est une technique qui fait appel aux ultrasons pour examiner les tissus et les organes. L'examen se réalise dès le premier trimestre mais ce n'est qu'au second trimestre que l'on peut évaluer la morphologie fœtale de façon optimale, de préférence vers la 18^{ème} semaine de gestation.

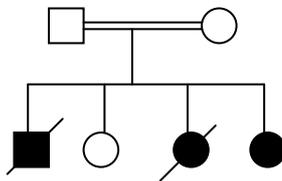


Echographie d'un fœtus à la 16^{ème} semaine de grossesse

I-2 : Imagerie par résonance magnétique

1-3: Malformations fœtales dépistables par échographie au second trimestre de la grossesse

- **Malformations du système nerveux:** anencéphalie, encéphalocèle, hydrocéphalie, microcéphalie, myéломéningocèle, spina-bifida.
- **Cardiopathies congénitales :** anomalies vasculaires, défaut septal, défaut valvulaire.
- **Malformations gastro-intestinales :** absence de muscles abdominaux, atésie intestinale, hernie diaphragmatique, omphalocèle (hernie à l'ombilic de viscères abdominaux).
- **Malformations urogénitales:** agénésie rénale, hydronéphrose, reins polykystiques.
- **Malformations musculo-squelettiques :** absence de mouvements des membres, arthrogrypose, amélie (absence de membre), fractures, dysplasies osseuses, pied(s) bot(s)
- **Autres malformations :** brides amniotiques, kystes, jumeaux siamois.



Arbre généalogique d'un couple avec 3 enfants atteints du syndrome TAR
(Thrombopénie + agénésie radiale)

II : TECHNIQUES DE PRELEVEMENT DE TISSUS FŒTAUX

II-1 : L'amniocentèse

L'amniocentèse ou ponction de liquide amniotique est réalisée entre la 14^{ème} et la 15^{ème} semaine de grossesse. Elle est dite précoce si elle est réalisée vers la 12^{ème} semaine de gestation.

On prélève de façon stérile de 10 à 30 ml de liquide selon l'âge de la grossesse. Des cellules fœtales d'origine digestive haute et du système urinaire, de la peau et des membranes baignent dans ce liquide et sont récupérées par centrifugation pour analyses cytogénétiques, enzymatiques ou moléculaires.

L'amniocentèse est aujourd'hui une technique sûre, le risque de fausses couches est faible (moins de 0.5%) lorsque le praticien est expérimenté.

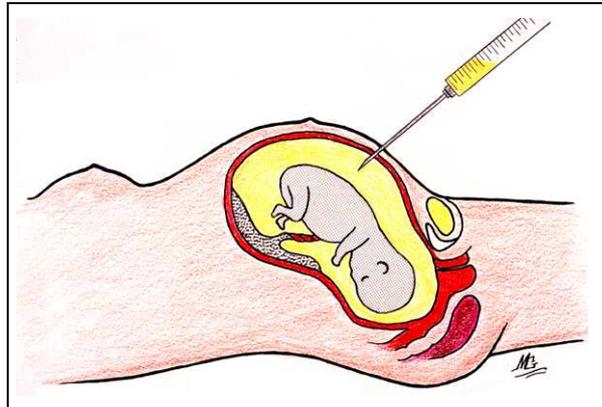


Schéma illustrant la procédure d'amniocentèse

II-2 : Biopsie chorale ou choriocentèse

Le prélèvement de villosités chorales, par voie transcervicale ou transabdominale, donne accès à des cellules fœtales dont plusieurs sont en voie de division et peuvent être analysées dans les heures qui suivent le prélèvement.

Cette approche se fait dès la 10^{ème} semaine de grossesse et permet l'obtention d'un résultat en quelques jours ce qui, en cas d'anomalies, permet une interruption plus précoce de la grossesse

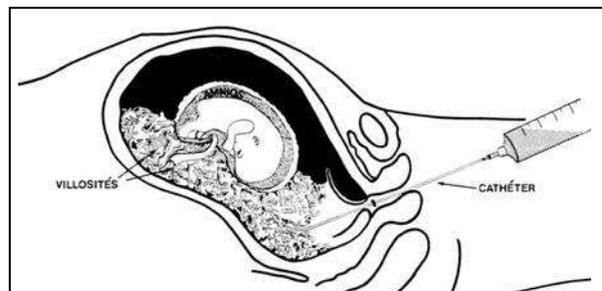


Schéma illustrant la procédure de biopsie chorale

II-3 : Cordocentèse (sang fœtal)

On peut prélever du sang du cordon sous guidage échographique vers 18-20 semaines. Cette voie d'accès reste d'application exceptionnelle (pathologies immunologiques et facteurs d'hémostase).

