



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ ABBES LAGHROUR DE- KHENCHLA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DÉPARTEMENT: DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE



Mémoire

en vue de l'obtention de

MASTER

Académique en sciences Biologiques

OPTIONS: GÉNÉTIQUE

Thème:

**DIAGNOSTIC DU SYNDROME DE DOWN PAR
CYTOGÉNÉTIQUE CONVENTIONNELLE ET PAR LA
TECHNIQUE FISH**

Présenté Par :

HENTIZ AMEL

RAHALI RABAB

Soutenu le : 14/06/2025

Devant le jury :

Président	HABIBATNI S.	M.C.B	Univ. Abbes Laghrou KHENCHLA
Examineur	BOUAZZA L.	M.C.A	Univ. Abbes Laghrou KHENCHLA
Promoteur	HAMADA Y.	M.C.B	Univ. Abbes Laghrou KHENCHLA
Co-Promoteur	BENSAADA M.	M.C.A	Univ. Frères Mentouri Constantine 1

Remerciements

Avant tout, nous rendons grâce à Dieu Tout-Puissant pour Ses innombrables bienfaits, Sa guidance et Sa force qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadrant, Monsieur HAMADA YUCEF Enseignant chercheur université Abbes Laghrour-Khenchela-, pour ses précieux conseils, sa patience et son accompagnement tout au long de ce projet. Son soutien et son expertise ont grandement contribué à la réussite de notre travail.

Nous remercions également Monsieur Bensaada Mustapha, co-encadreur de ce mémoire, pour nous avoir accompagnés durant notre stage au sein du CRBT à Constantine. Sa disponibilité, son aide précieuse et son professionnalisme ont facilité notre intégration et enrichi notre expérience.

Notre reconnaissance et nos remerciements vont également aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre travail et d'y apporter leur regard critique et constructif.

Nous remercions chaleureusement l'ensemble du corps enseignants du département de Biologie Moléculaire et Cellulaire de l'Université Abbes Laghrour Khenchela pour la qualité de leur enseignement et leur passion communicative tout au long de notre parcours académique.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères à nos chers parents pour leur amour inconditionnel, leur soutien moral et leurs prières qui ont été une source constante de motivation et de réconfort.



Dédicaces

À ma chère maman ZAHRA, Que Dieu te protège et te comble de Sa miséricorde pour ton amour inconditionnel, tes sacrifices silencieux et ton soutien infini.

À mes enseignants respectés, Je vous exprime ma profonde gratitude pour votre accompagnement tout au long de mon parcours universitaire.

Vos efforts, votre disponibilité et vos conseils ont été d'une valeur inestimable.

À mes collègues de promotion, Merci pour votre esprit d'équipe, votre entraide et les souvenirs partagés durant toutes ces années d'étude.

À mes sœurs bien-aimées Malika, Kenza, Fahima et Yasmine, Merci pour votre tendresse, vos encouragements et votre présence rassurante à chaque étape de mon parcours.

À mes précieuses amies Rabab, Fatima et Sarah, Votre amitié m'a portée, vos paroles m'ont apaisée.

Une pensée particulière à Rabab, ma collègue dans ce travail de fin d'étude, pour ta collaboration, ta rigueur et ton engagement constant.

À mes chères voisines Manar et Sakina, Pour votre gentillesse, votre bienveillance et votre soutien au quotidien.

Et surtout à Walid, Pour ton soutien moral et matériel, ta confiance en moi et ta présence constante dans les moments les plus décisifs.

Ce travail vous est dédié, avec toute ma reconnaissance, mon affection sincère et mes prières les plus profondes.

Hentiz Amel



شكر و إهداء

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات، وبفضله وتوفيقه أنهيت هذا المشوار العلمي، فله الحمد أولاً وآخرًا، ظاهرًا وباطنًا.

➤ إلى نفسي... إلى تلك الروح التي تعثرت كثيرًا، لكنها لم تنكسر، إلى القلب الذي قاوم التعب، وواصل رغم كل شيء،

➤ إلى العقل الذي أبى إلا أن يبلغ الهدف، مهما طال الطريق إلى من كلل العرق جبينه ومن علمني ان النجاح لا يأتي الا بالصبر إلى من بذل الغالي والنفيس ومنه استمدت قوتي واعتزازي

أبي الغالي

➤ إلى من جعل الجنة تحت أقدامها وسهلت لي الشدائد بدعائها . إلى الانسانة العظيمة التي لطالما تمننت أن تقدر عينيها في يومي هذا

أمي الحبيبة

➤ إلى من شددت عضدي بهم فكانوا ينابيع ارتوي منها إلى أخواتي الغاليات

➤ كما اخص أختي التي لم تلدها أمي والتي تعبت معي : **نور الهدى**

➤ إلى من شاركني الطريق، فكان سندًا، و عونًا، ورفيقًا في كل الظروف.

إلى القريب لقلبي ن

➤ إلى من كان لي خير نصيح في هذا المشوار خالي الغالي.....كمال صحراوي.....

➤ إلى كل أستاذٍ علّمني حرفًا، فكان له في نجاحي نصيب، إلى أصدقائي وزملائي الذين شاركوني رحلة العلم والتحديات.

رحالي رباب



Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux.....	I
Liste des figures	II
Liste des Abréviations.....	III
Lieu de stage	IV
Introduction générale	1
Partie1	2
Synthèse bibliographique	2
Chapitre I : Généralités sur les chromosomes et les anomalies chromosomiques	3
1.1. Notions de chromosomes	3
1.1.1. Définition et structure des chromosomes.....	3
1.1.2. Nombre de chromosomes humains	5
1.1.3. La classification des chromosomes humains	6
1.2. Les Anomalies chromosomiques.....	7
1.2.1. Anomalies De Nombres	9
1.2.2. Anomalies De Structure.....	12
Chapitre 2 : La trisomie 21	20
2.1. Présentation	20
2.2. HISTORIQUE.....	20
2.3. Les causes de la trisomie 21.....	21
2.3.1. Trisomie libre et homogène	22
2.3.2. Les translocations réciproques	23
2.3.3. Les translocations robertsoniennes.....	25
2.4. Manifestations cliniques et complications associées.....	26
2.4.1. Dysmorphie faciale et signes physiques	26
2.4.2. Déficience intellectuelle et retard du développement	27
2.4.3. Malformations congénitales et pathologies associées.....	29
Partie2 : Diagnostic Du Syndrome	32
De Down Par Cytogénétique Conventionnelle Et Technique FISH	32
Chapitre III : Diagnostic cytogénétique de la trisomie 21	33
3.1. Diagnostic de la trisomie 21	33
3.1.1. Objectifs du diagnostic de la trisomie 21 (syndrome de Down).....	33
3.1.2. Facteurs de risque.....	33
3.2. Dépistage et diagnostic anténatal	34

3.2.1.	Dépistage anténatal de la trisomie 21	34
3.2.2.	diagnostic prénatal	35
3.2.3.	Absence de diagnostic prénatal	38
3.2.4.	Le diagnostic post natal.....	39
3.2.5.	Prise en charge médicale	39
3.3.	Caryotype conventionnel.....	40
3.3.1.	Objectifs	40
3.3.2.	Définition	40
3.3.3.	Principe du caryotype.....	41
Chapitre IV.	Diagnostic par hybridation in situ FISH	44
4.1.	Hybridation In situ (FISH)	44
4.2.	Types D'ISH.....	45
4.2.1.	Principe du Test FISH.....	45
4.2.2.	Types des sondes.....	45
4.3.	Principes de l'hybridation in situ par fluorescence	46
Chapitre V.	Matériel Et Méthodes	48
5.1.	Caryotype conventionnelle	48
5.1.1.	Matériel et échantillons requis	48
5.1.2.	Echantillonnage	49
5.1.3.	Prélèvements sanguins	49
5.1.4.	Culture cellulaire.....	50
5.1.5.	Etalement chromosomique.....	53
5.1.6.	Dénaturation et coloration.....	53
5.1.7.	Observation et lecture des lames.....	54
5.2.	La Technique Fish.....	55
5.2.1.	Etapes de la technique.....	55
5.2.1.1.	Prétraitement.....	55
5.2.1.2	Hybridation des échantillons	56
5.2.1.3.	Lavage	58
5.2.1.4.	Contre coloration des noyaux au DAPI.....	58
5.2.1.5.	Lecture.....	58
CHAPITRE VI :	Résultats et discussion.....	59
6.1.	Résultats des caryotypes.....	59
6.2.	Analyse complémentaire par FISH	59
6.3.	Résultat de la FISH.....	60
6.4.	Conclusion.....	60
CHAPITRE VII :	Comparaison entre le caryotype conventionnel et la technique FISH.....	61

6.1.	Comparaison entre caryotype conventionnel et technique FISH	61
6.2.	Utilisation en diagnostic prénatal et postnatal.....	62
6.3.	Rôle de la FISH dans le diagnostic postnatal et la détection rapide.....	62
7.	Conclusion	62
	Références Bibliographiques.....	63

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 1 :	Fréquences des anomalies chromosomiques chez les nouveau-nés au niveau mondial	10
Tableau 2 :	Techniques de coloration homogène en cytogénétiques	43
Tableau 3 :	Comparaison détaillée entre les méthodes de caryotypage et la technique de fluorescence in situ hybridization FISH.....	61

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 1:	Représentation schématique de la structure des télomères.....	4
Figure 2:	Chromosome métaphasique.....	5
Figure 3:	Subdivision d'un chromosome 21 en bandes et sous bandes (bande R).....	5
Figure 4:	Types de chromosomes.....	6
Figure 5:	Classification des chromosomes en fonction de l'indice centromérique.....	7
Figure 6:	Les anomalies chromosomiques selon l'époque de leur apparition.....	8
Figure 7:	Représentation schématique de la délétion terminale et intercalaire.....	13
Figure 8:	Représentation schématique d'un caryotype de la délétion.....	13
Figure 9:	Représentation schématique du chromosome en anneau.....	14
Figure 10:	Représentation schématique d'un caryotype de chromosome en anneau.....	14
Figure 11:	Représentation schématique de l'inversion péri centrique et inversion par acentrique.....	15
Figure 12:	Représentation schématique d'un caryotype de l'inversion.....	16
Figure 13:	Représentation schématique de la duplication intra chromosomique (dup).....	16
Figure 14:	Représentation schématique de la formation d'un iso chromosome.....	17
Figure 15:	Représentation schématique d'un caryotype iso chromosome.....	17
Figure 16:	Représentation schématique de translocation réciproque (t).....	18
Figure 17:	Représentation schématique de translocation robertsonienne.....	18
Figure 18:	Représentation schématique d'une insertion (ins).....	19
Figure 19:	Représentation schématique d'insertion.....	19
Figure 20:	Chromosomes d'une personne atteinte de trisomie 21.....	21
Figure 21:	les anomalies d la méiose pouvant entrainer une trisomie 21.....	22
Figure 22:	Translocation réciproque et trisomie 21.....	24
Figure 23:	Translocation robertsonienne et trisomie 21.....	25
Figure 24 :	La trisomie 21(syndrome de Down).....	26
Figure 25:	Pateint porteur d'un syndrome de Down.....	27
Figure 26:	Profil de l'âge maternel des trisomiques.....	33
Figure 27:	Schématique illustrant la procédure d'amniocentèse.....	36
Figure 28:	Schéma illustrant la procédure de biopsie chorale.....	37
Figure 29:	Caryotype de l'homme.....	41
Figure 30:	Schéma de l'hybridation in situ fluorescente.....	44
Figure 31:	types de sondes.....	46
Figure 32:	Principes de l'hybridation in situ par fluorescence.....	47
Figure 33:	Echantillon de sang veineux dans un tube contenant l'anticoagulant héparine.....	50
Figure 34:	Colcimide en solution.....	51
Figure 35:	Centrifugeuse.....	51
Figure 36:	Les solutions Méthanol Et Acide Acétique.....	52
Figure 37:	Solution purifiée.....	52
Figure 38:	étape de l'étalement.....	53
Figure 39:	La coloration et solution earle.....	54
Figure 40:	Cytoscan "Applied Imaging Cyto Visio.....	55
Figure 41:	Prétraitement par le 2XSSC te une série bains d'alcool 70%, 90% et 100%.....	55
Figure 42:	La sonde correspondant au centromère du chromosome 21 (cytovision).....	56
Figure 43:	Ajout de la sonde sur la lamelle (BOUCHRA., 2014/2015).....	56
Figure 44:	La lame échantillon sur lamelle, puis les sceller par de la colle.....	57
Figure 45:	Lhybridizer utilisé pour l'hybridation des sondes FISH.....	57
Figure 46:	AntiFade solution plus DAPI.....	58
Figure 47:	Caryotype du patient présentant une trisomie 21 comparé au témoin.....	59
Figure 48:	Analyse FISH sur noyau interphasique révélant une trisomie 21 chez une patiente d'ans.....	60

Liste des Abréviations

2

2X SSC: Saline-Sodium Citrate, 63

A

APP: Amyloid Precursor Protein, 40

B

B6: Souris de souche C57BL/6, 41

C

CCMR: Centre de Compétence Maladies Rares, 39

CRMR: Centre de Référence Maladies Rares, 39

D

DAPI: diamidino-2-phenylindole, 66

E

Earl: EBSS, 56

H

HSA21: Human Chromosome(Human Homo sapiens), 41

I

IL-6: Interleukin-6, 41

L

LAL: Leucémie Aiguë Lymphoblastique, 39

LAM: Leucémie Aiguë Myéloblastique, 39

M

MMU10: Mus musculus Chromosome 10 – Chromosome 10 de la souris (Mus musculus), 41

Ms1Yah: Monosomie 1 Yahuda – Nom d'un modèle murin porteur d'une monosomie spécifique, 41

N

NF-κB: Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, 41; Tumor Necrosis Factor alpha, 41

O

ORL: oto-rhino-laryngologique, 39

P

Prmt2: Protein arginine methyltransferase 2, 41

Q

Q-PCR: Quantitative Polymerase Chain Reaction – Réaction de polymérisation en chaîne quantitative, 41

R

RAGE: Receptor for Advanced Glycation End products, 41

RHG: Reverse Heat Giemsa, 56

RPMI: Roswell Park Memorial Institute, 50

RT-qPCR: Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction, 59

S

S100B: Protéine appartenant à la famille S100, 41

SOD: Superoxide Dismutase, 40

T

T21: trisomie 21, 31

TLR4: Toll-like Receptor 4, 41

Lieu de stage

Le Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) est un établissement public scientifique et technologique algérien, créé en 1999 et placé sous la tutelle du ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique. Situé à Ali Mendjeli, près de Constantine, il est le premier centre national dédié à la recherche en biotechnologie en Algérie.

Le CRBT joue également un rôle clé dans la formation des chercheurs, la valorisation des résultats scientifiques et la coopération internationale.

Le CRBT est structuré en cinq divisions de recherche, chacune composée de plusieurs équipes spécialisées

- Biotechnologie et Agriculture : génétique des plantes, amélioration des cultures.
- Biotechnologie et Santé : substances naturelles, pharmacologie, santé animale.
- Biotechnologie Alimentaire : microbiologie alimentaire, biomolécules d'intérêt.
- Biotechnologie et Environnement : bioremédiation, biodiversité, conservation.
- Biotechnologie Industrielle : modélisation, développement de bioprocédés

Chaque division comprend plusieurs équipes de recherche dédiées à des projets innovants dans leurs domaines respectifs. Le CRBT abrite actuellement 27 laboratoires de recherche, répartis entre ces cinq divisions. Ces laboratoires sont équipés pour mener des travaux de pointe dans les domaines de la génétique, de la biotechnologie, de la santé, de l'agriculture, de l'environnement et de l'industrie



Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT)

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Le syndrome de Down, ou trisomie 21, est une anomalie chromosomique congénitale caractérisée par la présence d'un chromosome 21 surnuméraire. Il s'agit de l'une des anomalies les plus fréquentes observées en consultation de génétique, avec une incidence d'environ 1 naissance sur 700 à 1 000 (Mai CT, et al, 2019), conduisant à un tableau clinique caractéristique associant retard mental, dysmorphie faciale et malformations congénitales. L'identification précise de cette anomalie chromosomique est essentielle pour le diagnostic, le conseil génétique et la prise en charge des patients et de leurs familles. (Mai CT, et al, 2019).

Cette aberration chromosomique a été décrite pour la première fois en 1866 par John Down qui a fait une description détaillée des personnes trisomiques. Puis, en 1959, Jérôme Lejeune et ses collaborateurs ont découvert l'existence d'un troisième chromosome sur le 21^{ème} paire chromosomique chez ces patients à l'origine du syndrome.

Le diagnostic cytogénétique de la trisomie 21 repose historiquement sur la cytogénétique conventionnelle, notamment par l'établissement d'un caryotype à partir des cellules en division. Cette méthode permet de visualiser le nombre et la structure des chromosomes et de détecter une trisomie libre, une translocation robertsonienne ou une forme en mosaïque du syndrome (Belmokhtar, R., & Kerfouf, A. (2014)). Bien que fiable, cette méthode nécessite un temps d'analyse relativement long (environ 7 à 10 jours) et peut présenter des limites dans les cas de mosaïques faibles ou de translocations cryptiques.

L'avènement de la cytogénétique moléculaire, et notamment de la technique FISH (Fluorescent In-Situ Hybridization), a permis de compléter et d'affiner le diagnostic. Cette technique rapide (24 à 48h) utilise des sondes fluorescentes spécifiques du chromosome 21, permettant une détection ciblée et sensible des copies du chromosome concerné, même en interphase. Elle s'avère particulièrement utile dans le cadre de diagnostics prénataux ou de situations urgentes, mais aussi pour la confirmation des résultats douteux du caryotype classique. Ainsi, la combinaison de la cytogénétique conventionnelle et des approches moléculaires telles que la FISH permet aujourd'hui d'assurer un diagnostic précis, rapide et fiable du syndrome de Down, tout en offrant une meilleure compréhension des mécanismes génétiques sous-jacents. (Eurofins Biomnis. (2016). Focus 56)

PARTIE1 :

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les chromosomes et les anomalies chromosomiques

1.1. Notions de chromosomes

Le mot « chromosome » a été introduit en 1888 par le scientifique allemand Waldeyer pour désigner des structures distinctes, colorées, présentes dans le noyau des cellules au moment où celles-ci se divisent (Scheuerlein et al, 2017). Ces chromosomes, qui ont une forme allongée rappelant un bâtonnet, se trouvent à l'intérieur du noyau de chaque cellule et jouent un rôle essentiel en tant que support matériel de l'information génétique ainsi que dans l'organisation des fonctions cellulaires. Ils sont composés d'ADN enroulé autour de protéines, formant ainsi la chromatine. Les chromosomes ne sont observables qu'au cours de la division cellulaire. Leur nombre est fixe et toujours pair dans toutes les cellules appartenant à un même individu, et ce, de manière identique chez tous les individus d'une même espèce (Keidia et al., 2020)

1.1.1. Définition et structure des chromosomes

Les chromosomes sont de petits organes en forme de bâtonnets constitués par de longues molécules d'ADN double brin associées à deux types de protéines, des protéines de type basiques ou protéines histones et des protéines de type acides ou protéines non histones.

Cet ensemble complexe d'ADN et de protéines est susceptible de changer de structure au fil du temps. Ils jouent un rôle fondamental dans le stockage, l'organisation et la transmission de l'information génétique.

L'ADN dans la chromatine n'est pas libre, mais il est intégré dans des structures faites à base de nucléosomes. Les nucléosomes sont des boules de 100Å de diamètre régulièrement entourées et régulièrement espacées par un fil de 20 Å de diamètre ou ADN double brin. (Jean et al., 2007)

1.1.1.1. La chromatine

Complexe nucléoprotéique formé d'ADN et de protéines (protéines histones et non histones). Entité dynamique, dont l'état varie en fonction des phases du cycle cellulaire. (Jean et al., 2007)

1.1.1.2. Le centromère

Chaque chromosome comporte une constriction primaire ou centromère qui unit les deux chromatides sœurs et fixe le chromosome au fuseau mitotique. De part et d'autre du centromère. Une chromatide présente un bras court ou bras p et un bras long ou bras q.

1.1.1.3. Les télomères

Les télomères sont situés aux extrémités des chromosomes. Les télomères sont des structures nucléoprotéiques très spécialisées, qui permettent de protéger les extrémités des chromosomes. Les télomères sont des régions très répétées, riches en GC, ce qui rend le double brin très stable. Il y a un raccourcissement des télomères à chaque division cellulaire (Figure 1). (William et al., 2006)

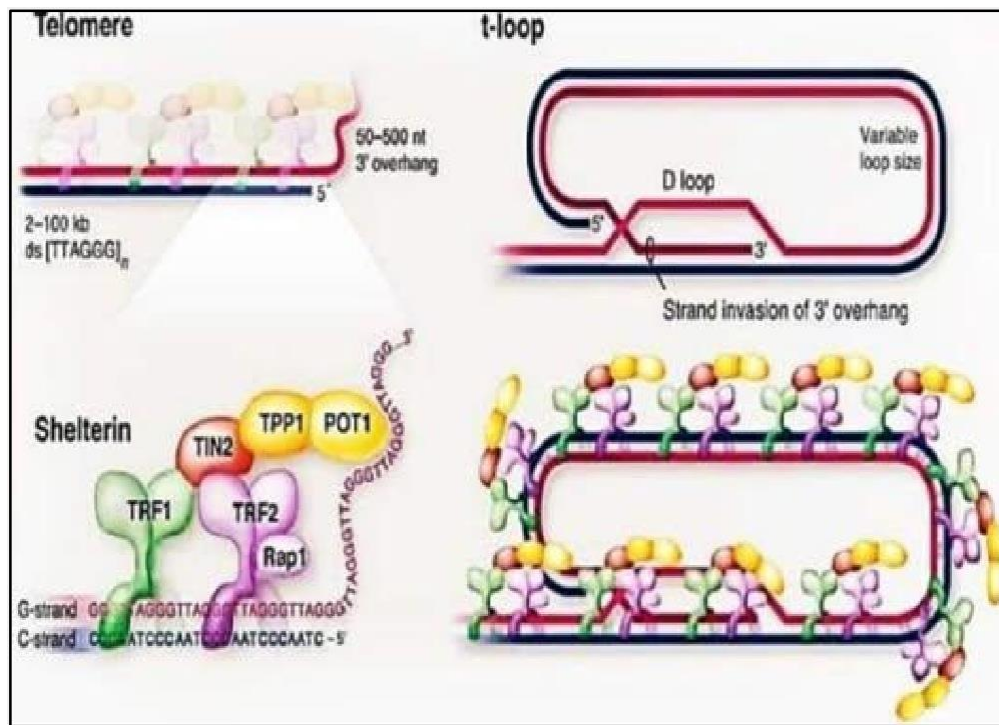


Figure 1 : Représentation schématique de la structure des télomères (Palm et al., 2008)

1.1.1.4. Bras chromosomiques

Les chromosomes métaphasiques (figure 2) sont souvent décrits comme ayant deux bras, un bras court (p) et un bras long (q), Chaque bras chromosomique est divisé en régions, notées de 1 jusqu'à 4 (pour certains chromosomes) en partant du centromère. Chaque région est divisée en bandes et chaque bande peut, si nécessaire, être divisée en sous bandes. Ainsi, un emplacement sera défini par le numéro du chromosome, Donc pour la précision d'une zone sur un chromosome, on utilise le numéro du chromosome, bras court ou bras long, région, bande, sous bande (Figure 3) Exemple : 21q22.3 : bras long du chromosome 21 région2, bande 2, sous bande 3 (Huret et al., 2000)

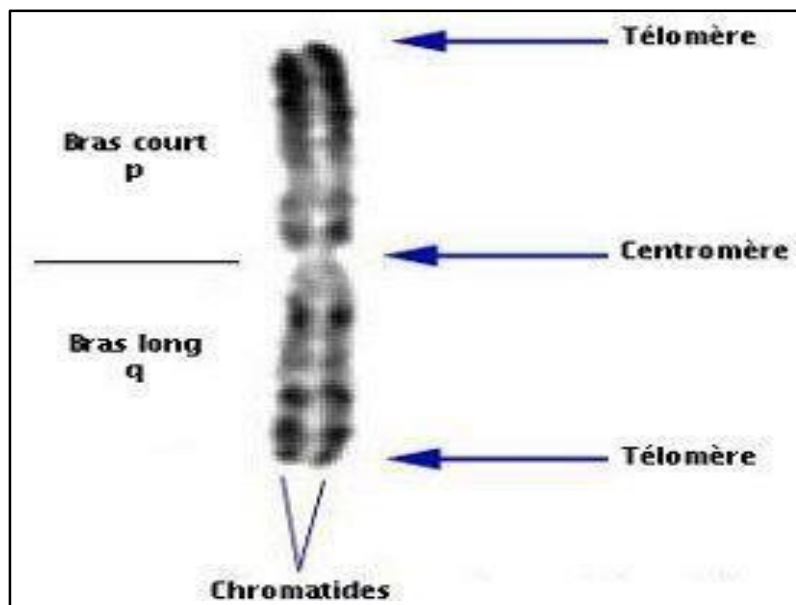


Figure 2 : Chromosome métaphasique (Huret J.-L. , 1997)

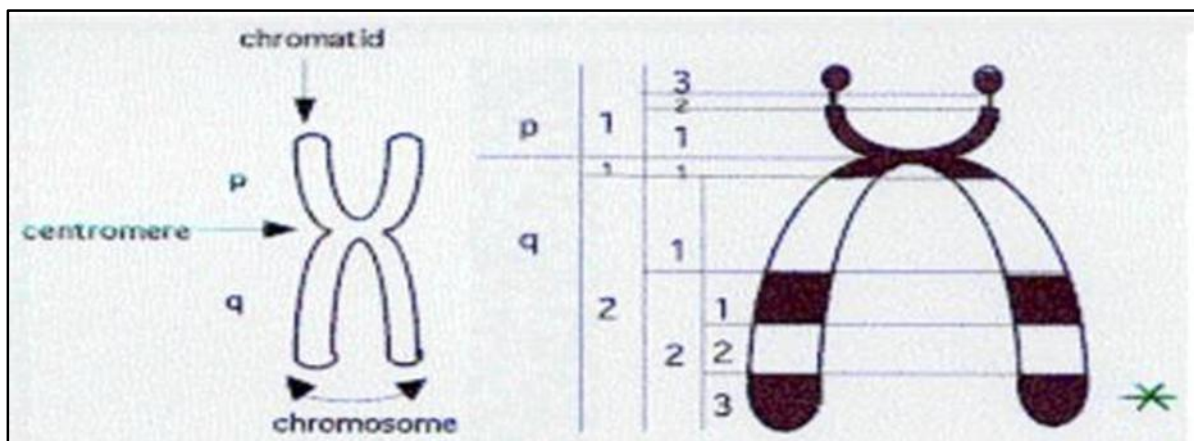


Figure 3: Subdivision d'un chromosome 21 en bandes et sous bandes (bande R) (Huret et al., 2000)

1.1.2. Nombre de chromosomes humains

Chaque espèce, animale ou végétale, présente un nombre spécifique de chromosomes, mais ce nombre est variable d'une espèce à une autre. Pour l'espèce humaine, ce nombre est de 46 chromosomes, classés de 1 à 22 (autosomes), et 2 chromosomes sexuels (X et Y). Sur ces 46 chromosomes, pour chaque individu, 23 ont une origine maternelle, apportés par l'ovule, et 23 une origine paternelle apportés par le spermatozoïde. (Hervé et al., 2014). Quel que soit le gamète, l'ovule ou le spermatozoïde, chacun apporte donc un chromosome sexuel. Celui-ci sera systématiquement un chromosome X pour l'ovule, un

chromosome X ou un chromosome Y pour le spermatozoïde. Le sexe est donc défini par le spermatozoïde après la fécondation (union de l'ovule et du spermatozoïde).

La seule différence chromosomique entre les hommes et les femmes réside donc dans la paire de chromosomes sexuels : les femmes présentent une formule chromosomique : 46, XX ; et les hommes : 46, XY (Harvey , et al., 2021).

1.1.3. La classification des chromosomes humains

La classification des chromosomes repose sur plusieurs critères, notamment leur taille, la position du centromère et la présence de bandes spécifiques après coloration. :

1.1.3.1. Classification selon la position du centromère

Selon la position du centromère encore appelé Index Centromérique : IC qui est calculée selon l'équation : $IC = \frac{\text{bras court}}{\text{bras court} + \text{bras long}} = \frac{p}{p+q}$, les chromosomes sont répartis sur trois principaux groupes :

- **Les chromosomes acrocentriques** : qualifie les chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22 dont le centromère est proche d'une extrémité. L'index centromérique est proche de 0 ($IC \approx 0$).
- **Les chromosomes métacentriques** : désigne un chromosome dont les bras p et q ont la même taille, le centromère est donc situé au milieu ($IC = \frac{1}{2}$) (chromosomes 1,3 et 20, x)
- **Les chromosomes sub-métacentriques** : désigne un chromosome comportant un bras court q dont la taille est inférieure à celle du bras long ($0 < IC < \frac{1}{2}$). La majorité des chromosomes humains sont contenus dans ce groupe. Chromosomes 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X,) (Lynn et al., 2004 et 2008).
- **Les chromosomes télocentriques** : chromosomes dont la bras court se résume aux télomères

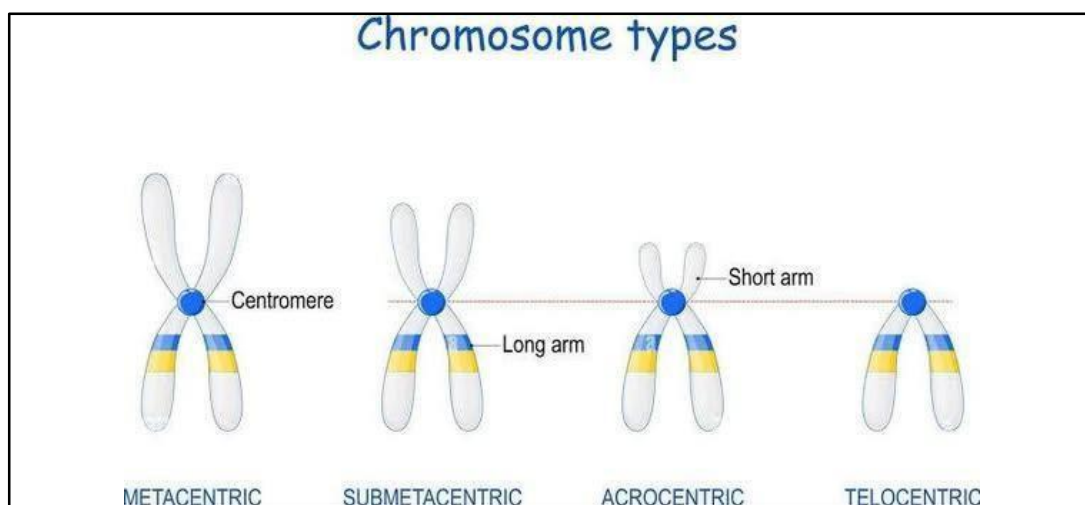


Figure 4 : Types de chromosomes (Zhabska, 2020)

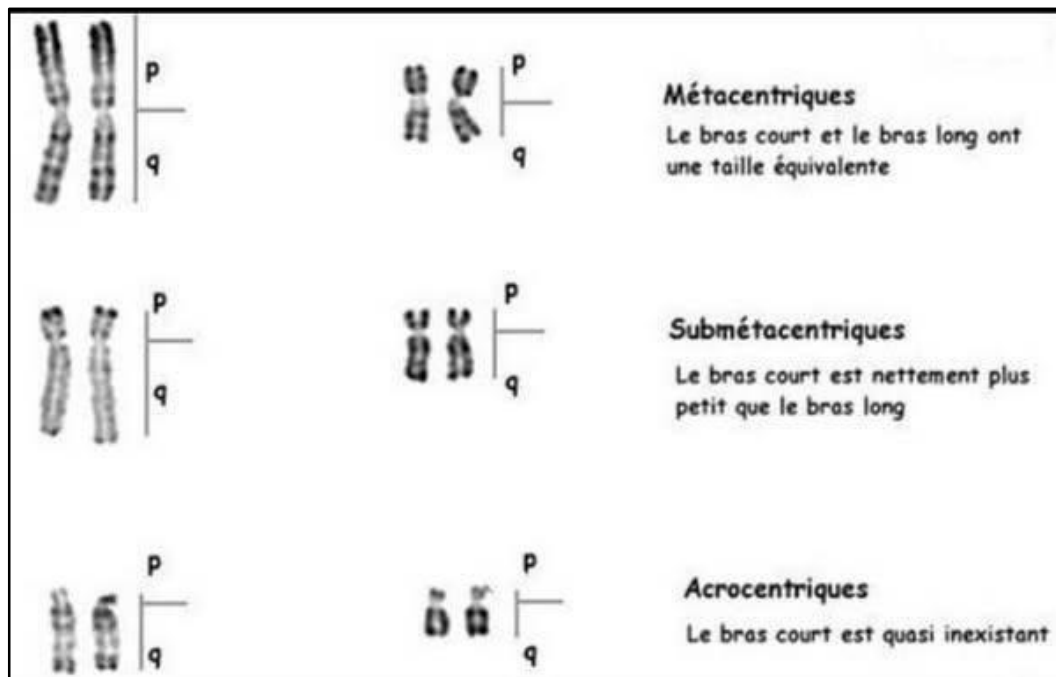


Figure 5 : Classification des chromosomes en fonction de l'indice centromérique (Shaffer et al., 2013)

1.1.3.2. Classification chromosomes humains par taille

Les autosomes humains en métaphase sont numérotés de 1 à 22 par ordre décroissant de taille, le plus long étant le 1. Les longueurs des chromosomes x et y sont différentes. L'identification des chromosomes sur le seul critère de la taille n'est pas très précise car plusieurs groupes de chromosomes présentent des tailles voisines. (Bensaada, 2019,2020)

1.2. Les Anomalies chromosomiques

Les anomalies chromosomiques sont des mutations rares qui entraînent des changements du nombre ou de la structure des chromosomes (Huret et al., 2000). Au niveau d'un individu donné ; tout changement par rapport au caryotype normal. Ces anomalies chromosomiques peuvent être constitutionnelles ou acquises, homogènes ou en mosaïque, de nombre ou de structure, équilibrées ou déséquilibrées.

La classification des anomalies chromosomiques se fait :

Selon leur nature :

- Les anomalies de nombre : affectent le nombre des chromosomes.
- Les anomalies de structure : impliquent une ou plusieurs cassures chromosomiques suivies d'une perte ou d'un réarrangement (recollement anormal) d'une partie du matériel génétique.

➤ **Selon l'époque de leur apparition :**

- **Les anomalies constitutionnelles** : se produisent avant la fécondation, dans l'un des gamètes des parents, ou bien lors des premières divisions du zygote.
- **Les anomalies acquises** : l'anomalie chromosomique se produit au cours de la vie d'un individu qui est né avec un caryotype normal.

➤ **Selon leur répartition dans l'organisme :**

- **Les anomalies homogènes** sont présentes dans toutes les cellules de l'organisme.
- **Les anomalies en mosaïque** ne touchent qu'une partie des cellules de l'individu.

➤ **Selon les modifications apportées au phénotype :**

- **Anomalies «non équilibrées»** : perte ou gain de matériel génétique (visible au caryotype classique) dont la conséquence est décelable au niveau du phénotype. (Huret et al., 2000).
- **Anomalies équilibrées** : on ne constate ni une perte ni un gain de matériel génétique.

Habituellement, ces anomalies n'ont pas d'effet phénotypique (Huret et al., 2000); sauf lorsqu'il s'agit d'une anomalie de structure, qui entraîne la cassure du chromosome au niveau d'un gène indispensable au développement normal. La conséquence est une maladie génétique correspondante (anomalie équilibrée au phénotype anormal). (Warburton, 1991)

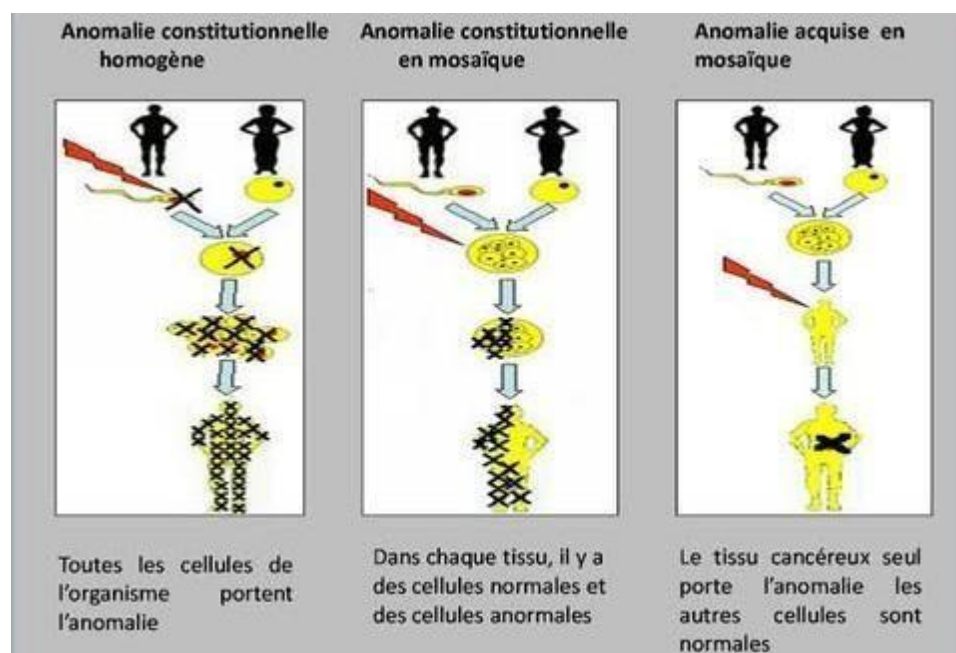


Figure 6 : Les anomalies chromosomiques selon l'époque de leur apparition (Abdeldjelil, 2022)

1.2.1. Anomalies de Nombre

Les anomalies de nombre sont des anomalies chromosomiques déséquilibrés qui affectent le nombre de chromosomes (Huret et al., 2000)

On distingue :

L'aneuploïdie

L'euploïdie

1.2.1.1. Aneuploïdie

L'aneuploïdie est caractérisée par la présence de chromosomes en plus ou en moins dans une paire de chromosomes. Elles résultent d'une mauvaise ségrégation des chromosomes au cours de la division cellulaire, les deux chromosomes homologues migrant tous les deux vers la même cellule fille. Le nombre de chromosomes dans les autres paires reste inchangé. (Lamoril J et al., 2008)

On distingue :

L'aneuploïdie par excès : qui correspond à un gain de chromosomes La formule chromosomique est :

- La trisomie $[2n + 1]$
- La tétrasomie $[2n + 2]$
- La pentasomie $[2n + 3]$ etc.

L'aneuploïdie par défaut : qui correspond à une perte de chromosomes

- La monosomie $[2n - 1]$
- La nullisomie $[2n - 2]$.

❖ Fréquences des aneuploïdies

➤ Fréquence des aneuploïdies autosomiques

Chez l'être humain, des trisomies complètes peuvent affecter n'importe quel chromosome autosomique, mais la majorité d'entre elles ne permettent pas le développement embryonnaire jusqu'à la naissance. Toutefois, certaines anomalies sont observées plus fréquemment chez les nouveau-nés, notamment :

La trisomie 21, responsable du syndrome de Down

La trisomie 18, à l'origine du syndrome d'Edwards

La trisomie 13, associée au syndrome de Patau (Haoud, 2019)

➤ Fréquence des aneuploïdies gonosomiques

Beaucoup plus fréquentes que les aneuploïdies autosomiques, elles peuvent concerner aussi bien le chromosome X que le chromosome Y.

Chez l'être humain, plusieurs anomalies chromosomiques liées aux chromosomes sexuels peuvent être observées dès la naissance. Parmi les plus courantes :

- Le syndrome Triple X (47, XXX) : il s'agit d'une femme possédant un chromosome X en trop.
- Le syndrome de Klinefelter (47, XXY) : l'individu est un homme avec un chromosome X supplémentaire.
- Le syndrome du double Y (47, XYY) : concerne un homme ayant un chromosome Y en excès.
- La monosomie X, ou syndrome de Turner (45, XO) : affecte une femme ne possédant qu'un seul chromosome X.

Il existe également des cas plus rares présentant un excès plus important de chromosomes X, comme les formules 48, XXXX ou 49, XXXXX.

Il est important de noter que plus le nombre de chromosomes X dépasse trois, plus le risque de retard mental augmente. (Haoud, 2019)

Tableau 1 : Fréquences des anomalies chromosomiques chez les nouveau-nés au niveau mondial (Thompson, 1995)

Principales anomalies	Incidence
Anomalies de nombre	
Trisomie 21	1/700
Trisomie 18	1/800
Trisomie 13	1/20 000
Syndrome de Klinefelter (47, XXY)	1/1000 garçons
Syndrome du double Y (47, XYY)	1/1000 garçons
Syndrome de Turner (45, X)	1/10 000 filles
Anomalies de structure	
Équilibrées	3.5/1000 (1/3 de novo)
Déséquilibrées	1.5//1000 (2.3 de novo)
Totale	Environ 0.7% de naissances vivantes

❖ Effets phénotypiques des aneuploïdies

Les effets des aneuploïdie dépendent de la taille du chromosome concerné et de sa nature : autosome ou gonosome.

➤ Effets phénotypiques des aneuploïdies autosomiques

Les aneuploïdies autosomiques ont toujours un effet grave sur le phénotype ; elles entraînent des malformations importantes.

Chez les humains, les seules trisomies observables à la naissance (13 ; 18 ; 21) concernent des chromosomes de petite taille. Les trisomies impliquant des chromosomes de grandes tailles entraînent la mort précoce de leurs porteurs ; car un chromosome de grande taille est porteur d'un grand nombre de gènes, dont l'expression entraine d'importants déséquilibres dans l'organisme.

-Les monosomies autosomiques complètes sont incompatibles avec la vie, elles sont éliminées très tôt dans la vie embryonnaire.

➤ Effets phénotypiques des aneuploïdies gonosomiques : Les conséquences des aneuploïdies gonosomiques sur le phénotype sont habituellement moins importantes, cela s'explique par :

- La petite taille du chromosome Y qui ne contient que très peu de gènes.
- Le principe de l'inactivation de tous les chromosomes X sauf un. (Abdeldjelil, 2022).

1.2.1.2. Euploïdie

Polyploïdies désignent une anomalie du nombre de jeux haploïdes complets de chromosomes. Chez l'être humain, le caryotype normal résulte de la réunion d'un jeu haploïde d'origine maternelle et d'un jeu haploïde d'origine paternelle, soit un total diploïde de $2n$ chromosomes. Plusieurs formes de polyploïdie ont été identifiées chez l'homme, notamment : La triploïdie ($3n$), caractérisée par la présence de 69 chromosomes avec des formules telles que 69, XXX ; 69, XXY ; ou 69, XYY. La tétraploïdie ($4n$), impliquant 92 chromosomes, comme dans les cas 92, XXXX ou 92, XXYY. Les polyploïdies homogènes sont, dans la majorité des cas, incompatibles avec la vie et entraînent une létalité précoce. Toutefois, certaines formes en mosaïque peuvent être viables temporairement. Ces anomalies surviennent le plus souvent lors de la fécondation, et plus rarement au cours de la gamétogenèse. On estime que de telles erreurs touchent environ 2 à 3 % des ovules fécondés (Huret et al., 2000)

❖ Fréquence des euploïdies

Chez les végétaux : la polyploïdie est très fréquente.

Chez les animaux : la polyploïdie viable est rare, à l'exception de quelques cas rencontrés chez certains lézards, amphibiens et poissons.

Les cas de polyploïdies chez les autres espèces sont incompatibles avec la vie : la majeure partie des cas meurent in utero, alors que de très rares grossesses polyploïdes aboutissent à la naissance d'individus vivants qui meurent au cours des premières heures ou jours de la vie, à cause de multiples malformations congénitales. - La monoploïdie existe chez certains insectes parthénogénétiques tels que l'abeille et la fourmi où les mâles monoploïdes sont issus de gamètes non fécondés. (Abdeldjelil, 2022)

❖ Effets de la polyploïdie sur le phénotype

On distingue deux conséquences majeures des polyploïdies :

- La stérilité : les spécimens présentant un nombre impair de lots de chromosomes ($3n$; $5n$; $7n...$) sont généralement stériles, ils fournissent un petit nombre de gamètes normaux, alors que la majorité de leurs gamètes ne sont pas viables.
- Effet de gigantisme : les spécimens euploïdes présentent un gigantisme cellulaire et morphologique.

Ces deux effets expliquent le grand intérêt des polyploïdes en agronomie. Les cellules des plantes polyploïdes sont plus grosses, ce qui se traduit par :

- Une augmentation de la taille de ces plantes avec des feuilles, fleurs, fruits plus développés.
- Une amélioration de la texture de leurs fruits, qui ont plus de contenu cellulaire et moins de paroi. Par ailleurs, la stérilité associée à la triploïdie est utile pour produire des fruits sans graines qui sont plus faciles à manger et ont meilleur goût (banane, cornichon). (Abdeldjelil, 2022)

1.2.2. Anomalies De Structure

❖ Mécanisme d'apparition

Les anomalies de structure sont des mutations qui résultent de cassures chromosomiques suivies par un ou plusieurs recollements anormaux. Elles peuvent affecter un chromosome ou deux chromosomes, parfois davantage. Elles peuvent être transmises (anomalie familiale) ou de novo. Elles peuvent être équilibrées ou déséquilibrées. (James et al., 2005,2012)

1.2.2.1. Anomalies portant sur un seul chromosome

➤ Délétion (del) On distingue :

La délétion terminale : elle résulte d'un seul point de cassure entraînant la perte d'un segment distal du chromosome.

Délétion intercalaire : elle résulte de deux points de cassures sur un même bras chromosomique entraînant la perte du segment intercalaire. (Berger, 2007).