II-4 : Foetoscopie

La foetoscopie consiste à visualiser le fœtus, de préférence vers la fin du second trimestre, en introduisant dans l'utérus, par voie transabdominale et sous guidage échographique, un tube muni de fibres optiques permettant de pratiquer une biopsie ou d'autres manipulations chirurgicales. Pour des raisons évidentes de sécurité, cette technique invasive n'est que rarement utilisée en clinique.

II-5 : Cellules fœtales en circulation dans le sang maternel

La présence de cellules fœtales en circulation dans le sang maternel peut nous renseigner sur le génotype du fœtus. Cette approche pourrait révolutionner le diagnostic prénatal des maladies génétiques.

Le sexe foetal peut être déterminé en isolant des cellules du fœtus et en pratiquant une PCR spécifique de l'Y à partir de 6 SA (diagnostic de sexe dans les maladies récessives liées à l'X).

III : METHODES BIOLOGIQUES DE DIAGNOSTIC PRENATAL

III-1: Analyse phénotypiques (biochimiques et métaboliques rarement histologiques): dosages enzymatiques dans certaines maladies métaboliques, étude anatomopathologique dans certaines maladies dermatologiques.

III-2 : Le caryotype métaphasique

III-3 : Hybridation in situ en fluorescence. La FISH peut s'appliquer aux cellules fœtales au stade d'interphase. Elle pourra confirmer, dès le prélèvement du liquide amniotique, la présence d'un complément euploïde ou aneuploïde entre autres pour les chromosomes X, Y, 13, 18 et 21.

III-4 : Analyses moléculaires:

- **Recherche directe d'une mutation:** lorsque cette dernière est spécifique de la pathologie recherchée, situation rare (exemple la mutation Q6V dans la drépanocytose) ou lorsque la mutation à l'origine de la maladie dans la famille étudiée a été déjà identifiée.

- **Diagnostic indirect par utilisation de marqueurs génétiques après étude familiale.** Lorsque le gène clairement impliqué dans la maladie est localisé mais non encore cloné ou lorsque les mutations du gène responsable sont très hétérogènes et leur recherche dans chaque famille est techniquement lourde.

IV : LES INDICATIONS DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL

IV-1 : Les indications du caryotype fœtal:

- Age maternel avancé.
- Parent porteur d'un remaniement chromosomique équilibré.
- Antécédent d'un enfant avec une anomalie chromosomique.
- Signes d'appel en échographie: les signes d'appel en échographie sont des variations, notées au cours de l'examen, qui alertent l'examineur à la possibilité d'un développement fœtal anormal ou d'une maladie génétique.
- Marqueurs sériques maternels en faveur d'un risque élevé de trisomie 21.
- Instabilité chromosomique: Certains syndromes se manifestent par une instabilité de la structure des chromosomes (maladie de Fanconi, syndrome de Bloom). En appliquant les techniques appropriées de mise en culture des cellules foetales, ces syndromes peuvent parfois se prêter dans les familles à risque à un diagnostic prénatal.
- Diagnostic de sexe: dans les maladies récessives liées au chromosome X.

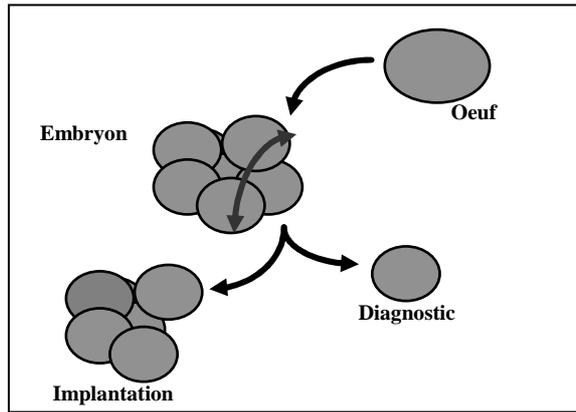
IV-2 : Les indications d'une étude de l'ADN

Théoriquement toutes les maladies monogéniques dont les gènes responsables ont été isolés ou localisés sur une région précise du génome et lorsque le problème de l'hétérogénéité clinique génétique a été résolu chez le couple demandeur.