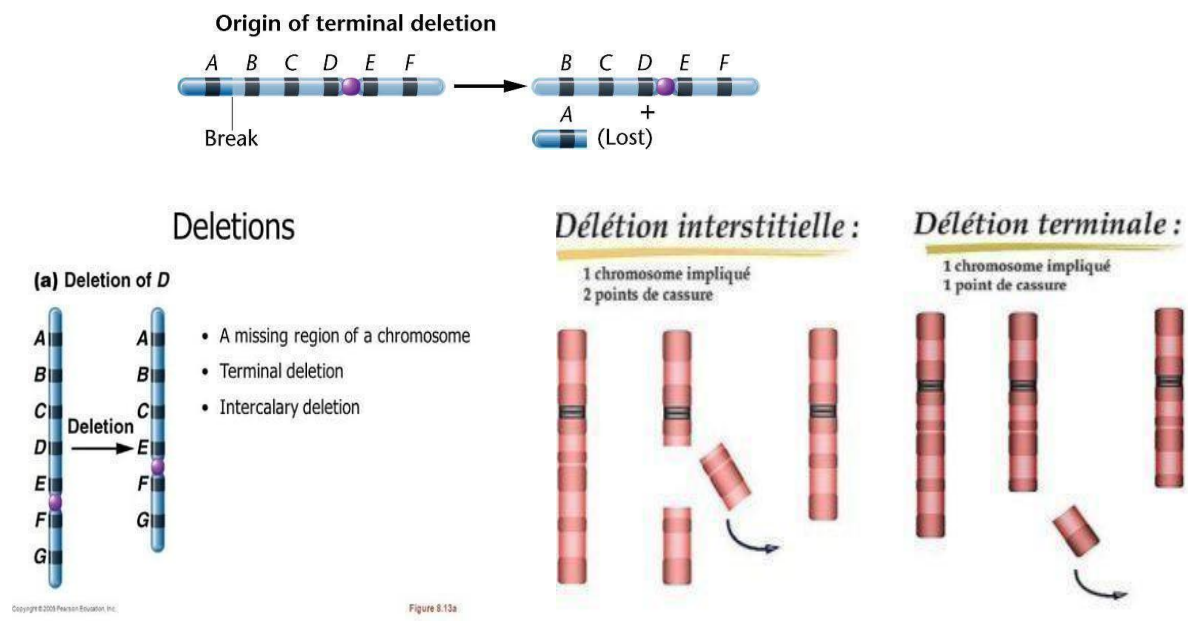


Figure 7 : Représentation schématique de la délétion terminale et intercalaire (Peter et al., 2000)

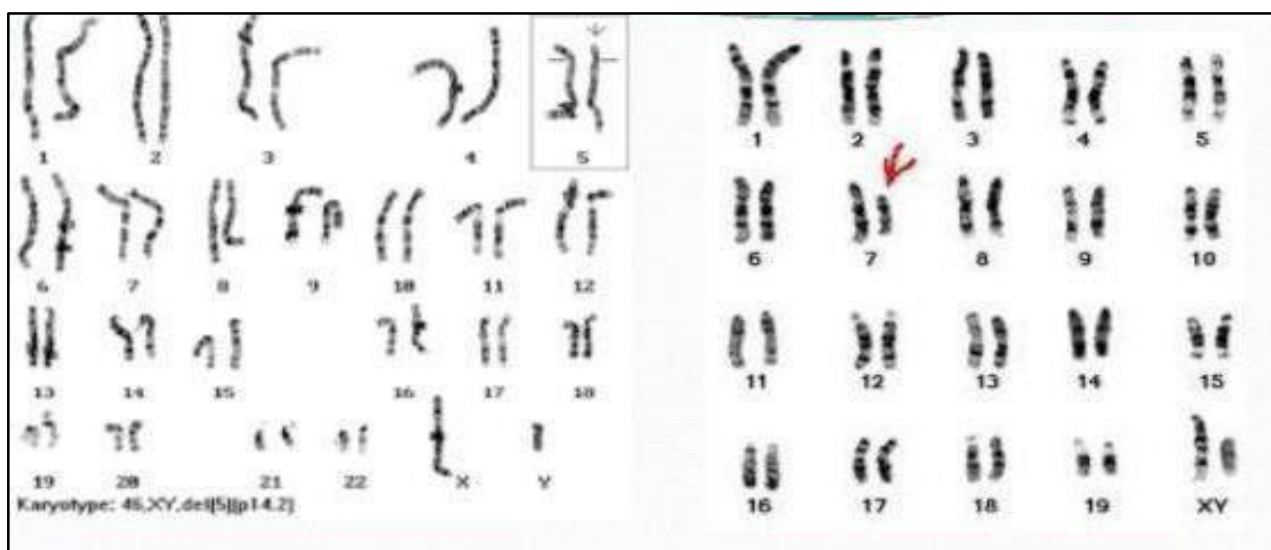


Figure 8 : Représentation schématique d'un caryotype de la délétion (Benaissa, s.d.)

➤ Chromosome en anneau (r) (ring en anglais)

Il s'agit d'un chromosome anormal de forme circulaire qui résulte de la délétion des segments distaux du chromosome, suivi d'une fusion des extrémités libres du bras court et du bras long (par absence de télomères). (Sanlaville et al., 2020)

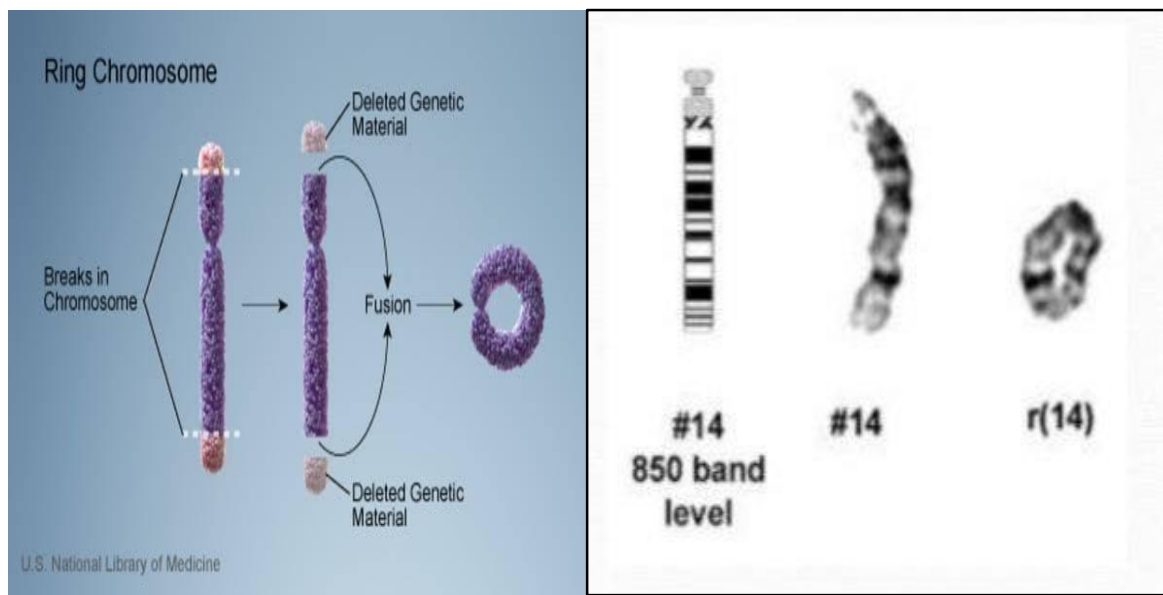


Figure 9 : Représentation schématique du chromosome en anneau (Benaissa, s.d.)

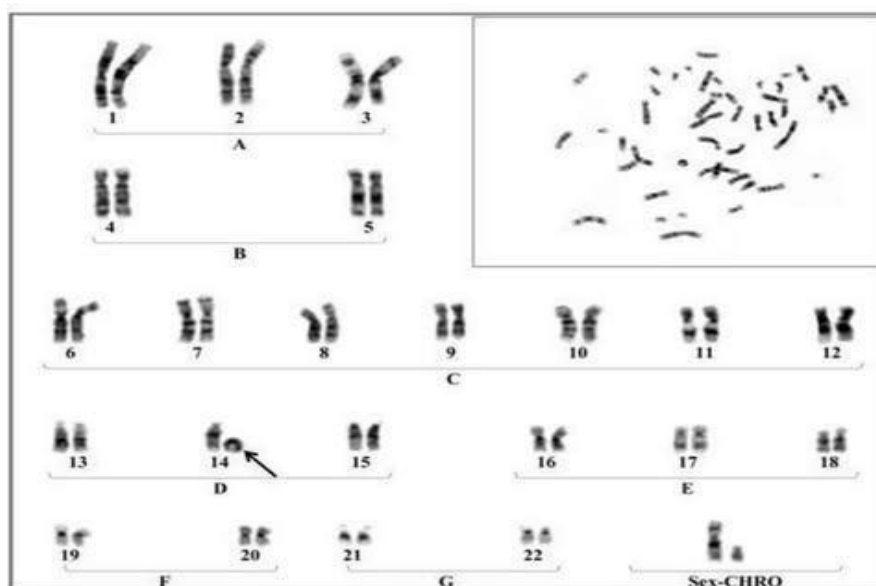


Figure 10 : Représentation schématique d'un caryotype de chromosome en anneau (Massoumeh et al., 2013)

➤ **Inversion (inv)**

Elle est due à deux cassures sur un même chromosome, suivies du recollement après inversion du segment intermédiaire.

On distingue :

- **Inversions péracentrique** : les deux cassures se produisent de part et d'autre du centromère (Nassiri, 2014)
- **Inversions paracentrique** : les deux cassures se produisent sur le même bras chromosomique. L'indice centromérique reste inchangé dans ce type d'anomalie, ce qui la rend indétectable par les méthodes d'analyse classiques. Seules les techniques de bandes chromosomiques permettent de la mettre en évidence (Nassiri, 2014)

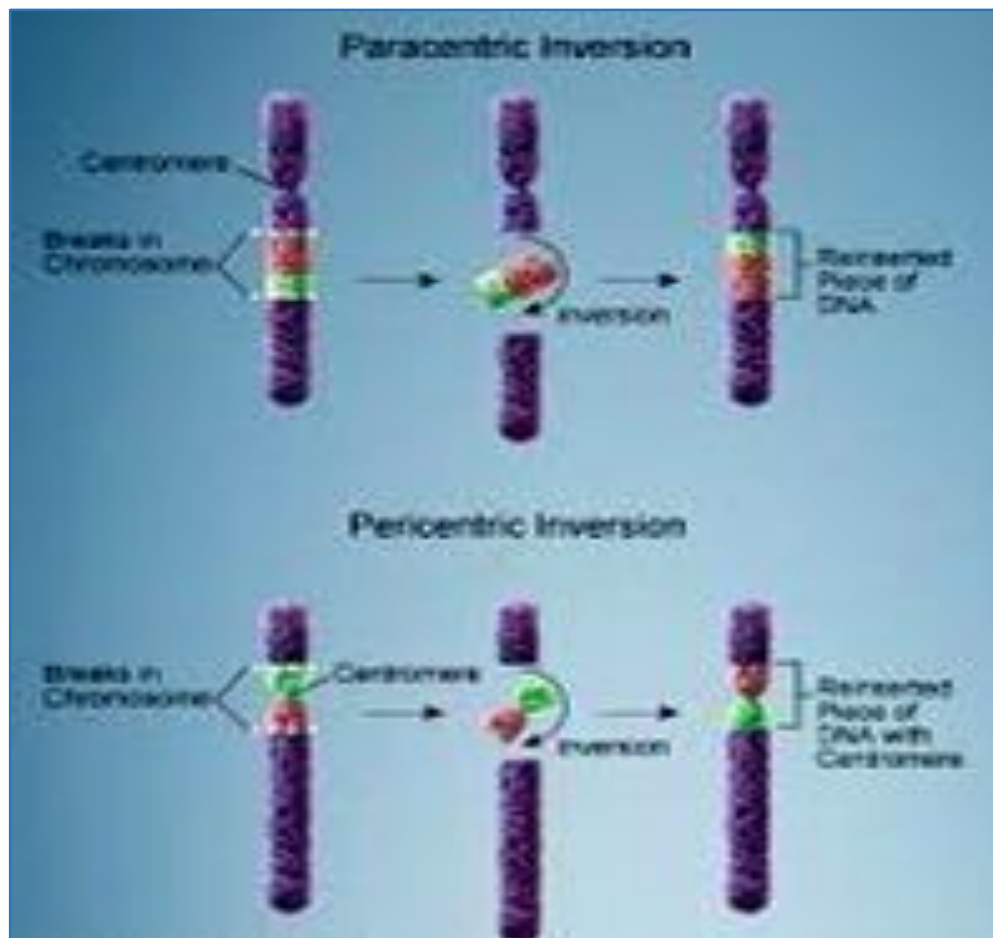


Figure 11 : Représentation schématique de l'inversion péri centrique et inversion para centrique (Wales, 2010)

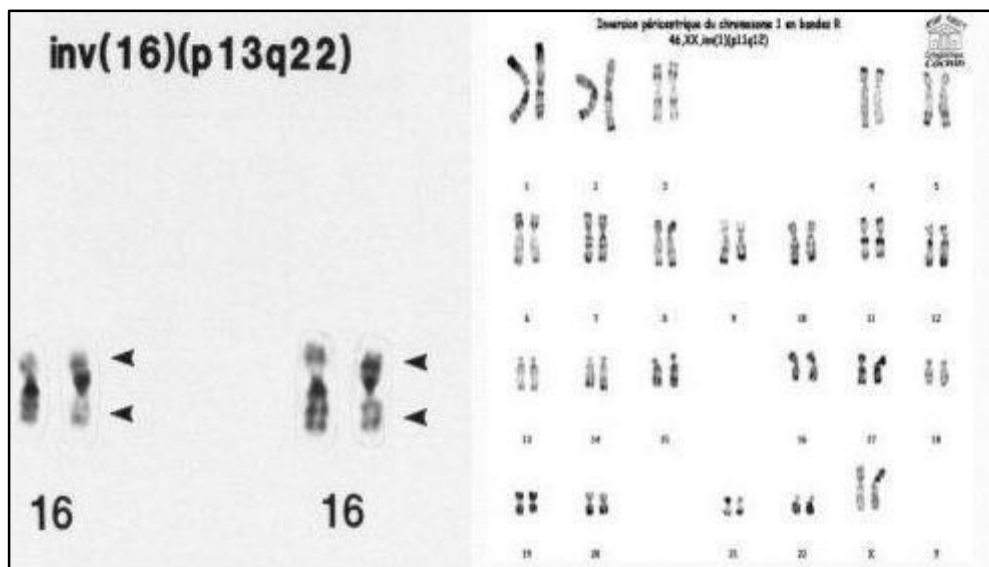


Figure 12 : Représentation schématique d'un caryotype de l'inversion (Benaissa, s.d.)

➤ Duplication intra chromosomique (dup) :

La duplication d'un segment de chromosome une ou plusieurs fois. Les duplications peuvent se produire au cours de la méiose, à la suite d'un crossing-over entre deux chromosomes homologues appariés (Huret et al., 2000) (Sanlaville et al., 2020)

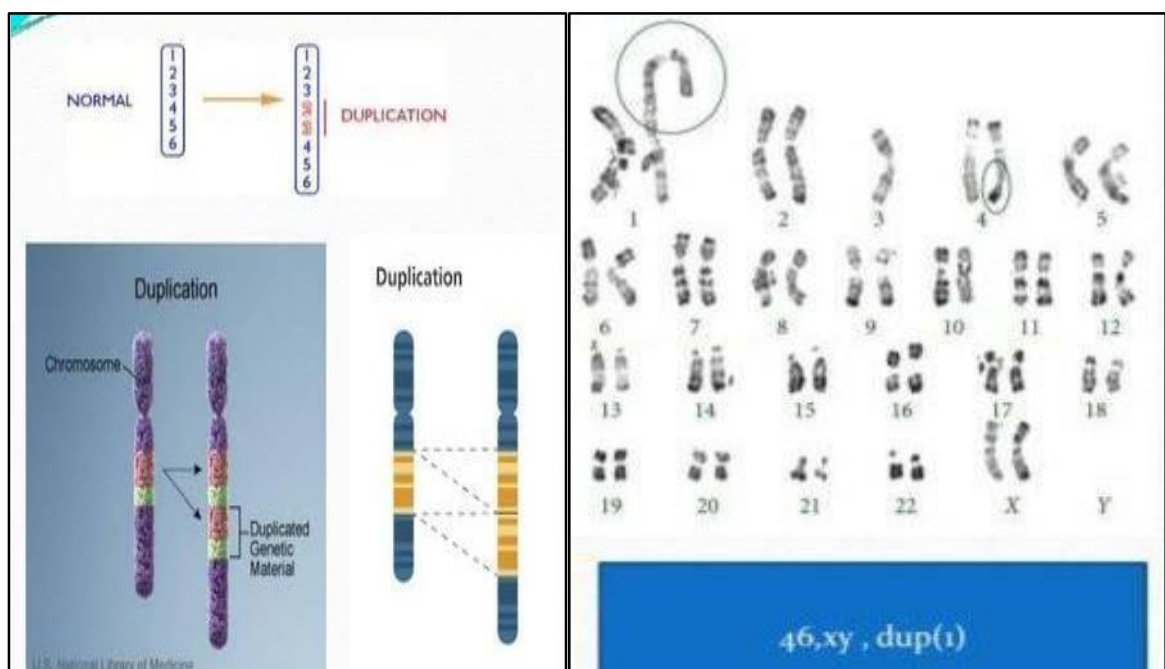


Figure 13 : Représentation schématique de la duplication intra chromosomique (dup) (Benaissa, s.d.)

➤ **Iso chromosome (i)** : Chromosome qui a perdu l'un de ses bras qui sera "remplacé" par la duplication de l'autre bras. Ainsi un iso chromosome est un chromosome anormal formé de deux bras longs ou de deux bras courts d'un même chromosome. x2. (Sanlaville et al., 2020)

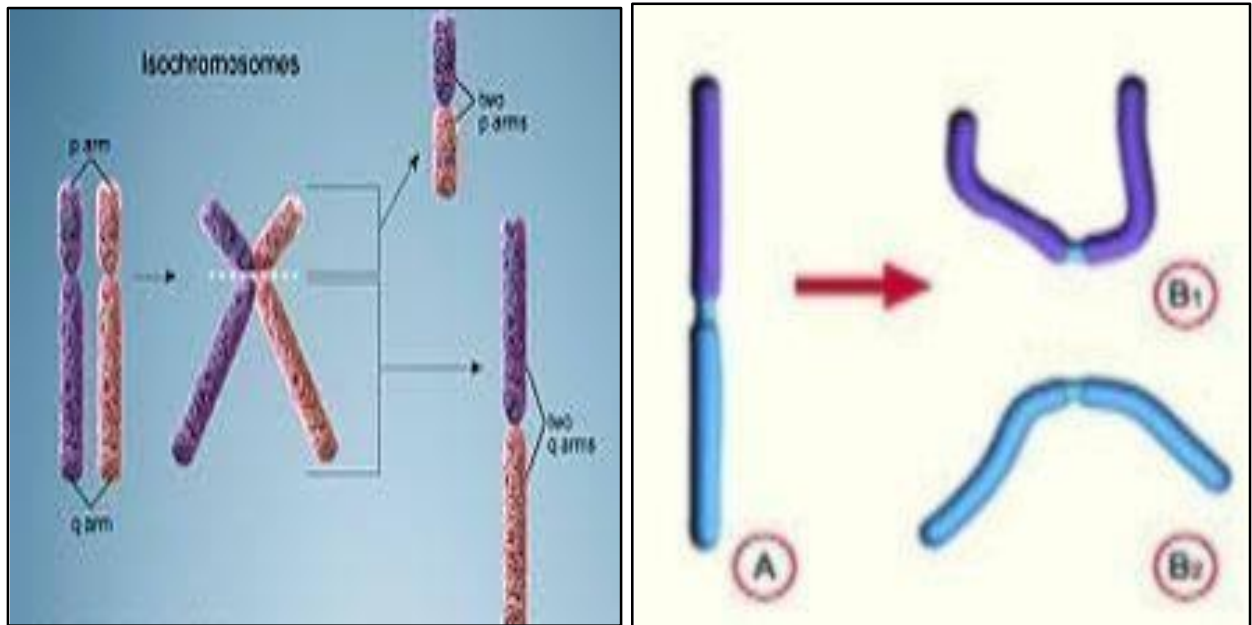


Figure 14 : Représentation schématique de la formation d'un isochromosome (Anonime, S.D.)

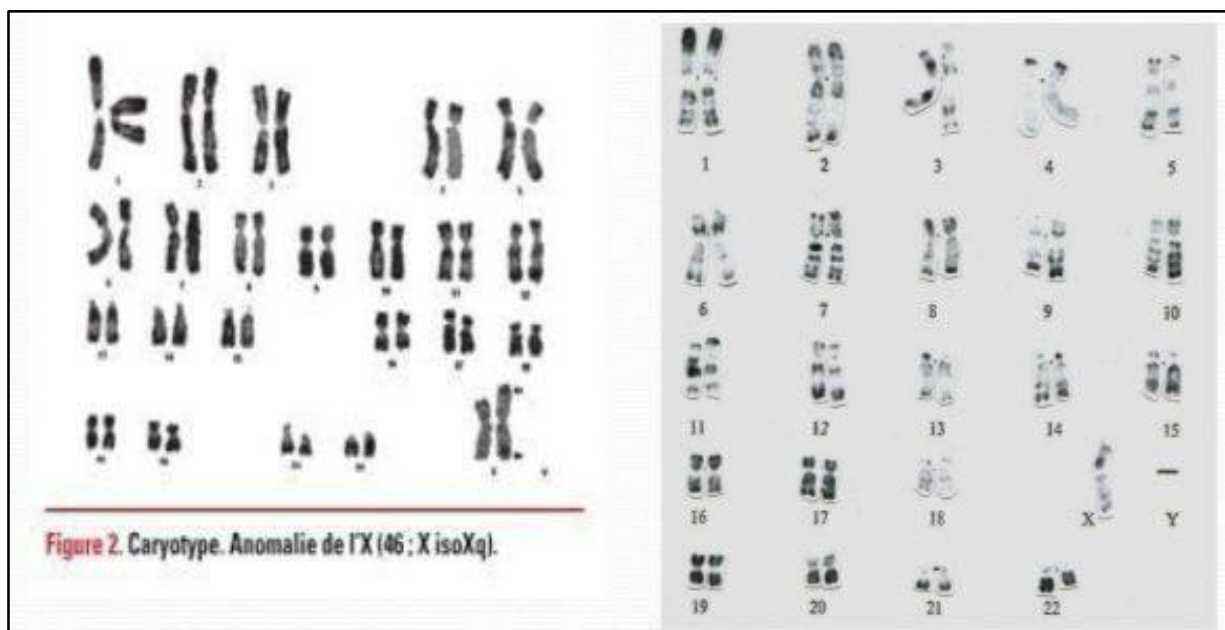


Figure 15 : Représentation schématique d'un caryotype iso chromosome (Benaissa, s.d.)