V : PERSPECTIVES D'AVENIR

V-1 : Diagnostic pré-implantatoire

Le diagnostic pré-implantatoire a été introduit dans les techniques de procréation assistée en 1989. Il consiste en l'analyse d'une cellule prélevée d'un œuf fécondé au stade de 8 cellules. Cette technique est utilisée dans des grossesses à risque pour des maladies monogéniques et à la recherche d'anomalies chromosomiques avant l'implantation de l'embryon.



V-2: Le dépistage pré-conceptionnel

Le dépistage pré-conceptionnel implique la recherche d'anomalies au niveau des gamètes et de façon plus spécifique au niveau de l'ovule en utilisant le premier corps polaire des ovules en voie de maturation.

BASES GENETIQUES DE LA CARCINOGENESE

I- INTRODUCTION

Le cancer résulte d'une **croissance cellulaire non contrôlée**, avec un échappement à l'apoptose, une capacité d'induire une angiogenèse et une capacité d'invasion et de métastases.

C'est une **pathologie de l'ADN** par accumulation de mutations germinales et/ou somatiques, qui altèrent la fonction de certains gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire, les divisions cellulaires, l'apoptose, la réparation de l'ADN...

Le cancer est un processus **clonal** (les cellules d'une tumeur proviennent en général d'une cellule ancestrale unique, qui a accumulé des altérations géniques).

C'est un processus **multiétapes** impliquant plusieurs gènes, qui agissent **en coopération**.

Une grande hétérogénéité caractérise le développement des cancers avec des **facteurs génétiques et environnementaux** (agressions physiques, chimiques, virales...).

Les cancers peuvent être sporadiques ou avec prédisposition héréditaire.

- Les cancers **sporadiques** sont majoritaires (>90%) et sont dus à des mutations somatiques et se caractérisent par un début tardif, des tumeurs isolées et unilatérales.
- Les cancers dans le cadre des **syndromes de prédisposition héréditaire au cancer** (5% à 10%) sont de transmission autosomique dominante ou récessive. Il sont à début précoce avec des tumeurs qui peuvent être multiples et bilatérales.

II- LES GENES DU CANCER

II-1 LES PROTO-ONCOGENES ET LES ONCOGENES

Les proto-oncogènes contrôlent, à l'état normal, la division, la prolifération et la croissance cellulaire.

Ils codent pour des protéines impliquées dans les signaux de prolifération cellulaire, des facteurs de croissance, des récepteurs de facteur de croissance, des facteurs de transcription...

Une activation inappropriée (par une mutation ponctuelle, une translocation ou une amplification) **au niveau somatique essentiellement**, les transforme en **oncogènes**, qui vont échapper à leur système de régulation et peuvent induire un **cancer sporadique** en coopération avec d'autres systèmes. Le mode d'action des oncogènes est **dominant** au niveau cellulaire.

L'activation des proto-oncogènes peut se produire par plusieurs mécanismes:

- une mutation ponctuelle (délétion, insertion, substitution...)
- Une translocation comme la t(9;22)(q34q11) dans la leucémie myéloïde chronique et qui entraîne la fusion du protooncogène abl en 9q34 avec le gène bcr en 22q11. Le gène hybride bcr-abl code pour une tyrosine –kinase qui joue un rôle important dans la leucémogénèse.
- Une amplification génique par augmentation anormale du nombre de copies d'un gène ou d'une région chromosomique. Exemple l'amplification du proto-oncogène N-myc dans le neuroblastome.