1.2.2.2. Anomalies portant sur deux chromosomes

Translocation On distingue deux formes majeures de translocations :

- Translocation réciproque
- Translocation robertsonienne

➤ **Translocation réciproque (t)** : Échanges de segments distaux entre deux chromosomes non homologues. Les translocations réciproques équilibrées peuvent impliquer n'importe quel chromosome. (Sanlaville et al., 2020)

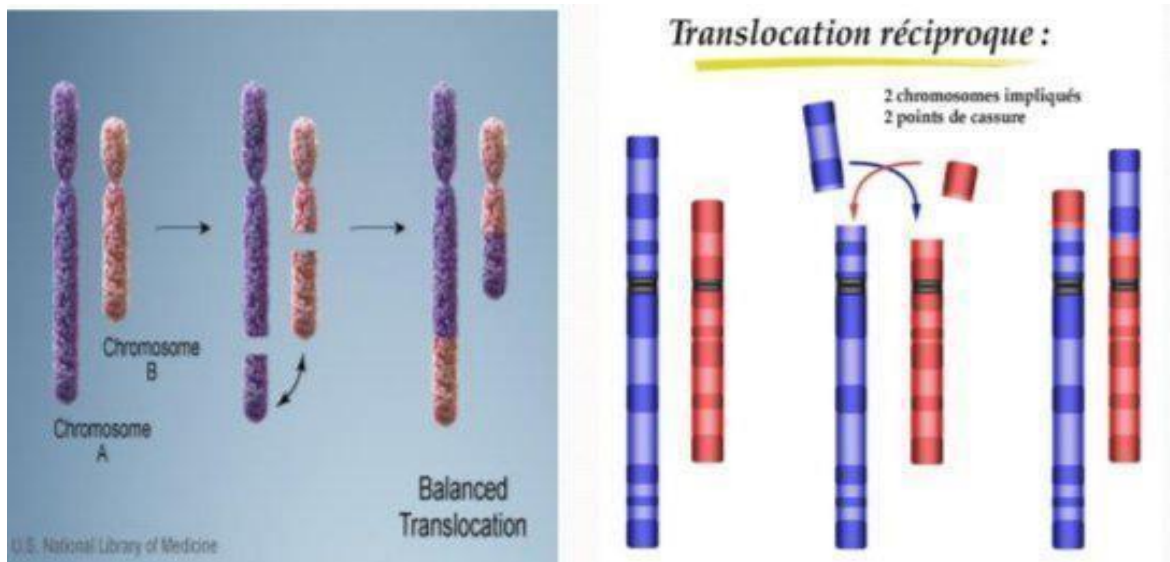


Figure 16 : Représentation schématique de translocation réciproque (t) (Anonime, S.D.)

➤ **Translocation robertsonienne (rob)** :

Fusion de deux chromosomes acrocentriques à proximité des centromères. (Huret et al., 2000)

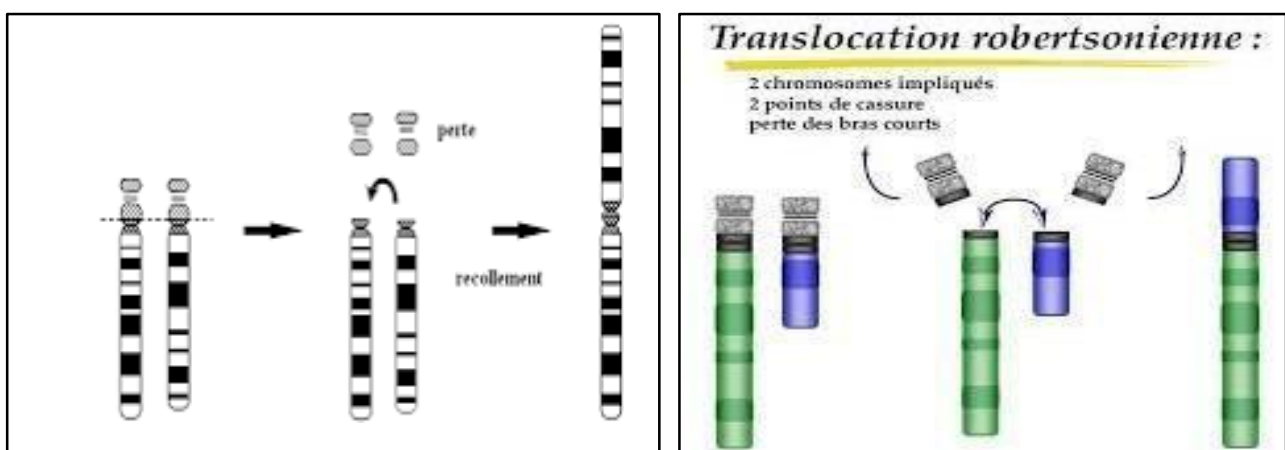


Figure 17 : Représentation schématique de translocation robertsonienne (Benaissa, s.d.)

Le chromosome qui en résulte comporte les bras longs des 2 acrocentriques fusionnés, alors que leurs bras courts sont perdus. On obtient alors un chromosome dicentrique (dic), possédant 2 centromères. L'un des 2 centromères est généralement inactivé afin d'éviter les problèmes de ségrégation lors de l'anaphase.

Les bras courts des chromosomes acrocentrique sont de très petite taille, et ils ne codent que pour des gènes répétés. Leur perte au cours de la translocation robertsonienne n'entraîne aucune conséquence clinique directe pour l'individu porteur. (Dimassi, 2016)

➤ **Insertion (ins)** : Un fragment de chromosome se casse et se réinsère à un autre endroit, soit sur le même chromosome (insertion intra chromosomique), soit sur un autre chromosome. (Benzacken, 2014)

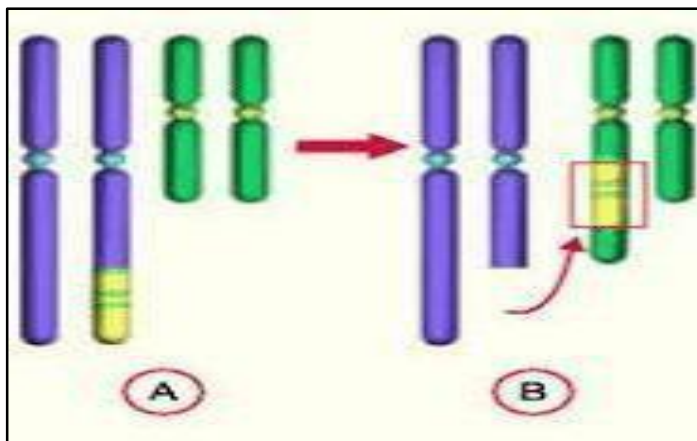


Figure 18 : Représentation schématique de l'insertion (ins)

(fragment sectionné d'un premier chromosome est inséré dans un autre chromosome.) (Benzacken, 2014)

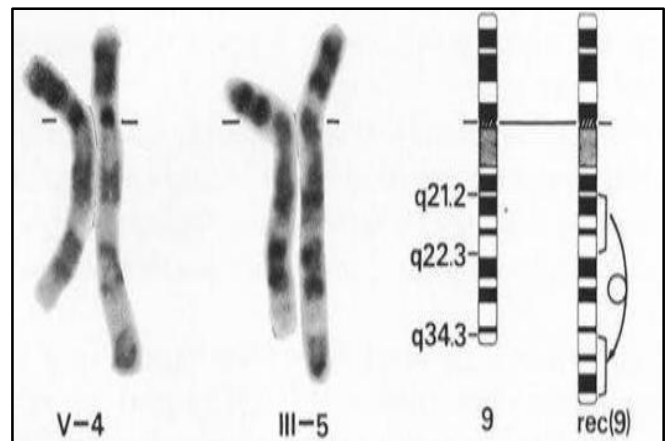


Figure 19 : Représentation schématique de l'insertion

Chapitre 2 : La trisomie 21

2.1. Présentation

Le syndrome de Down est une anomalie du chromosome 21, qui peut entraîner un handicap intellectuel, une microcéphalie, une petite taille et un faciès caractéristiques. Le diagnostic est suggéré par des malformations, un développement anormal et confirmé par l'analyse cytogénétique. La prise en charge dépend des manifestations et des anomalies spécifiques.

L'incidence globale aux États-Unis est d'environ 1/700 naissances vivantes (1), et le risque augmente progressivement avec l'âge maternel. Selon une grande étude, à 20 ans d'âge maternel, le risque est de 1/1466 naissances ; à 35 ans, il est 1/343 ; et à 40 ans, il est de 1/85 (2). Cependant, comme la plupart des naissances surviennent chez des femmes jeunes, la majorité des enfants qui ont un syndrome de Down naissent de mère de < 35 ans ; seuls environ 20% des nourrissons qui ont un syndrome de Down naissent de mère de > 35 ans. (Mai, 2019)

2.2. Historique

C'est à Jean-Etienne Esquirol, psychiatre français, que l'on doit la première description clinique d'un enfant porteur de la trisomie 21, dans son ouvrage publié en 1838 « Des maladies mentales considérées sous le rapport médical, hygiénique et médico-légal » (1), au chapitre consacré à l'idiotie. En 1846, Edouard Séguin, médecin français, complète la description de cette maladie dans « Traitement moral, hygiène et éducation des idiots » (2), maladie qu'il nomme crétinisme furfuracé en référence à l'aspect cutané des patients.

La description sur la base de caractéristiques cliniques provient du travail de John Langdon Haydon Down sur les groupes ethniques (3) : Down décrit un groupe de patients aux traits similaires à ceux du peuple mongol et pense que cette arriération mentale est la résurgence de caractères ancestraux asiatiques, à l'origine du terme inapproprié de « mongolisme » pour désigner la trisomie 21.

Il faut attendre presque un siècle pour que l'origine chromosomique de la trisomie 21 soit décrite. Dès 1956, sur l'hypothèse émise par Raymond Turpin de l'existence d'une anomalie chromosomique chez les « Mongoliens », Marthe Gautier, par des techniques de culture cellulaire, met en évidence la présence d'un chromosome surnuméraire. Avec l'aide de Jérôme Lejeune, ce chromosome surnuméraire est identifié : il s'agit d'un chromosome 21. C'est en janvier 1959, que l'équipe composée de Marthe Gautier, Jérôme Lejeune et Raymond Turpin, à travers l'analyse de caryotype d'enfants présentant un phénotype semblable qui détermine alors la trisomie 21 (4, 5). Pour la première fois est établie une relation entre génotype et phénotype.

Cette découverte française marqua la naissance de la cytogénétique humaine. Dans la foulée, les trisomies 13 et 18 furent identifiées, ainsi que le syndrome de Turner puis, avec l'amélioration des techniques de caryotype, des anomalies ne concernant qu'un bras ou une partie de chromosome, jusqu'à la description des syndromes microdélétionnels et l'identification d'anomalies dont la taille peut être inférieure à 100 kb (pour un génome de 3 000 Mb) par puce à ADN.

La trisomie 21 reste l'anomalie chromosomique responsable de déficit intellectuel la plus fréquente à la naissance, avec approximativement une naissance sur 800 (6). Le seul facteur de risque reconnu pour les trisomies 21 libres est l'augmentation de l'âge maternel : d'environ 1/1 000 naissances à 30 ans, la fréquence est de 1/100 à 40 ans (7). (Hervé, 2014)

2.3. Les causes de la trisomie 21

Dans environ 95% des cas, le syndrome de Down est causé par une non-disjonction, ce qui entraîne un chromosome 21 supplémentaire (trisomie 21), qui est typiquement d'origine maternelle (1). Ces sujets ont 47 chromosomes au lieu des 46 normaux. (Antonarakis, 1991)

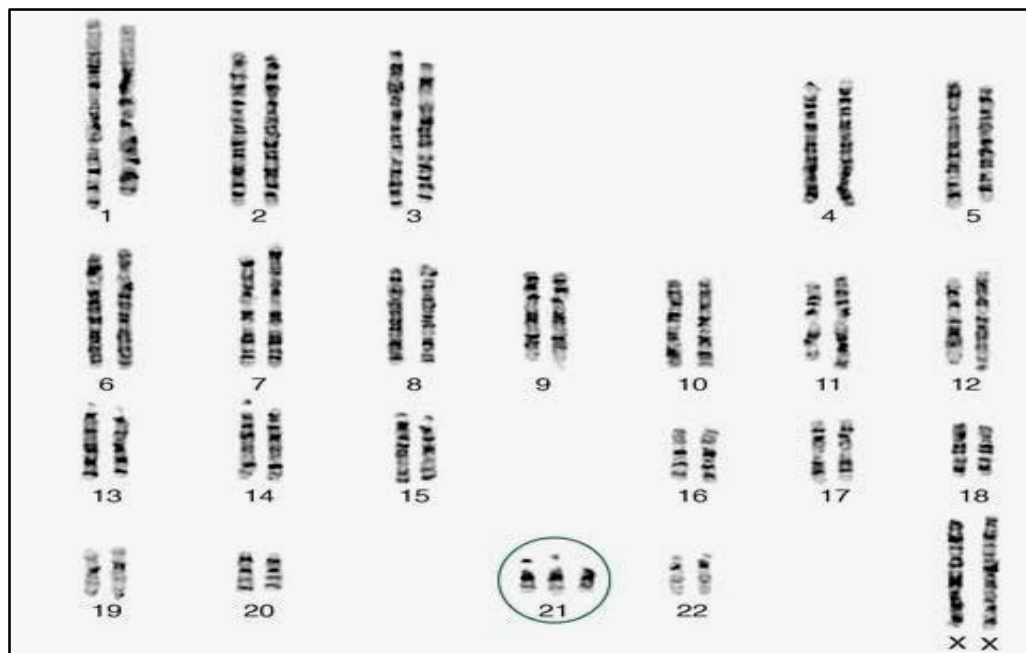
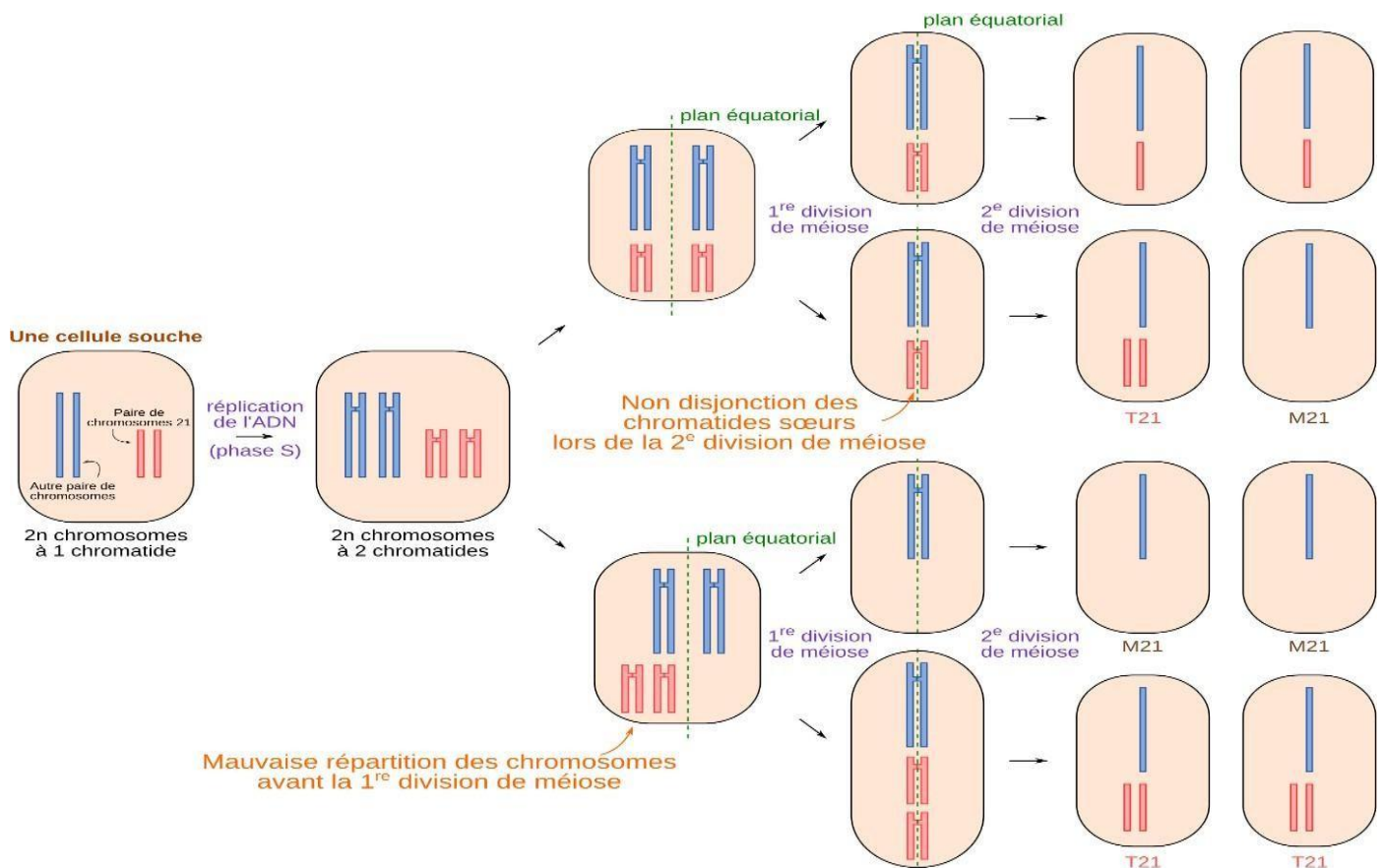


Figure 20 : Chromosomes d'une personne atteinte de trisomie 21 (Anonyme, 2020)

2.3.1. Trisomie libre et homogène

Dans sa forme la plus courante, la trisomie 21 se caractérise par la présence de trois chromosomes 21. En général, l'origine de cette trisomie est une fécondation entre un gamète possédant un chromosome 21 et un gamète possédant deux chromosomes 21. Dans la très grande majorité des cas, l'anomalie est portée par l'ovocyte. En effet, le vieillissement des ovocytes est à l'origine d'anomalies méiotiques favorisant la survenue d'une trisomie. Cet aspect physiopathologique explique que le risque de trisomie 21 soit directement lié à **l'âge maternel**.

Normalement, un gamète possède un seul chromosome 21. La présence de deux chromosomes 21, peut provenir d'une **non-disjonction** des chromosomes homologues (lors de la première division de méiose) ou des chromatides sœurs (lors de la seconde division de méiose). La trisomie 21 est alors dite **libre** et **homogène**. Libre, car il y a bien trois chromosomes 21, non liés à un autre chromosome, donc une formule à 47 chromosomes. Homogène, car l'ensemble des cellules du zygote porte la trisomie. Ces T21 libres et homogènes sont de novo, accidentelles, avec un risque de récurrence pour de futures grossesses estimé à 1 % de manière empirique (même aneuploïdie ou autre anomalie chromosomique, ainsi une T21 peut récidiver en T13 par exemple). (Furelaud, 2018)



Une trisomie 21 libre peut avoir d'autres causes :

Il est possible que l'un des deux parents soit déjà trisomique 21 : celui-ci transmet alors un ou deux chromosomes 21 à ses enfants.

Il est possible que la non-disjonction de chromosomes ait lieu lors d'une division de mitose :

Chez l'un des parents (non trisomique), lors de la division d'une cellule précurseuse des gamètes ;

Chez la personne trisomique, au tout début de son développement embryonnaire. Dans ce dernier cas, on assiste à une trisomie 21 **mosaïques** : seule une partie des cellules de l'individu sont trisomiques. Le phénotype des individus est variable, en fonction des organes touchés.

Le phénotype des trisomiques 21 s'explique par la présence en triple exemplaire de certains gènes portés par le bras long du chromosome 21. Par conséquent, d'autres anomalies chromosomiques que celles décrites jusqu'ici peuvent conduire à ce phénotype : il suffit pour cela que le bras long du chromosome 21 soit présent en triple exemplaire. C'est ce qui arrive en cas de translocation d'un chromosome 21 sur un autre chromosome. On observe alors une trisomie 21 non libre, avec une formule à 46 chromosomes. La translocation à l'origine de la T21 peut être réciproque ou robertsonienne (Furelaud, 2018)

2.3.2. Les translocations réciproques

Dans le cas de la translocation réciproque (Figure), il y a un échange de matériel entre deux chromosomes. Cela peut concerner n'importe quel autosome ou gonosome. Ainsi, en cas de translocation réciproque 7;21, un fragment terminal de chromosome 7 est échangé contre un fragment terminal de chromosome 21. On se retrouve donc avec un chromosome 7 tronqué et ayant hérité d'un morceau de 21, et un chromosome 21 tronqué ayant hérité d'un morceau de chromosome 7. Ces chromosomes sont appelés « dérivés de translocation ». Bien sûr, ils sont en paires avec, respectivement, un chromosome 7 normal, et un chromosome 21 normal. L'individu porteur de cette translocation réciproque, porte 46 chromosomes. Il est en bonne santé, car tout le matériel chromosomique est présent en quantité normale, mais « mal rangé », ce qui n'occasionne pas de phénotype particulier. On parle de translocation équilibrée.

En revanche, en cas de grossesse il y a un risque important de transmission d'une anomalie chromosomique déséquilibrée. L'individu peut en effet transmettre son chromosome 7 anormal et son chromosome 21 normal. Dans ce cas on a donc un zygote qui porte trois fois le même fragment de chromosome 21 (celui de chacun des deux chromosomes 21 et celui présent sur le chromosome 7). Cet individu a une trisomie 21 partielle, mais également une monosomie partielle du chromosome 7 (figure22).

Dans ces circonstances, le zygote n'aura pas de trisomie 21 partielle si et seulement si son parent lui a transmis ses chromosomes 7 et 21 normaux ensemble, ou ses chromosomes 7 et 21 remaniés ensemble. La genèse du déséquilibre est liée à la formation d'appariements non pas deux à deux des chromosomes homologues lors de la méiose, mais 4 à 4 (figure tétravalentes), avec donc 16 possibilités de disjonction. On comprend également que de nombreuses possibilités sont très déséquilibrées et donneront des fausses couches précoces. Ainsi ce type d'anomalie est en général héréditaire, transmis sur plusieurs générations, avec des problèmes de fertilité et des fausses couches à répétition.