Les syndromes de prédisposition héréditaire dus à une mutation germinale d'un proto-oncogène sont rares. Exemple :

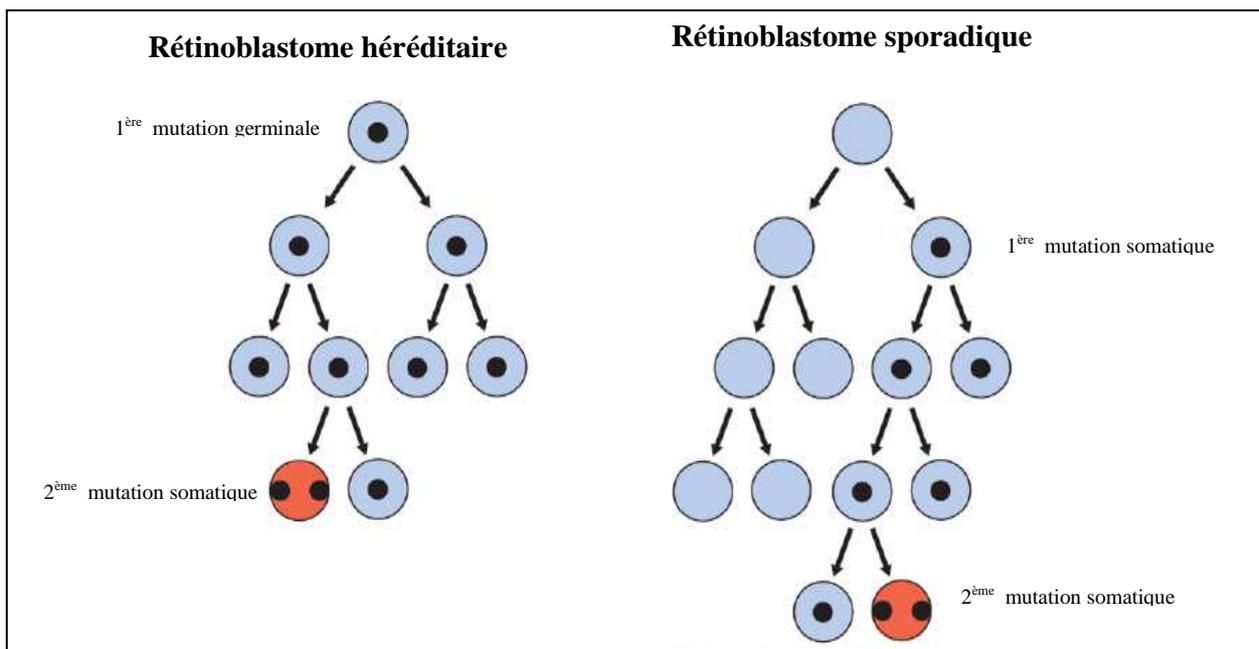
- Le proto-oncogène *RET* dans les néoplasies endocrines multiples
- Le proto-oncogène *CDK4* dans le mélanome malin familial
- Le proto-oncogène *KIT* dans le syndrome des tumeurs stromales gastrointestinales
- Le proto-oncogène *MET* dans le cancer papillaire rénal familial.

II-2 GENES SUPPRESSEURS DE TUMEURS OU ANTI-ONCOGENES

Les gènes suppresseurs de tumeurs ont été identifiés grâce aux formes héréditaires de cancers. A l'état normal, ils agissent comme un **frein à la prolifération cellulaire**. Leur inactivation favorise le développement des tumeurs.

Le mode d'action des anti-oncogènes est **récessif** au niveau cellulaire. Pour que la fonction d'un gène suppresseur de tumeurs soit perdue, il faudrait que 2 allèles soient inactivés par une délétion et/ou une mutation (Théorie du double événement mutationnel décrite par Knudson à partir du rétinoblastome).

Dans les formes sporadiques de cancer, les deux mutations sont acquises. Alors que dans les formes familiales: la 1^{ère} mutation est germinale et présente dans toutes les cellules de l'organisme, et la 2^{ème} mutation est acquise.



Exemples de gènes suppresseurs de tumeurs :

- Le gène **P53** (appelé gardien du génome), gène suppresseur de tumeur le plus inactivé dans les cancers humains (>50 %). Ses mutations germinales sont responsables d'un

syndrome rare de prédisposition héréditaire aux sarcomes du sein, os, poumon et tissus mous (Syndrome de Li-Fraumeni)

- Les gènes **BRCA1 et BRCA2** en 17p et 13p. Leurs mutations germinales sont responsables du syndrome de prédisposition héréditaire au cancer du sein et de l'ovaire de transmission autosomique dominante avec une pénétrance incomplète (80% à l'âge de 80 ans chez la femme) et une expression variable.
- Le gène **Rb** impliqué dans les formes sporadiques de rétinoblastome (mutations somatiques) et les formes familiales de transmission autosomique dominante (mutations germinales).

II-3 GENES INTERVENANT DANS LES SYSTEMES DE REPARATION DE L'ADN

Il existe plusieurs systèmes de surveillance et de réparation des erreurs de l'ADN. Lorsque un ou plusieurs de ces systèmes sont défectueux (par mutations de leurs gènes), il y a accumulation de mutations pouvant toucher l'ensemble du génome, et notamment les gènes impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire et induire ainsi des cancers.

II-3-1 Voies de réparation des lésions d'un seul brin de l'ADN

a- Réparation des bases malappariées lors de la réplication (MisMatch Repair/ MMR)

Le syndrome de prédisposition héréditaire au cancer colorectal non polyposique (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer/HNPCC) de transmission autosomique dominante est dû à des mutations germinales de l'un des gènes du système MMR (en particulier *MSH2*, *MLH1* et *MSH6*). Il représente près de 3% de l'ensemble des cancers colorectaux. Il se caractérise par une instabilité des microsatellites.

b- Réparation par excision d'une base anormale (Base Excision Repair/BER)

Le gène *MYH* est impliqué dans une forme particulière de **polypose colique** (*MYH* Associated Polyposis / MAP) de transmission autosomique récessive.

c- Réparation par excision de nucléotide (Nucleotide Excision Repair/NER)

Elle se fait selon 2 voies :

- Réparation globale du génome (Global Genome Repair/GGR) au niveau des régions non activement transcrites.
- Réparation couplée à la transcription (Transcription Coupled Repair) au niveau des régions activement transcrites.

Des mutations des gènes du système NER sont responsables de 3 syndromes génétiques rares: la **xeroderma pigmentosum**, le **syndrome de Cockayne** et le syndrome **trichothiodystrophie**. Ces maladies de transmission autosomique récessive, sont caractérisées par une photosensibilité. Seul le xeroderma pigmentosum prédispose à des cancers cutanés et oculaires.

II-3-2 Voies de réparation des cassures des 2 brins de l'ADN (Induites par les radiations ionisantes)

- Réparation simple par jonction non homologue des extrémités par la ligase IV (Non Homologous End Joining/NHEJ)
- Réparation par recombinaison homologue (Homologous recombination/HR)

Des mutations des gènes impliqués dans ces voies sont responsables de différents syndromes génétiques (Anémie de Fanconi, ataxie télangiectasie, syndrome de Bloom...) de transmission autosomique récessive sauf le Fanconi de type D qui est récessif lié à l'X.

II-4 LES GENES DU METABOLISME DES CARCINOGENES ENDOGENES ET EXOGENES

Il existe une **susceptibilité individuelle** aux carcinogènes endogènes et exogènes, qui est sous la dépendance de **polymorphismes génétiques de systèmes enzymatiques** impliqués dans différentes voies métaboliques (cataboliseurs lents/rapides). Exemples :

- Le Cytochrome P450 (CYP) = famille d'enzymes de la biotoxification des médicaments
- La Glutathion-S-transférase et la N-acétyltransférases: enzymes de la biodétoxification

II-5 LES ONCOMIRS (MI-ARN)

Les miARN sont des ARN simple brin non codants de 21 à 23 bases, qui interviennent dans la régulation post-transcriptionnelle et traductionnelle de divers gènes dont les gènes suppresseurs de tumeurs et les oncogènes, selon des processus complexes et non encore totalement élucidés.

II-6- LES TELOMERASES

Les télomères correspondent aux extrémités distales des bras court et long des chromosomes. Ils sont constitués par une répétition du motif TTAGGG des milliers de fois. A chaque cycle de réplication de l'ADN, les chromosomes se raccourcissent au dépend de leurs télomères. Après un nombre prédéfini de divisions mitotiques, et lorsque les chromosomes atteignent un certain degré de raccourcissement, les cellules arrêtent de se diviser et entrent en sénescence ou subissent une apoptose.

La télomérase est une enzyme à activité reverse transcriptase qui permet de maintenir la longueur des télomères. Elle est normalement réprimée dans les tissus sains, sauf pour les cellules souches. Elle est anormalement active au niveau des cellules cancéreuses, leur conférant une immortalité.