Ces translocations peuvent être héritées d'un des deux parents ou bien se faire de novo, c'est-à-dire apparaître lors de la méiose chez l'un des deux parents, ou lors des premières mitoses de l'embryon. (Furelaud, 2018)

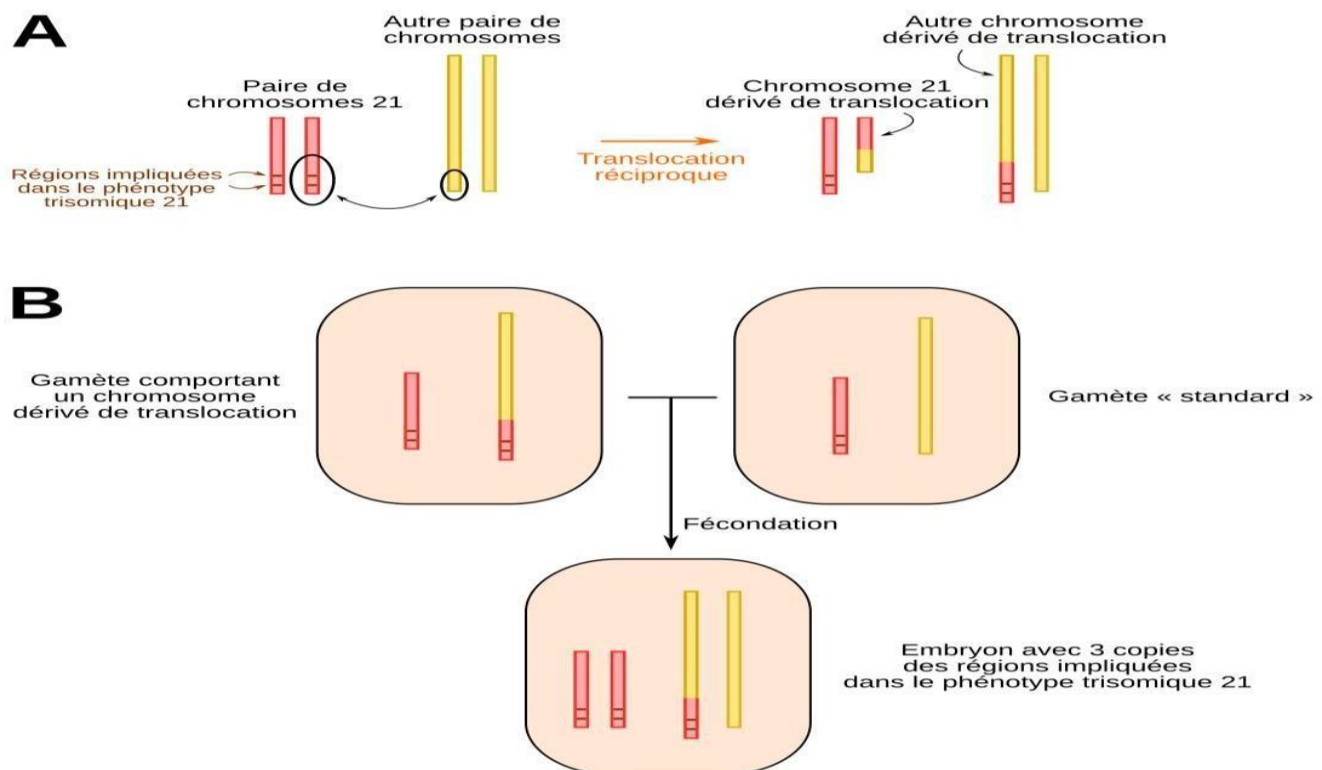


Figure 22 : Translocation réciproque et trisomie 21 (Furelaud, 2018)

2.3.3. Les translocations robertsoniennes

Un autre type de translocation existe, Il s'agit des translocations dites robertsoniennes : Dans ce cas on observe la fusion complète de deux chromosomes différents ; par exemple d'un chromosome 21 complet avec un chromosome 14 complet. L'individu porteur d'une telle translocation équilibrée, a donc 45 chromosomes et est en bonne santé (par exemple : 1 chromosome 21 + 1 chromosome 14 + 1 chromosome 14;21, soit 3 chromosomes au lieu de 4).

Tous les chromosomes ne peuvent pas donner de translocation robertsonienne.

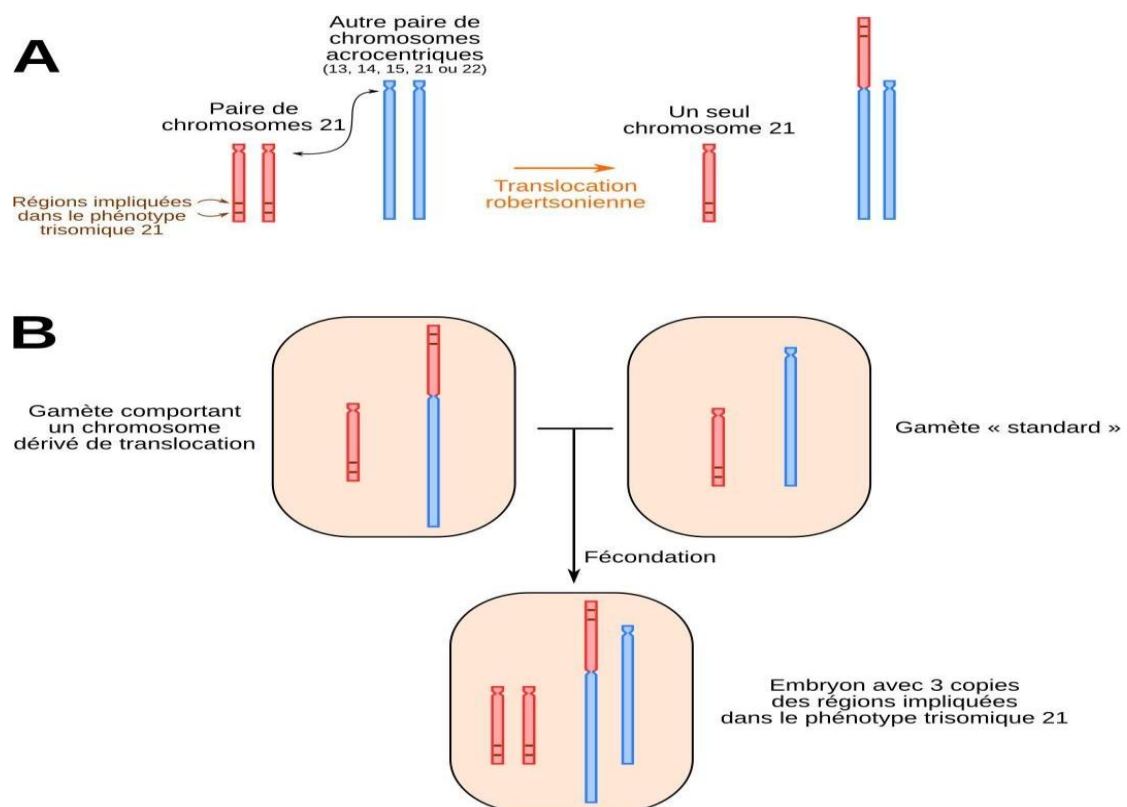


Figure 23 : Translocation robertsonienne et trisomie 21 (Furelaud, 2018)

Seuls les chromosomes acrocentriques sont concernés. Il y en a cinq dans l'espèce humaine, les chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22 (groupes D et G du caryotype). La particularité de ces chromosomes est d'avoir un centromère très « haut », avec un bras court (bras p), quasi inexistant, et porteur uniquement d'hétéro chromatine avec des séquences répétées (microsatellites) et dépourvues de gènes. Les bras courts ayant peu d'importance et étant relativement similaires d'un chromosome acrocentrique à un autre, ils peuvent être perdus et provoquer la fusion de deux chromosomes acrocentriques. Ainsi on peut observer

une translocation 13 ; 21 ou même 21 ; 21.

La transmission des translocations réciproques, lors de la méiose se forment des figures trivalentes, pouvant entraîner des déséquilibres lors de la disjonction et donc l'apparition d'une trisomie 13, 18 ou 21 selon la translocation à l'origine de l'anomalie. (Furelaud, 2018)

2.4. Manifestations cliniques et complications associées

2.4.1. Dysmorphie faciale et signes physiques

Les caractéristiques physiques du syndrome de Down sont typiques et comprennent :

L'occipital est plat, la tête est ronde. Les fontanelles sont souvent plus grandes et plus longues à se fermer que chez les enfants ordinaires. Le nez est petit et aplati car l'arête nasale est courte. Les yeux sont légèrement bridés et présentent un écartement, ce qui évoque un visage « pseudo-asiatique ». Les oreilles sont généralement petites, décollées et basses. Concernant la bouche, elle est relativement petite. La langue est de taille normale mais hypotonique, ce qui a pour conséquence une protrusion linguale. Les dents sont mal implantées. Le cou est court et épais. L'abdomen est généralement volumineux car l'enfant trisomique sollicite peu ses muscles abdominaux. Les mains ainsi que les doigts sont courts. L'auriculaire n'a que deux phalanges : il se recourbe donc vers l'intérieur. Il existe parfois également un pli palmaire. Les pieds sont petits et la voûte plantaire est plate. L'enfant porteur de trisomie 21 a souvent une taille et une croissance inférieure à la moyenne et l'obésité est fréquemment observée. (Valérie, 2014).

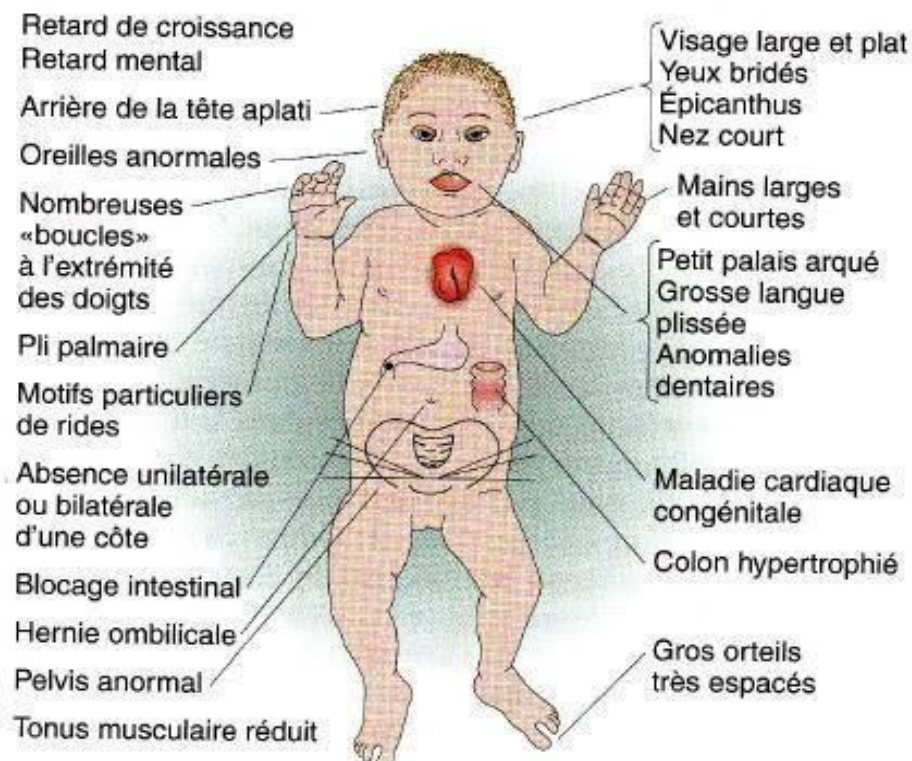


Figure 24 : La trisomie 21(syndrome de Down) (Henry, 2012)



Figure 25 : Pateint porteur d'un syndrome de Down (Nina, 2023)

❖ Troubles moteurs :

Nous observons chez l'enfant porteur de trisomie 21 une diminution du tonus musculaire ainsi qu'une hyper laxité. La tenue de tête est acquise vers 4 – 5 mois au lieu de 3 normalement. Le retournement ventre/dos est acquis entre 8 et 10 mois au lieu de 3 mois ½. La position assise est souvent acquise vers 12 mois au lieu de 8. La marche est acquise vers deux ans au lieu d'un an. L'enfant trisomique fait peu d'expériences sensori-motrices. La langue et les joues sont hypotones, ce qui engendre souvent une protrusion linguale et un bavage. (Lucie, 2014)

2.4.2. Déficience intellectuelle et retard du développement

La déficience intellectuelle est certainement le problème prédominant. Le quotient intellectuel moyen des enfants porteurs de trisomie 21 est de 45, avec de grandes variations d'un sujet à un autre. On parle de déficience intellectuelle légère à moyenne, ayant des conséquences sur le développement langagier. Il existe des difficultés d'attention, de synthèse, de généralisation, de mémoire (surtout à court terme) et d'abstraction. Les enfants porteurs de trisomie 21 ont un esprit dit en « kaléidoscope », c'est-à-dire qu'ils se focalisent sur les détails sans réussir à faire une synthèse. Ils raisonnent par analogie ou par évocation. On remarque des difficultés à réaliser un nouvel apprentissage, avec un besoin de répétitions pour favoriser le processus d'intégration. Les troubles attentionnels s'expliquent par l'absence d'inhibition des informations perçues. Les enfants trisomiques ont besoin de temps pour réaliser la tâche demandée, il faut donc leur laisser une certaine période de latence. (Lucie, 2014)

2.4.2.1. Troubles du langage

Il existe trois périodes dans le développement du langage : période prélinguistique, période linguistique et période de développement du langage de l'adolescent.

❖ Période pré-linguistique : (0 - 20 mois) La communication commence dès les premiers mois grâce aux interactions avec l'entourage.

Les enfants trisomiques sont décrits comme très calmes, ce qui entraîne une faible interaction et un retard dans la communication non verbale (regard, expressions faciales, imitation, attention conjointe).

Les sourires intentionnels et le contact visuel apparaissent plus tardivement, ce qui peut impacter la relation mère-enfant.

Le babillage survient à un âge normal, mais il est moins orienté vers la communication et les productions vocales restent limitées.

❖ Période linguistique (20 - 48 mois) Les premiers mots apparaissent entre 20 et 24 mois, avec environ un an de retard.

L'explosion du langage, normalement attendue à 2 ans, survient vers 4 ans chez l'enfant trisomique.

Le vocabulaire se développe de manière similaire à celui des enfants ordinaires, mais avec un retard significatif.

À 4 ans, l'enfant dispose d'environ 20 mots.

Des difficultés articulatoires sont présentes en raison du syndrome oro-facial (palais ogival, hypotonie linguo-bucco-faciale, hyperlaxité maxillaire).

Le langage reste simple et télégraphique, avec une faible utilisation des mots fonctionnels et des difficultés à structurer les phrases.

La compréhension est meilleure que l'expression, bien que la compréhension complexe soit déficitaire.

❖ Période de développement langagier (5 ans et plus) À partir de 5 ans, l'enfant produit des phrases plus longues, et vers 10 ans, il peut construire des phrases de 5 à 10 mots.

Les difficultés persistent en conjugaison, accords, genre et nombre, avec une préférence marquée pour le présent de l'indicatif.

La voix est souvent grave et rauque, avec une intonation et un rythme pauvres, ainsi qu'une respiration thoracique mal organisée.

Malgré ces défis, les enfants trisomiques ont des capacités spécifiques : une bonne mémoire visuelle, une forte motivation à communiquer et un plaisir à interagir avec les adultes, ce qui leur permet d'apprendre sur une longue période. (Lucie, 2014)

2.4.3. Malformations congénitales et pathologies associées

2.4.3.1. Manifestations cardiaques

Les symptômes d'une maladie cardiaque sont déterminés par le type et l'importance de l'anomalie cardiaque. Les nourrissons qui ont des malformations cardiaques congénitales, les plus fréquentes sont les communications inter-ventriculaires et les anomalies du canal auriculo-ventriculaire, peuvent être asymptomatique ou montrer des signes d'insuffisance cardiaque (p. ex., respiration difficile, rythme respiratoire rapide, difficultés d'alimentation, transpiration, prise de poids insuffisante). (Nina, 2023)

2.4.3.2. Manifestations gastro-intestinales

Les nourrissons atteints de la maladie d'Hirschsprung ont habituellement un retard de l'élimination du méconium. Les nourrissons gravement atteints peuvent présenter des signes d'occlusion intestinale (par exemple, vomissements bilieux, absence de selles, distension abdominale). Une atrésie ou une sténose duodénale peuvent se manifester par des vomissements bilieux ou être asymptomatiques, suivant l'importance de la sténose. Ces anomalies peuvent être détectées par échographie prénatale (signe de double bulle). (Nina, 2023)

2.4.3.3. Malformation du tube digestif :

(sténose/atrésie du duodénum, maladie de Hirschsprung) dans 10 à 20% des cas dans moins de 10 % des cas :

Les personnes PT21 sont également prédisposées à plusieurs pathologies :

- Une atteinte auditive (trouble de l'audition) dans 50 à 75% des cas
- Infections dont infection ORL (otites en particulier),
- Pathologies auto-immunes et endocriniennes (hypo et hyperthyroïdie, intolérance au gluten (maladie cœliaque), diabète, pelade),
- Pathologies orthopédiques (luxation cervicale, scoliose, luxation des hanches ou des rotules)
- Leucémie en période post natale (LAL et LAM) (x 10 – 20),

- Epilepsie dont le syndrome de West,
- Syndrome d'apnées du sommeil
- Maladie d'Alzheimer précoce (premiers signes possibles dès 35-40 ans),
- Vieillesse précoce. (Anonyme, 2020)

2.4.3.3. Bases moléculaires de la trisomie 21

Les avancées en génie génétique permettent aujourd'hui d'analyser directement les gènes présents dans les cellules amniotiques et trophoblastiques. Grâce à l'utilisation des acides nucléiques et à des techniques comme l'autoradiographie, on peut observer la taille des fragments d'ADN concernés et établir une « carte de restriction » de la région génomique étudiée. Le génome humain compte environ 100 000 gènes fonctionnels. Le chromosome 21 contient à lui seul environ 225 gènes, ce qui représente environ 45 millions de paires de bases d'ADN, soit 1 % du matériel génétique total (Gardiner, 2000). Dans le cas de la trisomie 21, on observe un effet de dosage : l'expression de nombreux gènes est augmentée d'environ 1,5 fois par rapport à la normale (où il n'y a que deux chromosomes 21). Ce déséquilibre de l'activité génétique serait responsable du phénotype associé à la trisomie 21. La variabilité dans l'expression des signes cliniques peut être influencée par des facteurs épigénétiques ou environnementaux. L'étude de cas de trisomies partielles a permis d'identifier une région spécifique du chromosome 21, la région 21q22, comme étant responsable de la majorité des caractéristiques cliniques de la trisomie 21. Bien que le phénotype semble lié au nombre total de gènes dans cette région, certains gènes jouent un rôle plus marqué, comme : le gène APP, codant pour le précurseur de la protéine amyloïde impliquée dans la maladie d'Alzheimer, le gène SOD, codant pour la superoxyde dismutase, liée au vieillissement, ainsi que d'autres gènes exprimés dans le système nerveux central (Gardiner et al., 2000)

2.4.3.4. Cartographie physique du chromosome 21

Les avancées en génétique moléculaire ont considérablement affiné notre connaissance de la carte physique et génétique du chromosome 21. Les premières localisations géniques, obtenues grâce à la technique des hybrides somatiques, concernaient notamment les gènes SOD1 (superoxyde dismutase 1) et IFNAR1 (récepteur alpha de l'interféron alpha/bêta). Initialement, on estimait à environ 225 le nombre de gènes présents sur ce chromosome. Cependant, les analyses transcriptomiques ont révélé que cette estimation était incomplète. Actuellement, on estime à près de 400 le nombre de gènes codant pour des protéines sur le chromosome 21 (Gardiner, 2006). L'annotation génique s'appuie également sur la

génomique comparative, notamment par la comparaison avec la séquence du chromosome 22 du chimpanzé — homologue du chromosome 21 humain — ou encore avec le génome de la souris. Ces comparaisons ont mis en évidence des séquences non codantes conservées (CNG), probablement fonctionnelles, bien que leur rôle précis reste à élucider (Reymond, 2002). Enfin, plusieurs micro ARN ont été identifiés sur le chromosome 21, mais leurs fonctions exactes demeurent encore mal comprises. (Gardiner et al., 2010)

2.4.3.5. Cartographie génique du chromosome 21

Les variations du nombre de copies des gènes du chromosome 21 humain (HSA21) peuvent entraîner des anomalies morphologiques et physiologiques affectant de nombreux organes. La trisomie 21, ainsi que les monosomies partielles de ce chromosome, sont à l'origine de phénotypes complexes et variables. Pour identifier les gènes sensibles à l'effet de dosage sur le HSA21, un modèle murin nommé Ms1Yah a été développé. Ce modèle porte une monosomie dans la région Prmt2-Col6a1 du chromosome 10 de la souris (MMU10), région homologue à une partie du HSA21. L'étude de ce modèle a révélé que les souris Ms1Yah présentent des altérations des réponses inflammatoires et pulmonaires après instillation de LPS (lipopolysaccharide). Une analyse de l'expression génique par Q-PCR dans cette région a mis en évidence deux gènes candidats : Prmt2 et S100B. Les résultats ont montré que Prmt2 joue un rôle clé dans la régulation dose-dépendante de l'expression des cytokines pro-inflammatoires TNF- α et IL-6, en agissant comme un inhibiteur de la voie de signalisation NF- κ B. La réponse inflammatoire semble résulter de l'interaction de deux voies : LPS-TLR4-NF- κ B-Prmt2, S100B-RAGE-NF- κ B. Un défaut dans la voie Prmt2 est nécessaire pour que S100B exerce un effet inflammatoire notable. Par ailleurs, l'injection d'un anticorps anti-S100B chez des souris B6 a permis de réduire l'hyperréactivité des voies respiratoires (HRA) induite par le LPS. Une analyse préliminaire dans un modèle d'asthme a également montré que cet anticorps peut diminuer l'HRA, notamment à fortes doses de méthacholine, ce qui suggère un potentiel thérapeutique prometteur pour ce type de molécule (Dalloneau, 2010).

PARTIE2 :

DIAGNOSTIC DU SYNDROME DE DOWN PAR
CYTOGÉNÉTIQUE CONVENTIONNELLE
ET
TECHNIQUE FISH

Chapitre III : Diagnostic cytogénétique de la trisomie 21

3.1. Diagnostic de la trisomie 21

3.1.1. Objectifs du diagnostic de la trisomie 21 (syndrome de Down)

Les objectifs essentiels fixés lors du diagnostic de la trisomie 21 sont :

- Détecter le syndrome dès la période prénatale ou postnatale.
- Confirmer le diagnostic par des analyses cytogénétiques.
- Réaliser un bilan initial, identifier les causes de morbidité associées et évaluer leur gravité.

3.1.2. Facteurs de risque

3.1.2.1 Age maternel

La fréquence des naissances avec trisomie 21 augmente avec l'âge maternel. Elle demeure relativement faible jusqu'à 30 ans, passant de 0,05 % à 20 ans à environ 0,1 % à 30 ans. Cette hausse devient ensuite plus marquée, atteignant 0,25 % à 35 ans, puis environ 3 % à 45 ans (voir figure 9). Ce lien entre l'âge de la mère et le risque de trisomie 21 a été observé pour la première fois il y a plus de soixante ans, bien avant que les causes chromosomiques du syndrome de Down ne soient mises en évidence. (Penrose, 1933)

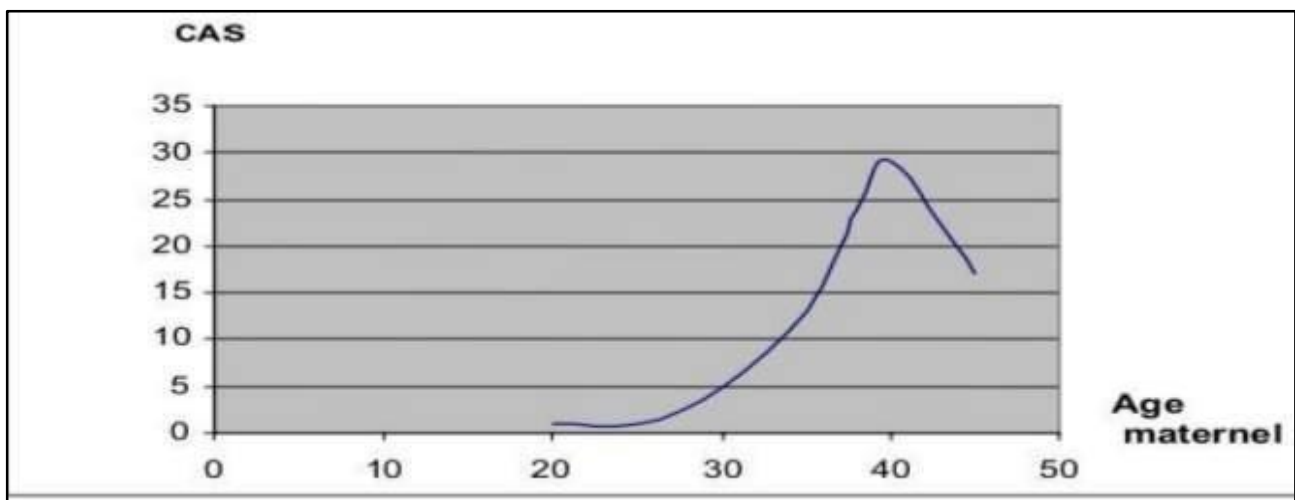


Figure 26 : Profil de l'âge maternel des trisomies (Adlane et al., 2019-2020)

3.1.2.2. Antécédent familial de trisomie 21

Lorsque la trisomie 21 libre et homogène est présente chez un membre de la famille, aucun élément ne permet de conclure à une augmentation du risque pour les autres membres, sauf en cas de translocation familiale. La récurrence de la trisomie 21 libre et homogène pourrait s'expliquer par le mosaïcisme gonadique et la variation de la fréquence de recombinaison méiotique. Une étude récente indique que près de 6,5 % des parents d'enfants atteints du syndrome de Down sont porteurs d'un mosaïcisme (Kovaleva, 2007)

3.1.2.3. Consanguinité

Le risque de malformations congénitales est estimé à 2 % dans la population générale et il double pour un couple consanguin. Un suivi échographique détaillé de la grossesse est donc essentiel. Certains couples consanguins présentent un risque accru de développer certaines maladies génétiques en fonction de leur origine géographique et/ou ethnique. Un dépistage spécifique peut être envisagé lors du conseil génétique. Concernant la trisomie 21, aucune association convaincante avec la consanguinité n'a été démontrée (Vekemans, 2003)

3.1.2.4. Descendance des parents atteints de trisomie 21

Les hommes atteints de trisomie 21 libre et homogène sont stériles, aucun cas de descendance n'a été rapporté. En revanche, la fertilité des femmes semble préservée. Elles peuvent donner naissance à des enfants atteints de trisomie 21 ou à des enfants présentant un caryotype normal (Briard ML et al., 2006). Dans une série de 25 enfants nés de mères atteintes de trisomie 21, 10 présentaient la trisomie 21 et 15 avaient un caryotype normal.

3.1.2.5. Facteurs extrinsèques

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant l'influence des facteurs extrinsèques tels que les radiations (rayons X), les virus, les agents chimiques (le tabac) (Vekemans, 2003).et les carences en vitamines. Toutefois, aucune de ces hypothèses n'a été scientifiquement prouvée comme un facteur de risque de la trisomie 21.

3.2. Dépistage et diagnostic anténatal

3.2.1. Dépistage anténatal de la trisomie 21

La trisomie 21 est la seule affection faisant l'objet d'un dépistage anténatal systématique. Bien que ce test ne soit pas obligatoire, il doit être proposé à toutes les femmes enceintes, quel que soit leur âge. Son objectif est d'évaluer le risque que l'enfant soit atteint de trisomie 21. La future mère doit signer un formulaire de consentement attestant qu'elle a bien compris la signification et les implications de cet examen. Le dépistage repose sur deux analyses : la mesure échographique de la clarté nucale et le dosage

des marqueurs sériques, en tenant compte de l'âge de la patiente. (Lucie, 2014)

3.2.1.1. Échographie

En raison des avancées de la technologie échographique, certains signes peuvent attirer l'attention du médecin lors de l'échographie prénatale. Entre la onzième et la quatorzième semaine d'aménorrhée, il est possible de mesurer la transparence nucale, qui concerne une zone située à l'arrière du cou du fœtus. Cet espace est visible au cours du premier trimestre et disparaît ensuite. Entre la vingt et la vingt-deuxième semaine, plusieurs signes d'alerte sont remarqués (malformation cardiaque, malformation digestive, malformation rénale, raccourcissement fémoral...) qui peuvent amener le médecin à suggérer une forme de diagnostic prénatal.

En termes de morphologie, le spécialiste en échographie peut observer : nuque épaisse, forme des doigts, taille des membres, nez court, etc.... (Lucie, 2014)

3.2.1.2. Les marqueurs sériques

Les marqueurs sériques sont des substances sécrétées par le placenta ou le fœtus, dont le taux est mesuré dans le sang maternel. Un taux plus élevé ou plus bas que la moyenne peut être le signe d'une trisomie 21.

Les marqueurs sériques constituent une piste sérieuse et indicatrice. À tout âge, les femmes enceintes peuvent réaliser une prise de sang afin de mesurer ces marqueurs, entre la quinzième et la dix-huitième semaine de grossesse. Les résultats permettent de classer le fœtus soit dans une population à faible risque, soit dans une population à risque. Actuellement, le seuil de risque est fixé à celui des femmes de trente-sept ans, soit un risque égal ou supérieur à 1/250. Si le fœtus est considéré comme à risque, une amniocentèse est proposée à la future mère, cette dernière étant prise en charge par la Sécurité sociale. (Anonime, 2018)

3.2.2. Diagnostic prénatal

Le diagnostic prénatal regroupe diverses méthodes permettant d'analyser l'état génétique et métabolique du fœtus, ainsi que sa constitution chromosomique, y compris le sexe, à un stade précoce de la grossesse (Durand S et al., 1992). Il permet d'intervenir précocement tout en respectant les choix individuels.

Les techniques utilisées dans le diagnostic prénatal de la trisomie 21 sont :

3.2.2.1. Amniocentèse

Réalisée sous ordonnance médicale et en présence d'un pathologiste (prélèvement d'un échantillon de liquide amniotique). L'amniocentèse ou ponction de liquide amniotique est la méthode la plus courante (figure 27), elle est dite précoce si elle est réalisée vers la 12ème semaine de gestation. Bon nombre de cliniques favorisent l'amniocentèse entre la 14ème et 16ème semaine. Des études randomisées ont démontré une incidence élevée de perte de liquide amniotique si le prélèvement est réalisé avant la 12ème semaine et un risque accru de malformations squelettiques en particulier de pieds bots secondaires à l'oligoamnios.

On prélève de façon stérile de 10 à 30 ml de liquide selon l'âge de la grossesse (figure 27). Des cellules fœtales d'origine de la voie digestive haute et du système urinaire, de la peau et des membranes baignent dans ce liquide et sont récupérées par centrifugation du spécimen. Elles sont mises en culture pour une période de 5 à 10 jours en présence de sérum fœtal et d'un milieu nutritif favorisant la croissance cellulaire. La multiplication cellulaire est alors suffisante pour permettre la préparation des lames sur lesquelles on retrouve des cellules au stade de métaphase. La numération des chromosomes au microscope et l'étude de leur structure est alors complétée.

Un traitement du matériel cellulaire, lors de la préparation des lames, met en évidence des zones plus ou moins claires correspondant au marquage chromosomique. Ces zones sont le reflet du ratio variable de nucléotides A-T ;G-C sur les chromatides. Au besoin des analyses enzymatiques ou moléculaires peuvent être prescrites sur ces échantillons cellulaires. (Montréal, 2022)

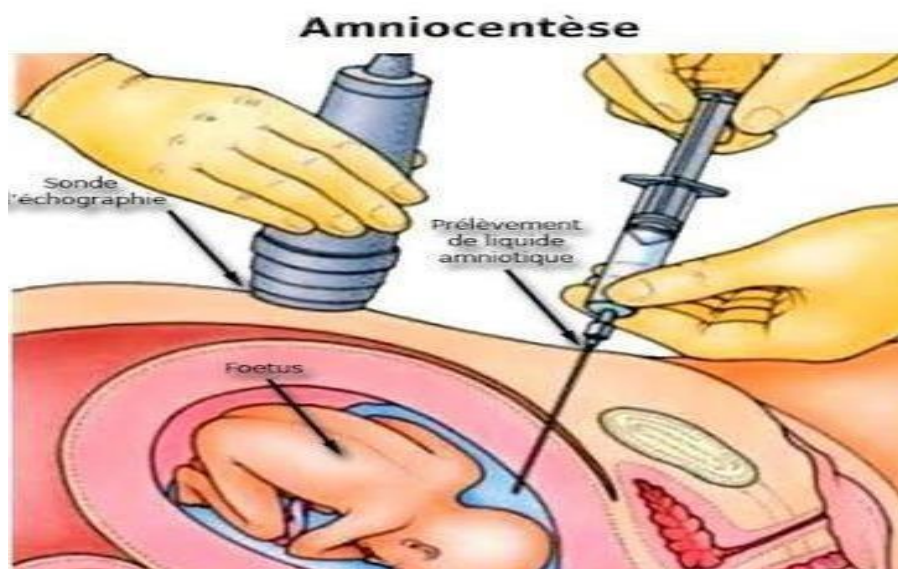


Figure 27 : Schématique illustrant la procédure d'amniocentèse (Sainte-Justine¹, 2002)

- ❖ Risques causés par l'amniocentèse :
 - Hémorragies fœtales ou maternelles (2% des cas).
 - Perte du fœtus (0,3% des cas).
- ❖ Indications principales :
 - Femme enceinte de plus de 38 ans.
 - Antécédents familiaux de trisomie.
 - Femme conductrice saine d'une maladie génétique liée au sexe (hémophilie A, myopathie de Duchenne).
 - Suspicion de trouble métabolique du fœtus.
 - Détermination du sexe du fœtus.
 - Détermination de l'alpha-fœtoprotéine (indicateur de certaines malformations).

3.2.2.2. Biopsie chorale

Permet une analyse génétique plus précoce que l'amniocentèse. Le prélèvement de villosités chorales par voie vaginale (fig.) donne accès à des cellules fœtales dont plusieurs sont en voie de division et peuvent être analysées dans les heures qui suivent le prélèvement.

Risques similaires à ceux de l'amniocentèse, avec un taux de fausses couches légèrement plus élevé. (Montréal, 2022)

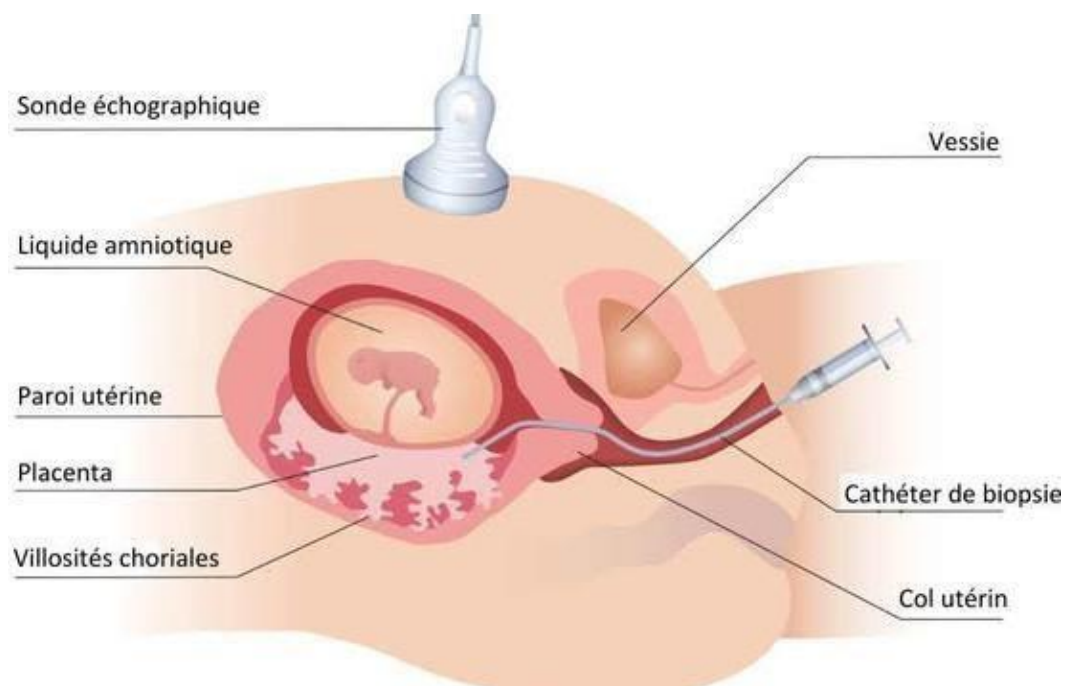


Figure 28 : Schéma illustrant la procédure de biopsie chorale (Anonyme, 2020)

3.2.2.3. Fœtoscopie

La fœtoscopie consiste à visualiser le fœtus, de préférence vers la fin du second trimestre, en introduisant dans l'utérus, par voie trans-abdominale 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. (Montréal, 2022)

3.2.2.4. Facteurs influençant le recours à ces méthodes :

L'augmentation de la demande malgré une diminution des accouchements ont permis une amélioration dans le suivi clinique tout au long de la grossesse, une hausse du nombre d'échographies obstétricales et d'amniocentèses durant cette période a été enregistrée.

Ces méthodes permettent une meilleure prise en charge des anomalies génétiques et métaboliques, mais elles nécessitent une évaluation minutieuse des risques et des bénéfices.

3.2.2.5. Ponction du cordon in utero

Lorsque le diagnostic prénatal est réalisé tardivement, cet examen peut être proposé aux alentours de la dix-huitième semaine de grossesse. Il consiste à prélever un échantillon de sang fœtal à travers le cordon ombilical in utero. Toutefois, cette procédure comporte des risques significatifs pour le fœtus. (Lucie, 2014)

3.2.3. Absence de diagnostic prénatal

Il est possible qu'aucun diagnostic ne soit effectué avant la naissance, soit en raison d'un refus du dépistage, soit à cause d'un manque de fiabilité des tests disponibles.

3.2.3.1. Refus du dépistage prénatal

Pendant la grossesse, les futurs parents ont la possibilité de décliner le dépistage de la trisomie 21. Chacun est libre de choisir s'il souhaite connaître ou non la présence d'une anomalie chromosomique chez son enfant. Toutefois, le médecin a l'obligation légale d'informer la famille dès la naissance si une particularité génétique est détectée chez le nouveau-né. Cette démarche vise à accompagner les parents et à leur fournir les ressources nécessaires pour faire face à la situation. (Lucie, 2014)

3.2.3.2. Fiabilité limitée des tests de dépistage

Les méthodes de dépistage, qui reposent sur l'échographie et l'évaluation de certains marqueurs biologiques, ne garantissent pas une précision absolue. Un résultat négatif (c'est-à-dire un risque estimé inférieur à 1/250) signifie seulement que la grossesse n'est pas classée comme étant à haut risque, mais il n'exclut pas totalement la possibilité que le fœtus soit atteint de trisomie 21. Environ 30 % des cas de

trisomie 21 ne sont pas identifiés par ce type de test. Seuls des examens plus invasifs, comme l'amniocentèse ou le prélèvement de villosités chorales, permettent de confirmer le diagnostic avec certitude (Catherine, et *al.*, 2005).

3.2.4. Le diagnostic post natal

Le diagnostic à la naissance reste une pratique courante. Le phénotype caractéristique des enfants atteints de trisomie 21 permet une identification clinique rapide, généralement dès les premières heures de vie. Les malformations cardiaques, fréquentes chez ces enfants, constituent également des signes cliniques suggérant cette anomalie chromosomique. Un caryotype est systématiquement effectué pour confirmer le diagnostic. Les professionnels de santé impliqués dans l'annonce aux parents incluent la sage-femme, le pédiatre, le gynécologue-obstétricien et le généticien. Si la trisomie 21 n'est pas diagnostiquée à la maternité, une détection plus tardive peut être réalisée par le pédiatre en charge du suivi de l'enfant ou par le médecin généraliste référent. (Anonyme, 2007).

3.2.5. Prise en charge médicale

La gestion médicale des patients atteints de trisomie 21 repose sur une approche multidisciplinaire visant à améliorer leur qualité de vie et à prévenir les complications associées.

➤ Suivi pédiatrique et dépistage précoce :

Un suivi médical régulier est essentiel pour détecter les problèmes de santé courants chez ces enfants, tels que les cardiopathies congénitales, les troubles thyroïdiens et les déficiences immunitaires.

➤ Prise en charge orthophonique et psychomotrice :

Une stimulation précoce par des séances d'orthophonie et de psychomotricité aide à améliorer le développement cognitif et moteur.

➤ Surveillance ORL et ophtalmologique :

Les enfants trisomiques sont prédisposés aux otites fréquentes et aux troubles visuels, nécessitant un suivi spécialisé.

➤ Gestion des troubles du développement :

Un accompagnement éducatif et psychologique adapté permet d'optimiser l'autonomie et l'intégration sociale des patients. (Damien, 2020)

3.2.6. Le Conseil génétique

Le conseil génétique est un élément clé pour accompagner les familles concernées par la trisomie 21. Évaluation du risque de récurrence : Après la naissance d'un enfant atteint de trisomie 21, une

consultation génétique permet d'évaluer le risque pour les futures grossesses en fonction du type de trisomie (libre, mosaïque ou par translocation).

Accompagnement des parents : L'annonce du diagnostic nécessite un accompagnement psychologique et une information détaillée sur les implications médicales et sociales du syndrome.

Options reproductives : Les familles sont informées des possibilités de diagnostic prénatal (dépistage sérique, DPNI, amniocentèse) pour les grossesses suivantes.

(Anonyme, 2007).

3.3. Caryotype conventionnel

3.3.1. Objectifs

Les objectifs de la réalisation d'un caryotype sont :

- Déterminer le nombre exact de chromosomes (normalement 46, XX ou 46, XY).
- Identifier des anomalies chromosomiques numériques (ex. trisomie 21, monosomie X).
- Détecter des anomalies structurales (délétions, translocations, inversions).
- Contribuer au diagnostic de maladies génétiques, de certaines pathologies hématologiques et d'infertilité.

3.3.2. Définition

Le caryotype permet l'étude des chromosomes d'un individu. C'est la présentation de façon ordonnée des chromosomes d'une cellule en fonction de la taille. Un caryotype humain comporte 46 chromosomes qui se répartissent en 22 paires de chromosomes autosomiques et une paire de chromosome sexuel XX chez le sujet féminin, XY chez le sujet masculin.

Il contribue à la mise en évidence des remaniements chromosomiques par l'analyse numérique et structurale.

On peut faire un caryotype à partir de plusieurs types de cellules nucléées qui ont la capacité de se multiplier facilement tel que : les fibroblastes, les cellules amniotiques, les cellules de la moelle osseuse et les lymphocytes.

Un caryotype normal en nombre est dit euploïde. Un caryotype anormal avec un chromosome en plus (trisomie) ou un chromosome en moins (monosomie) est dit aneuploïde. (Sebihi, 2023/2024)

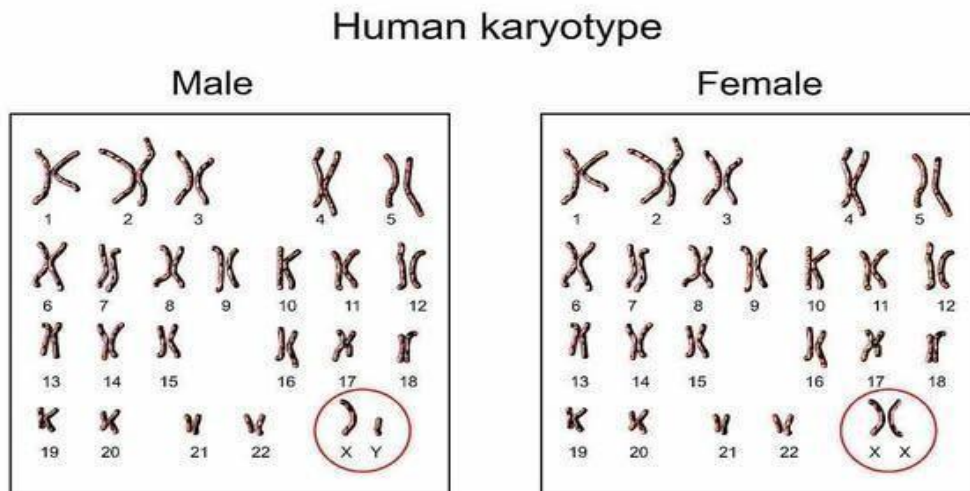


Figure 29: Caryotype de l'homme (Muleris, 1981)

3.3.3. Principe du caryotype :

Les chromosomes ne sont visibles qu'au cours d'une phase spécifique du cycle cellulaire : la division (mitose ou méiose). Les analyses cytogénétiques visent donc à observer les cellules à ce moment précis, ce qui nécessite de les bloquer en phase de division. Pour y parvenir, il faut disposer de cellules en prolifération active, ce qui peut se produire spontanément (comme dans le cas des cellules des villosités chorales ou de certaines cellules tumorales) ou être induit par la mise en culture (notamment pour les fibroblastes ou autres cellules capables de se diviser), souvent associée à une stimulation mitogénique. La stimulation des lymphocytes sanguins, par exemple, se fait généralement à l'aide de la Phyto-hémagglutinine (PHA), un agent mitogène qui déclenche leur division. À l'inverse, certains types de cellules fœtales, cutanées ou tumorales se divisent naturellement, sans stimulation. Le caryotype conventionnel, qui permet d'étudier la structure chromosomique, commence donc par une culture cellulaire. Le choix de la technique dépend du type de cellules analysées.

On distingue plusieurs situations :

- ❖ Le caryotype constitutionnel : il explore l'organisation chromosomique d'un individu. Il peut être réalisé à partir de lymphocytes sanguins (après stimulation par la PHA sur un prélèvement sanguin dans un tube hépariné au lithium) ou bien à partir de fibroblastes issus d'une biopsie cutanée.
- ❖ Le caryotype prénatal : il permet d'analyser les chromosomes du fœtus à partir de différentes sources, selon le stade de la grossesse : les cellules trophoblastiques du placenta prélevées par choriocentèse entre 8 et 12 semaines d'aménorrhée, les cellules amniotiques prélevées par amniocentèse échoguidée entre 16 et 21 semaines, les cellules fœtales sanguines obtenues par cordocentèse à partir de la 22e semaine.

❖ Le caryotype médullaire : réalisé sur des cellules de la moelle osseuse, il est indiqué en cas de suspicion d'hémopathie maligne (ponction sternale ou iliaque).

❖ Le caryotype tumoral : il s'applique aux cellules provenant d'une tumeur maligne, à partir de biopsies ou de pièces opératoires fraîches (non fixées au formol).

Les cellules prélevées sont mises en culture dans un milieu spécifique (tel que le milieu RPMI : Roswell Park Memorial Institute medium), en conditions stériles, à 37°C, parfois avec une atmosphère enrichie en CO₂ (notamment pour certains types cellulaires, mais pas indispensable pour les lymphocytes). La durée de culture varie selon le type de cellules et la quantité de matériel disponible :

- Lymphocytes sanguins : ce sont les plus couramment utilisés. Le sang est cultivé pendant 48 à 72 heures avec la PHA et des antibiotiques pour prévenir les contaminations.
- Fibroblastes : issus d'une biopsie cutanée, leur culture peut durer de une à trois semaines.
- Cellules de moelle osseuse : culture de 24 à 48 heures selon les besoins diagnostiques.
- Cellules fœtales : les cellules amniotiques nécessitent une culture de 10 à 15 jours, tandis que les cellules des villosités chorales ou trophoblastiques se divisent spontanément et ne requièrent pas toujours de culture préalable.

Pour réaliser une préparation chromosomique, il est nécessaire de collecter les cellules au stade métaphasique de la mitose. Ces cellules subissent ensuite un choc hypotonique afin de provoquer un gonflement et une meilleure dispersion des chromosomes. Elles sont ensuite fixées et étalées sur des lames pour l'analyse (Hayes et al., 1998). Enfin, une coloration est réalisée pour permettre l'observation des chromosomes au microscope.

Plusieurs techniques de coloration sont utilisées pour l'obtention de cette coloration homogène des chromosomes.

Tableau 2 : Techniques de coloration homogène en cytogénétiques (Abdelmoula, 2000)

Colorant	traitement préalable	Coloration obtenue
Giemsa	/	Bleu
Bleu de méthylène	/	Bleu-violacé
Bleu de toluidine	/	Bleu-violacé
Pyronine	/	Bleu-violacé Quinacrine
Quinacrine	/	Vert (fluorescent)
Iodure de propidium	/	Rouge (fluorescent)
Di Amino-Phényle-Indole (DAPI)	/	Bleu (fluorescent)

❖ Il existe plusieurs techniques de banding permettant d'obtenir un marquage distinct de chaque chromosome, telles que des traitements thermiques ou l'utilisation de la trypsine.

Les mitoses obtenues sont examinées au microscope optique connecté à un ordinateur, ce qui permet de classer les chromosomes par paires.

❖ Techniques de marquage des chromosomes (banding) Deux principales techniques de marquage en bandes sont utilisées en cytogénétique conventionnelle :

- Bandes G (Giemsa banding) : obtenues après traitement des chromosomes à la trypsine, révélant un motif de bandes sombres et claires après coloration au Giemsa.
- Bandes R (Reverse banding) : obtenues par traitement thermique, produisant un marquage inverse par rapport aux bandes G (les bandes sombres deviennent claires et vice versa).

Ces techniques permettent d'identifier précisément les anomalies chromosomiques, facilitant ainsi le diagnostic des syndromes génétiques tels que le syndrome de Down. (Anonyme)

Chapitre IV. Diagnostic par hybridation in situ FISH :

4.1. Hybridation In situ (FISH)

L'hybridation in situ (ISH) a été décrite pour la première fois en 1969 pour localiser des séquences d'ADN spécifiques sur des chromosomes dans des préparations cytologiques d'ovocytes de *Xenopus* (Gall et Pardue, 1969 ; John et al, 1969). Des modifications de la technique originale ont été décrites, permettant la détection et la localisation d'acides nucléiques dans les tissus provenant d'une variété d'organismes différents.

L'ISH est une technique qui permet de visualiser la présence d'ADN ou d'ARN spécifiques à l'intérieur d'une cellule ou d'un tissu. Le principe de cette technique est basé sur l'utilisation d'une sonde fluorescente correspondant à une séquence d'acide nucléique spécifique à un gène cible. Celle-ci est marquée par un isotope radioactif, à l'aide d'enzyme ou avec une substance fluorescente, de façon à pouvoir la détecter facilement. Après révélation de la sonde, le marquage met en évidence la localisation de la cible recherchée au sein d'un organisme entier, d'un ensemble de cellules, dans un compartiment cellulaire ou sur un chromosome précis. Particulièrement utilisée dans le diagnostic des infections microbiennes, l'ISH permet aussi de détecter les translocations chromosomiques ou certains gènes surexprimés dans les tumeurs malignes. (Hamidchi, 2023/2024)

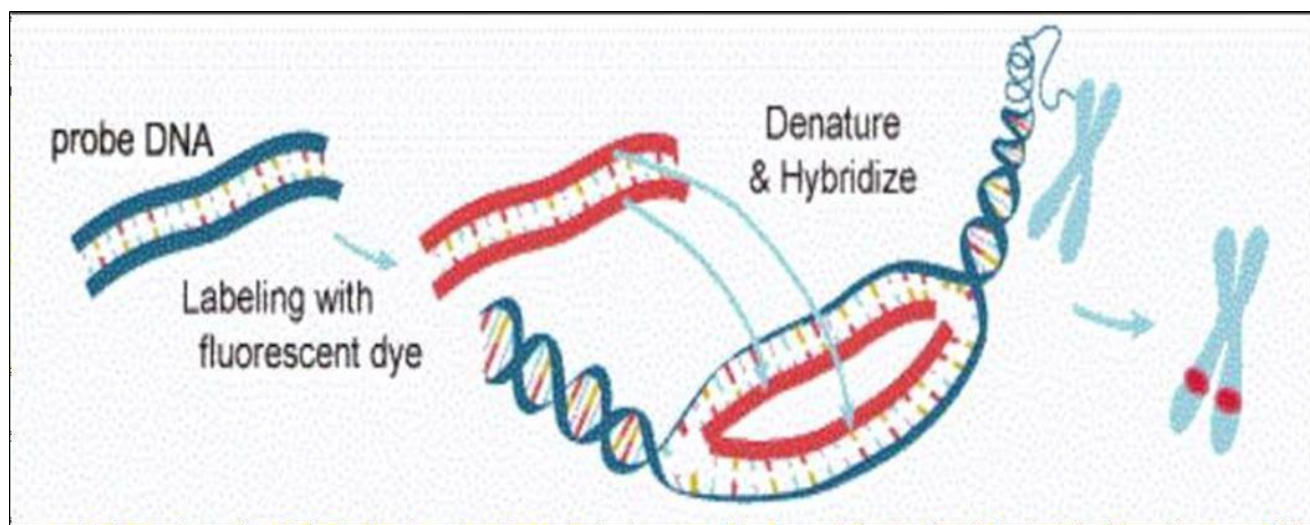


Figure 30 Schéma de l'hybridation in situ fluorescente (Bouchra, 2014/2015)

L'avantage de cette technologie est de donner une information quantitative et visuelle sur les ARNm étudiés. L'ISH peut avoir un intérêt lorsque les échantillons à analyser sont partiellement dégradés ou en trop faible quantité pour permettre une analyse de gènes d'intérêt par RT-qPCR. En effet, l'étape

D'extraction d'ARN nécessaire pour des expériences de RT- qPCR peut s'avérer délicate dans ces contextes et résulter en l'obtention d'ARN de mauvaise qualité, difficilement exploitable par la suite.

4.2. Types D'ISH

Fluorescence (FISH) : Hybridation in situ par fluorescence : permet de tester plusieurs cibles simultanément et de visualiser la co-localisation au sein d'un simple échantillon.

Chromogénique (CISH) : hybridation chromogénique in situ : permet d'obtenir des informations génétiques dans le cadre de la morphologie des tissus.

4.2.1. Principe du Test FISH

- ❖ Fixation de la cellule (e.g. Formaldehyde : H-CHO) : se fixe aux chaînes latérales des protéines pour former des groupements hydroxy-méthyl.
- ❖ Conception des amorces : DNase (inducing random cuts) = Endonuléase
- ❖ Marquage de la sonde : fournir des nucléotides spéciaux avec une protéine fluorescente assemblage par ligases
- ❖ Dénaturation
- ❖ Hybridation
 - La sonde se lie ;
 - Pas d'hybridation : Détecter la mutation (par exemple Délétion).

4.2.2. Types des sondes

4.2.2.1. LOCUS SPECIFIC PROBES :

Se lient à une région particulière du chromosome. Ce type de sondes est pratique lorsque les scientifiques isolent une petite partie du gène et désirent déterminer sur quel chromosome le gène est situé, ou combien de copies du gène existent à l'intérieur d'un génome particulier.

4.2.2.2. ALPHOID or CENTROMERIC REPEAT

PROBES : générées à partir de séquences répétitives (tandem) rencontrées au milieu de chaque chromosome (centromère). Ces sondes peuvent également être utilisées en combinaison avec les (Locus Specific Probes) afin de déterminer si un individu manque d'un quelconque matériel génétique à partir d'un chromosome donné.

4.2.2.3. WHOLE CHROMOSOME PROBES :

Sont une collection de sondes dont chacune se lie à différentes séquences le long d'un chromosome donné. Permettent d'identifier visuellement les translocations, délétions ou amplifications d'un chromosome spécifique

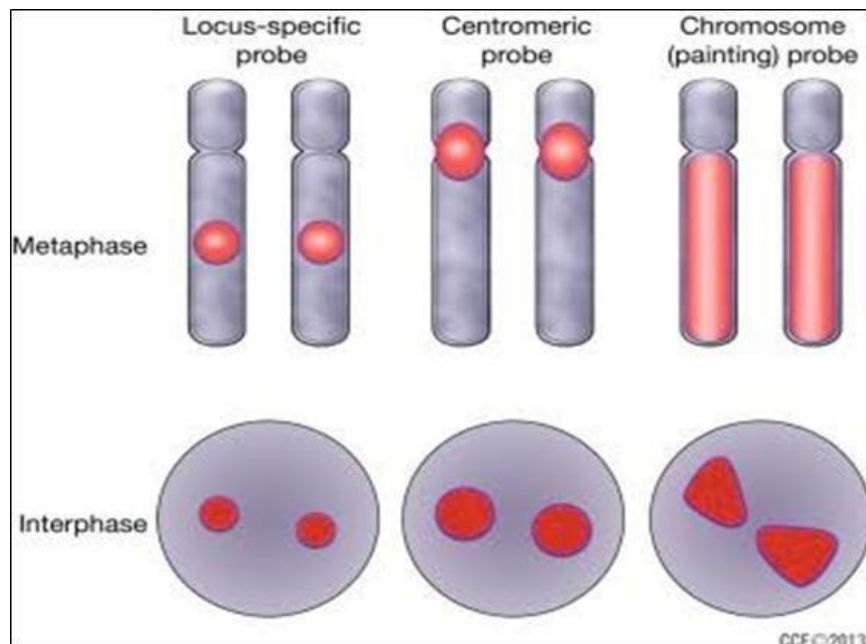


Figure 31 : types des sondes (<http://www.google.com/search>)

4.3. Principes de l'hybridation in situ par fluorescence

Les éléments de base de FISH sont une sonde ADN et une séquence cible.

- Avant l'hybridation, la sonde ADN est marquée via l'incorporation d'un fluorophore.
- La sonde marquée et l'ADN cible sont dénaturés.
- La combinaison de la sonde dénaturée et de la cible permet l'hybridation de séquences d'ADN complémentaires. (Hamidechi, 2023/2024)

Si la sonde a été marquée indirectement, une étape supplémentaire est nécessaire pour la visualisation de l'haptène non fluorescent qui utilise un système de détection enzymatique ou immunologique. Enfin, les signaux sont évalués par microscopie à fluorescence. (Hamidechi, 2023/2024)

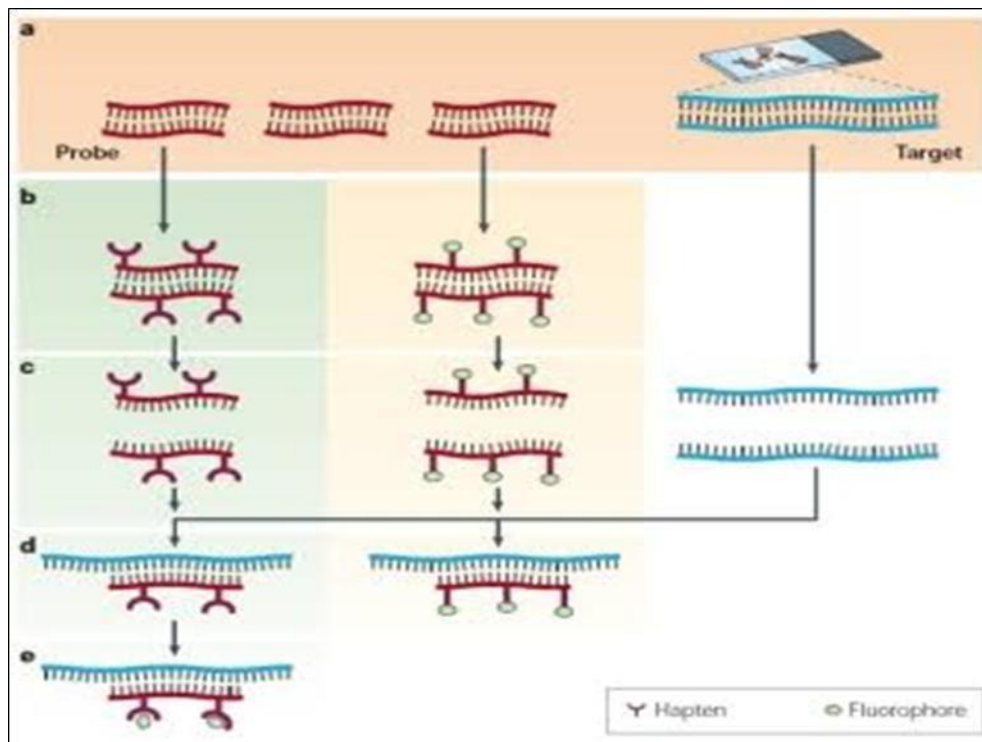


Figure 32 : Principes de l'hybridation in situ par fluorescence (Hamidchi, 2023/2024)

Chapitre V. MATERIEL ET METHODES

5.1. Caryotype conventionnelle :

5.1.1. Matériel et échantillons requis

5.1.1.1. Matériel :

- Tubes coniques de 15 ml (aliquotes du milieu de culture),
- Lames de microscope 26×76 mm (labbox®),
- Boîtes de rangement des lames,
- Micropipettes (20-200 µl),
- Pipettes de transfert en plastique,
- Hotte à flux laminaire (ALS- STERIL- HELIOS®),
- Hotte chimique (Shinsaeng®-model : SFH-2012 (UP)),
- Centrifugeuse à grande vitesse (SIGMA® 2-16 KL),
- Vortex (IKA®), (VELP®, WIZARD Advanced IR Vortex Mixer),
 - Station cytogénétique motorisé (Leica® DM6000b) reliée à un ordinateur disposant d'un système de traitement d'image (logiciel Cytovision®),
- Étuve (Mettler®),
- Réfrigérateur à 4°C,
- Congélateur à -20°C,
- Bain marie (Mettler®),
- Becher en verre (20 ml, 25 ml, 100 ml, 600 ml et 1000 ml),
- Becher en plastique (50 ml, 100 ml et 400 ml),
- Pince,
- Cuve à coloration (Hellendahl®),
- Papier absorbant,
- Éprouvettes graduées en verre (250 ml, 500 ml),
- Bac en verre,
- Portoir pour tube,
- Pipette graduée 0,5 ml,
- Présentoir de lames,
- Gant nitrile non stérile (non poudré),
- Embouts à Pipette (ISOLAB® 200µl).

5.1.1.2. Réactifs :

- PBMax : préparé 8 ml, conservé à -20 °C
- Thymidine (100 µl) : 0,6 g dans 100 ml de PBS (Phosphate Buffered Saline)
- PBS : 1 comprimé de PBS dans 200 ml d'eau bi-distillée (Sigma®),
- Eau distillée,
- Eau minérale,
- Eau bi-distillée,
- Acide acétique 100%,
- Éthanol pure 99-100°.
- Giemsa liquide Fluka®.
- Huile d'immersion,
- Sérum de Veau Foetal (SVF) (1,5 ml),
- RPMI 1640 Medium avec L-glutamine et sodium bicarbonate (6,5 ml),
- Colcéamide (60 µl) : 0,1 g dans 100 ml d'eau distillée,
- KCl : 5,6 g/l,
- Sodium phosphate monobasique di-hydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$) : 78 g de poudre de phosphate + 500 ml d'eau distillée
- Carnoy : 3V Éthanol +1V d'Acide acétique.
- Tampon de Gürr,
- Giemsa : 10 ml solution de Gürr + 5 ml de Giemsa + eau minérale.

5.1.2. Echantillonnage :

Les échantillons analysés ont été fournis par les services techniques du centre de recherche en biotechnologies CRBT, en provenance de patients dont les prélèvements ont été réalisés par des établissements sanitaires spécialisés.

5.1.3. Prélèvements sanguins :

Pour réaliser un prélèvement sanguin, qui consiste en une prise de sang veineux dans un tube contenant l'anticoagulant.

La quantité minimale de sang requise est de 5 ml.

Avant toute analyse, il est essentiel de vérifier l'aspect de l'échantillon, tant sur le plan quantitatif que qualitatif. Si l'échantillon ne peut être analysé immédiatement, il doit être conservé à 4 °C et utilisé dans un délai maximal de 4 jours.



Figure 33 : Echantillon (sang veineux dans un tube contenant l'anticogulant héparine)

5.1.4. Culture cellulaire :

La culture de sang se fait dans un milieu spécifique est incubé à 37 °C pendant 72 heures. Treize gouttes de sang sont ensuite remises en suspension dans un tube contenant 4 ml du milieu de culture RPMI 1640, avec glutamine et PHA (Euro bio).

5.1.4.1 Blocage des cellules en métaphase

Après 72 heures de culture, les lymphocytes activés sont arrêtés en métaphase afin de permettre l'observation des chromosomes. Pour cela, 100 µl de solution de Colcemide est rajoutée pour les 2 heures de culture. Ce composé, agissant comme un poison du fuseau mitotique, inhibe la formation des fibres du fuseau sur lesquelles se fixent les centromères des chromosomes, empêchant ainsi leur séparation en anaphase (Hayes et al. 1998). Le tube est ensuite agité délicatement pour homogénéiser la suspension cellulaire.



Figure 34 : Colcimide solution

5.1.4.2 Choc hypotonique

Après deux heures d'incubation, une centrifugation est réalisée pendant 5 min à 1200 rpm.

Le culot de cellules est repris dans une solution hypotonique de chlorure de potassium 7ml (KCl 5 mM) à 37°C pendant 30 min ce qui entraîne leur gonflement suivi de l'éclatement de membrane nucléaire et la dispersion des chromosomes. Cette étape est indispensable à l'obtention d'un étalement correct des chromosomes.



Figure 35 : Centrifugeuse

5.1.4.3. Préfixation

Cette étape consiste à préparer les lymphocytes en vue de leur fixation définitive. Pour cela, une solution de fixation est préparée en mélangeant du 15 ml méthanol et 5 ml d'acide acétique, et ajoute 1 ml de Carnoy acétique.

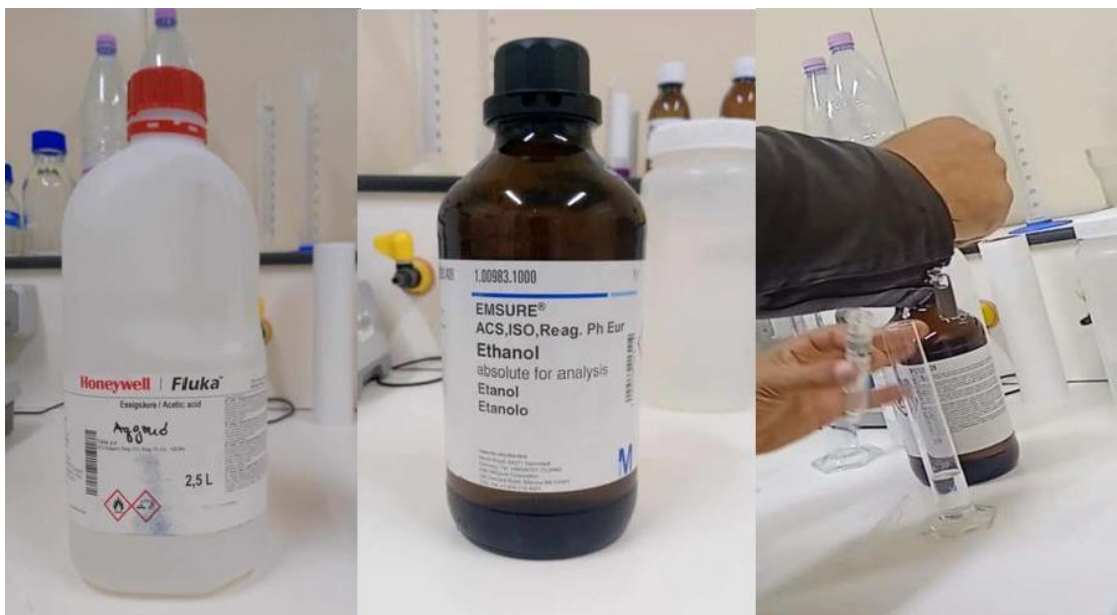


Figure 36 : Les solutions Méthanol Et Acide Acétique

5.1.4.4. Fixation

Par la suite, une centrifugation à 1200 t/mn pendant 5 min, le surnageant est éliminé. On ajoute 2ml à 5ml de Carnoy. Cette procédure de fixation peut être répétée deux fois ou davantage. Entre chaque fixation une centrifugation à 1200 t/min pendant 5 mn est nécessaire.

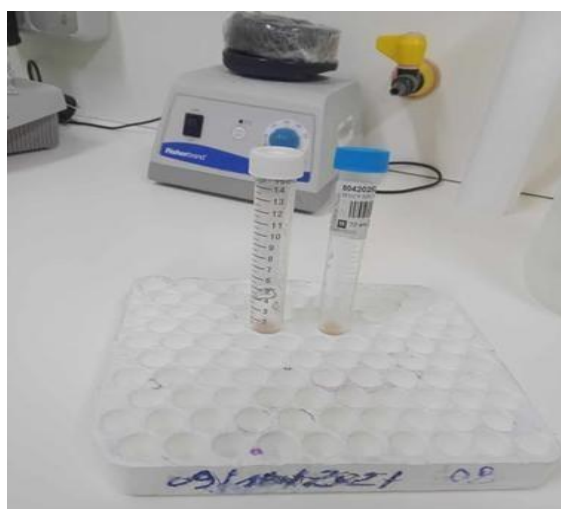


Figure : 37 Solution purifiée

5.1.5. Etalement chromosomique :

Cette phase vise à obtenir des métaphases où les chromosomes sont nettement séparés. L'étalement peut être effectué en appliquant quelques gouttes de la suspension cellulaire sur une surface des lames et elle est placée dans un bain- de lavage pour l'humidité. Le succès de l'étalement chromosomique dépend de plusieurs paramètres, tels que la température, l'humidité ambiante, la méthode de séchage ainsi que l'intensité du choc hypotonique.



Figure 38 : étape de l etalement

5.1.6. Dénaturation et coloration :

Les lames sont déposées dans un bain de vapeur à 69 °C pendant quelque minute afin d'optimiser l'hydratation et d'assurer une fixation efficace des chromosomes.

Le banding R : Une dénaturation thermique est réalisée dans une solution Earl (10ml Earl + 90ml d'eau) dans une Jarre en porcelaine, elle est préchauffée au bain-marie pendant 20 minutes jusqu'à ce que sa température atteigne 87 °C, ensuite, les lames avec les chromosomes sont plongées dans la solution chaude pendant 47 minutes.

Le banding G : Après la dénaturation les lames sont colorées au Giemsa à 10% (on utilise 10 mL de Giemsa dilués dans 90 mL d'eau), et l'on laisse agir pendant 19 minutes. Enfin, on rince soigneusement la préparation à l'eau pendant 1 minute. Cette méthode permet d'obtenir des bandes R (reverses), caractérisant la technique RHG.

Les techniques de banding chromosomique permettent d'identifier chaque chromosome grâce à l'apparition de bandes spécifiques. Chaque bande correspond à une région chromosomique différenciable des zones voisines par des variations de teinte, plus sombre ou plus claire, selon la méthode utilisée. Une bande foncée avec une technique peut apparaître claire avec une autre. Par exemple, les bandes R sont

obtenues après une dénaturation thermique contrôlée des chromosomes, suivie d'une coloration au Giemsa.



Figure 39 : Lacoloration et solution earle

5.1.7. Observation et lecture des lames :

L'examen et l'interprétation des lames ont été réalisées à l'aide d'un microscope optique muni d'un système d'acquisition d'images, relié à un ordinateur équipé du logiciel de traitement d'images LEICA DM6000 B. À travers le microscope, on observe les chromosomes en métaphase afin d'identifier les mitoses où les chromosomes apparaissent clairement, bien structurés et distincts. Si ces conditions ne sont pas réunies, l'analyse doit être reprise, soit à partir du même échantillon sanguin, soit d'un nouveau prélèvement si l'ancien remonte à plus de trois jours.



Figure 40 : Cytoscan "Applied Imaging Cyto Visio

5.2. La Technique FISH

5.2.1. Etapes de la technique

5.2.1.1. Prétraitement

- Les lames étalées sont immergées dans la solution 2X SSC pendant 1 min, et une série de bains d'alcool 70%, 90% et 100% d'une durée d'une minute chacun est réalisée.



Figure 41 : Prétraitement par le 2XSSC et une série de bains d'alcool 70%, 90% et 100%

- Ensuite séchées avant de procéder à l'étape d'Hybridation.

5.2.1.2 Hybridation des échantillons :

Les Sondes d'hybridation qui correspondent aux centromères du chromosome 21 sont déposées sur la lame : 10µL de sonde sont déposés sur la lames et recouverte d'une lamelle.



Figure 42 : La sonde correspondant au centromère du chromosome 21 (cytovision)

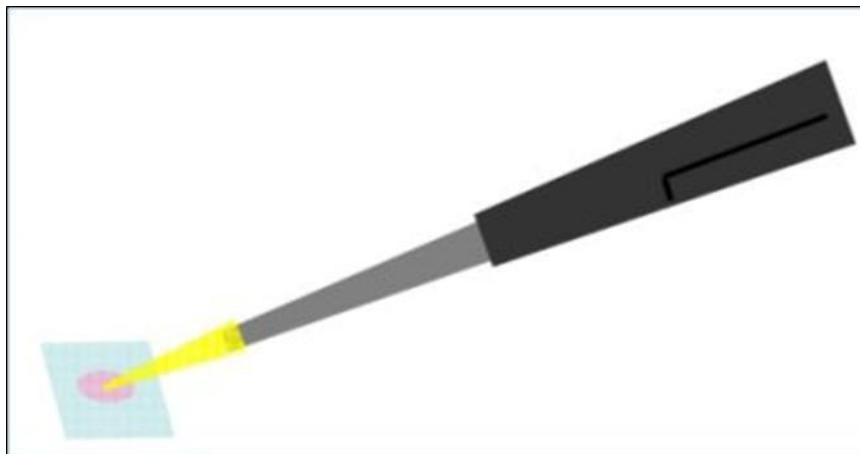


Figure 43 : Ajout de la sonde sur la lamelle (Bouchra, 2014/2015)

- La lame avec la sonde scellée à l'aide de rubber cement pour éviter l'évaporation.

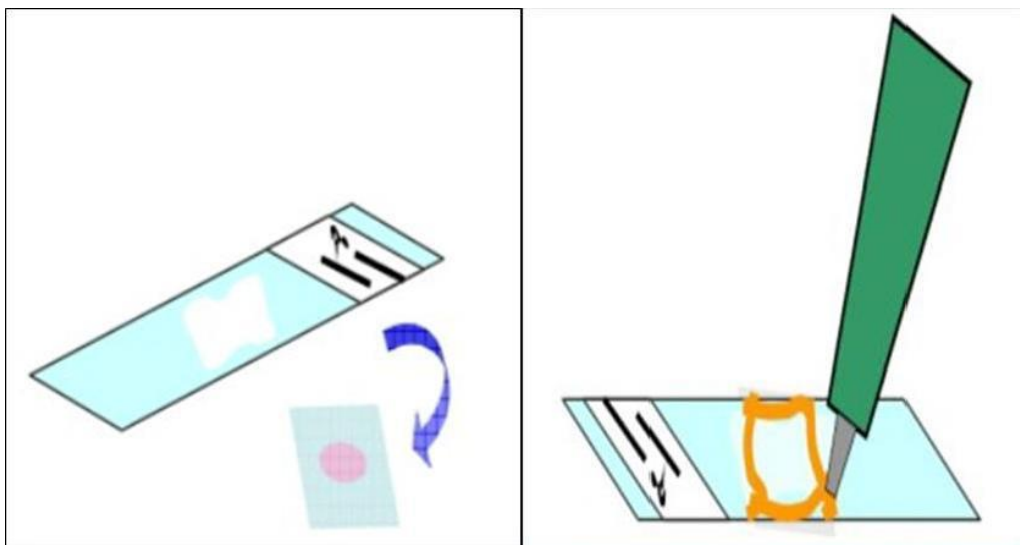


Figure 44 : La lame échantillon sur lamelle, puis les sceller par de la colle (Bouchra, 2014/2015)

La lame avec sonde sont placées dans un hybridizer et laissée incuber à 37°C pendant environ 5 minutes avant de lancer le programme de dénaturation/hybridation :

Température de dénaturation : 72°C / Temps de dénaturation : 5 minute

Température d'hybridation : 37°C / temps d'hybridation 20 h.



Figure 45 : L'hybridizer utilisé pur l'hybridation des sondes FISH

5.2.1.3. Lavage

Attention, il est essentiel de travailler sous lumière atténuée afin de préserver l'intégrité des fluoro chromes présents sur les sondes des lames.

Les 20 heures passées les Dès cette étape, les lames doivent être retirées de l'hybridizer.

Le ru bercement est soigneusement enlevé sans retirer la lamelle, puis la lame est immédiatement placée dans une solution de lavage 2X SSC avec 0,4 % Tween20 à 43°C pendant 3 min.

Les lames sont mises à sécher à l'obscurité.

5.2.1.4. Contre coloration des noyaux au DAPI :

Dix µl de solution anti Fade avec DAPI sont déposés sur la lamelle couvre-objet et recouvert par une lamelle.



Figure 46 : AntiFade solution plus DAPI

5.2.1.5. Lecture

Les lames sont placées à 4°C pendant au moins 5min avant de procéder à la lecture sous microscope. L'observation des résultats de FISH se fait à l'obscurité sur une station FISH cytoscan_cytovision.

CHAPITRE VI. RESULTATS ET DISCUSSION

D'après les observations cliniques du patient recruté dans cette étude, le syndrome de Down (trisomie 21) a été suspecté. Afin de confirmer cette suspicion, un caryotype a été réalisé pour éliminer la possibilité d'autres anomalies chromosomiques de structure et pour mettre en évidence toute anomalie visible à la résolution du caryotype. Un caryotype en bandes R a donc été établi pour le patient ainsi que pour un témoin.

6.1. Résultats des caryotypes

Le témoin présente un caryotype normal, ne montrant aucune anomalie chromosomique de structure ou de nombre (46, XX ou 46, XY selon le sexe). Le patient, quant à lui, présente une trisomie 21 libre et homogène, caractérisée par la présence de trois chromosomes 21 (47, XX, +21 ou 47, XY, +21).



Figure 47 : Caryotype du patient présentant une trisomie 21 comparé au témoin

6.2. Analyse complémentaire par FISH

L'absence d'autres aberrations chromosomiques visibles au caryotype nous a conduits à réaliser une analyse FISH (Hybridation In Situ en Fluorescence) pour confirmer la trisomie 21 et exclure une translocation ou une mosaïque. Pour cela, des sondes spécifiques du chromosome 21 ont été utilisées (Zytovision).

6.3. Résultat de la FISH :

Chez le témoin, on observe deux signaux rouges (21q22) et deux signaux verts (contrôle), correspondant à deux chromosomes 21 normaux. Chez le patient, on observe trois signaux rouges (21q22) et deux signaux verts (contrôle), confirmant la présence de trois chromosomes 21.

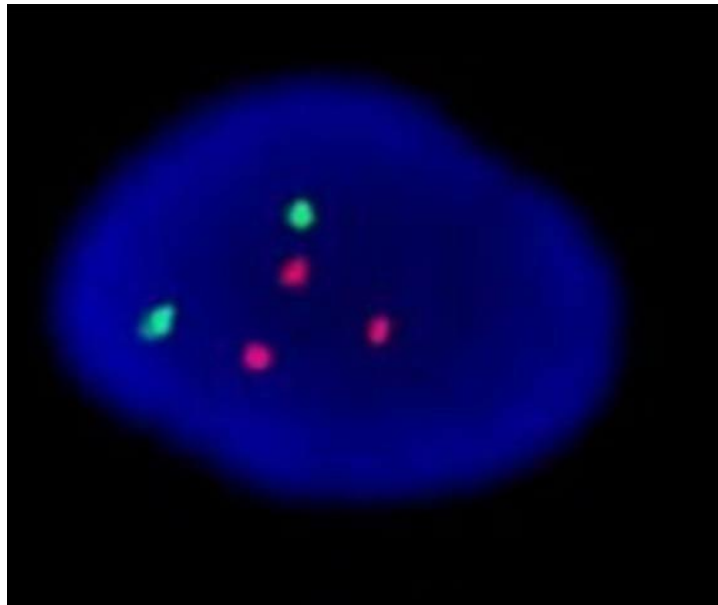


Figure 48 : Analyse FISH sur noyau interphasique révélant une trisomie 21 chez une patiente d'ans

6.4. Conclusion

L'analyse cytogénétique et FISH a permis de confirmer le diagnostic de syndrome de Down chez le patient, caractérisé par une trisomie 21 libre et homogène. Le témoin présente un caryotype normal. Ce protocole permet de distinguer rapidement et efficacement les anomalies chromosomiques numériques, telles que la trisomie 21, et de les différencier des cas normaux.

CHAPITRE VII : Comparaison entre le caryotype conventionnel et la technique FISH

6.1. Comparaison entre caryotype conventionnel et technique Fish

Tableau : 3 Comparaison détaillée entre les méthodes de caryotypage et la technique de fluorecense in situ hybridization FISH

Aspect	Caryotype conventionnel	Technique fish
Comparaison de la précision dans l'identification des anomalies	permet une vue d'ensemble du génome avec une bonne détection des anomalies de nombre ou de structure des chromosomes (délétion, duplication, translocation). Précision limitée à des anomalies >5-10 Mb.	très spécifique et plus précise pour détecter des anomalies ciblées, même de petite taille (jusqu'à quelques kilobases). Utilise des sondes spécifiques pour une région d'intérêt.
Temps nécessaire pour obtenir les résultats	nécessite une culture cellulaire (48 à 72h minimum), résultats disponibles après plusieurs jours à une semaine.	résultats plus rapides (en 24 à 48h), notamment dans le cadre de FISH interphasique sans besoin de culture cellulaire.
Détection des translocations et mosaïcisme	très efficace pour détecter les translocations équilibrées ou non, à condition qu'elles soient de taille suffisante pour être visibles au microscope.	utile pour confirmer ou identifier des translocations ciblées, notamment cryptiques (non visibles au caryotype), mais nécessite une hypothèse préalable (sondes ciblées).
Mosaïcisme : avantages de FISH dans sa détection Caryotype	peut détecter un mosaïcisme si les cellules analysées sont suffisantes, mais risque de le manquer à faible pourcentage.	plus sensible pour détecter un faible pourcentage de cellules anormales (analyse de centaines de noyaux interphasiques), meilleure évaluation quantitative.

6.2. Utilisation en diagnostic prénatal et postnatal

La technique de caryotypage conventionnel est plus appliquée en diagnostic prénatal.

- Principalement utilisé pour détecter des anomalies chromosomiques majeures (trisomies, monosomies, translocations).
- Analyse des cellules fœtales issues de l'amniocentèse ou de la choriocentèse.

Malgré le léger avantage dû au cout amorti de cette technique, le long délai d'analyse causé par la durée nécessaire à la culture cellulaire constitue un inconvénient majeur dans la prise de décision des cliniciens quant à la conduite à tenir vis-à-vis des patients et de leurs parents

6.3. Rôle de la FISH dans le diagnostic postnatal et la détection rapide

Très utile pour une détection rapide des anomalies communes (trisomie 21, 13, 18, aneuploïdies sexuelles).

Application postnatale pour confirmer une anomalie suspectée ou pour des syndromes connus (ex. syndrome de DiGeorge, microdélétions). (Wang, L., Wang, F.-S., & Gershwin, M. E, 2020)

7. Conclusion :

Le diagnostic du syndrome de Down a connu une nette évolution grâce aux progrès de la cytogénétique. Si le caryotype conventionnel reste la méthode de référence pour identifier la trisomie 21 dans ses différentes formes (libre, translocation, mosaïque), il présente néanmoins certaines limites, notamment en termes de temps d'analyse et de sensibilité dans des cas particuliers.

L'apport de la cytogénétique moléculaire, et en particulier de la technique FISH, a permis d'améliorer considérablement la rapidité, la précision et la capacité de détection des anomalies chromosomiques, même lorsque celles-ci échappent à l'analyse conventionnelle.

Cette complémentarité entre les deux approches rend aujourd'hui le diagnostic du syndrome de Down plus fiable et accessible, notamment dans le cadre du diagnostic prénatal ou en cas de situations cliniques complexes.

En somme, l'intégration des techniques classiques et moléculaires en cytogénétique constitue un atout majeur dans le domaine du diagnostic génétique, permettant non seulement une meilleure prise en charge des patients, mais aussi un accompagnement adapté pour les familles concernées.

Références Bibliographiques

- ABDELDJALIL.** (2022). *Cytogénétique 6 –Anomalies chromosomiques*.
- ABDELMOULA, E.** (2000). comparing DNA sequences Using.
- ADLANE CHAHINEZ ET GUELIL CHAIMAA.** (2019-2020). Diplôme de Master Profil de l'âge maternel des trisomies. *Université Abdelhamid Ibn Badis* .
- ANTONARAKIS, S.** (1991, Mars 28). Parental origin of the extra chromosome in trisomy 21 as indicated by analysis of DNA polymorphisms. *pp. 872–876*.
- BENAISSA, D.** (s.d.). Anomalie chromosomique de structure. *facté de médecine service de génétique. Oran*.
- BENZACKEN, ET DUPONT, C.** (2014). Cytogénétique prénatale. *EMC Obstétrique/Gynécologie. pp. 1-17*.
- BERGER, R.** (2007). Cytogénétique humaine. De 1956 à 2006. *pp. 1–12*.
- BOUCHRA, E. M.** (2014/2015). projet de fin d'etudes utilisation de la technique de FISH dans le diagnostic du syndrome de williams. *université sidi mohamed ben abdellah, département sciences de la vie* .
- BRIARD ML ET MORICHON-DELVALLEZ N.** (2006). Anomalies chromosomiques. *EMC Pédiatrie, 4-002-T30*.
- CATHERINE DE VIGAN, A. LHOMME,,** Babak Khoshnood, Vodovar, J, Goujard et F, & Goffinet. (2005). Prévalence et diagnostic prénatal des malformations en population parisienne. *Paris, France*.
- CENTER, G. G.** (2020). *Genetic Counseling Aids, 7th Edition. Greenwood Genetic Center*.
- DAMIEN SANLAVILLE, DR RENAUD TOURAINE, ET DR BENEDICTE DE FREMINVILLE.** (2020). Diagnostic et de Soins (PNDS) – Trisomie 21. CHU de Lyon – *Centre de Référence CLAD Sud-Est, France*.
- DALLONEAU, E.** (2010). Identification de gènes à effet de dose impliqués dans la pathophysiologie des aneuploïdies associées au chromosome 21. *Orléans, France*.
- DIMASSI, S., TILL, M ET SANLAVILLE, D.** (2016). *EMC - Pédiatrie*.
- DURAND SUZANNE, , ET GOULET CELINE.** (1992). Le diagnostic prénatal. Mieux comprendre pour mieux agir. *pp. 15-24*.
- F, D. B.** (2019,2020). TD de génétique de la 2ème Année de Médecine. *Université Oran 1 Ahmed Ben Bella, Faculté de Médecine, Département de Médecine, Service d'Histologie-Embryologie*.
- FURELAUD, G., ET DARD, R.** (2018, novembre 21). La trisomie 21 : origines et quelques chiffres.
- GARDINER K, DERMITZAKIS E.T, REYMOND A, KUHN D.E ET TAN Y.H.** (2010, Trisomie 21 : 50 ans entre médecine et science. *pp. 267–272*.

- 1- **GARDINER, K.** (2006). The sequence of human chromosome 21 and implication for research into Down syndrome.
- 2- **GARDINER, K., ET DAVISSON, M.** (2000). The sequence of human chromosome 21 and implication for research into Down syndrome. *pp. 1–9.*
- 3- **HAOUD, M. K.** (2019). Étude de la prévalence des aneuploïdies dans les produits d'avortements spontanés : Intérêt des techniques moléculaires FISH et MLPA pour la détection des remaniements chromosomiques. *Sidi Bel Abbès.*(20 mars)
- 4- **HAMIDECHI, M.A.H.** (2023/2024). cours de cartographie de génome 1. *Université Abess Laghrour kenchela.*
- 5- **HARVEY, L., ARNOLD , B., CHRIS A, K., MONTY , K., ANTHONY , B., ET HIDDE , P.** (2021). *Molecular Cell Biology. New York, NY, USA.*
- 6- **HAYES, J., W, C., ALLINSON ET ALLINSON.** (1998). Cognitive Style and the theory and Practice of Individual and Collective Learning in Organizations". *pp. 847–871.*
- 7- **HENRY, J. Y.** (2012). *Médecine Intégrée.*(1 novembre)
- 8- **HERVE, B., MOLINA-GOMES, D., VIALARD, F., ET PICONE, O.** (2014). *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.*
- 9- **HURET, J., ET LEONARD, C.** (2000). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology.*
- 10- **HURET, J.-L.** (1997). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology.*
- 11- **JAMES, L., GUY , N., MALAN., ET SYLVIE .** (2005,2012,). Apport de la génétique chromosomique moléculaire au diagnostic prénatal et périnatal des anomalies chromosomiques et des maladies géniques. *pp. 1257–1263;437–442.*
- 12- **JEAN-, C. ET MARC, D.** (2007). *Biologie Moléculaire et Médecine. Paris: Médecine Sciences Flammarion.*
- 13- **KEIDIA, A., ET ZERMANE , Y.** (2020). Mémoire de Master Syndrome de Down : enquête épidémiologique. Constantine, Département de Biologie Animale, *Université des Frères Mentouri Constantine.*(11 octobre)
- 14- **KOVALEVA, N. V., ET AHMASEBI-HESARI, M.** (Septembre–Octobre 2007). Detection of gonadal mosaicism in parents of children with Down syndrome. *Tsitologiya i* 36– 42.
- 15- **LAMORIL J, AMEZIANE N, DEYBACH J.C, BOUIZEGARENE P, ET BOGARD M.** (2008). Notions de génétique moléculaire pour comprendre l'hérédité. *pp. 331–352.*
- 16- **LYNN, B. H., DRUYAN, L., HOGREFE, C., DUDHIA, J., ET ROSENZWEIG, C.** (2004,2008). Sensitivity of present and future surface temperatures to precipitation characteristics. *pp. 53-65.*

- 17- **MAI, C.T, ISENBURG, J.L, ET CANFIELD, M.A.** (2019). National population-based estimates for major birth defects, 2010–2014. pp. *Vol. 111, Issue 18, pp. 1420–1435.*
- 18- **MASSOUMEH TAJERAN, FATEMEH BAGHBANI, ET MOHAMMAD , H. N.** (2013, Janvier). A Case of Autism with Ring Chromosome 14. *Iranian Journal of Public Health.*
- 19- **MONTREAL, L. D.-J.** (2022, mai 10). Diagnostic prénatal. *Montréal, Québec, Canada.*
- 20- **MOUNA, M. (S.D.).** Chapitre III : Les techniques de marquage des chromosomes. *Centre Universitaire de Mila, Département des Sciences Naturelles et de la Vie, (Algérie).*
- 21- **NINA N. POWELL-HAMILTON et ALICIA R. PEKARSKY,** . Syndrome de Down (Trisomie 21) (2023). *Sidney Kimmel Medical College at Thomas Jefferson University.*
- 22- **NASSIRI, A.** (2014). Cytogénétique classique et moléculaire. À propos de 568 observations., *Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (Fès, Maroc).*
- 23- **NINA , N., ET POWELL-HAMILTON, M.** (2023). un patient porteur d'un syndrome de Down.
- 24- **PANISSIE, L. (2014, JUIN).** mémoire: le jeune enfant porteur de trisomie 21, effets sur les interactions mère-enfant et sur l'émergence du langage. *Universté Lille2 Droit et Santé.*
- 25- **PENROSE, L. S.** (1933). The relative effects of paternal and maternal age in mongolism. *Journal of Genetics*, 219–224.
- 26- **PETER , C., ET TURNER; ANTHONY, G.** (2000). *L'essentiel en biologie moléculaire.* Dely Ibrahim, Alger, Algérie: Berti Éditions.
- 27- **SEBIHI F.Z.** (2023/2024). cours cytogénétique. *Université Abess Laghrour khenchela.*
- 28- **SAINTE-JUSTINE\, C.** (2002, 7). Schéma illustrant la procédure d'amniocentèse. *Diagnostic prénatal. Montréal, Québec.*
- 29- **SANLAVILLE, DAMIEN, TURLEAU, ET CATHERINE.** (2020). Types, fréquences et mécanismes de formation des anomalies chromosomiques. Récupéré sur *Campus Génétique médicale* .(19mai)
- 30- **SANTE, H. A. (2018, 12).** Le Dépistage De La Trisomie 21. *FRANS.*
- 31- **SANTE, H. H.** (2007, mai). Suivi et orientation des femmes enceintes en fonction des situations à risque identifiées. *Paris, France.*
- 32- **SHAFFER, L., MCGOWAN, J., ET SCHMID, M.** (2013). *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Bâle (Basel), (Suisse)*
- 33- **SUD-EST, R. M.—R.** (2020). CRMR et CCMR « Anomalies du développement et syndromes malformatifs avec ou sans Déficience Intellectuelle de causes Rares ». *Région Sud-Est, France.*
- 34- **THOMPSON.** (1995). Fréquences des anomalies chromosomiques chez les nouveau-nés.
- 35- **VALERIE LEHEMBRE, P.** (2014). *CAMSP, Villeneuve d'Ascq Lille.*

- 36- **VEKEMANS, M.** (2003). Âge maternel et autres facteurs de risque de la trisomie 21. *Annales de Biologie Clinique*, pp. 497-498.
- 37- **W, P., ET T, D.** (2008). *Annual Review of Genetics*.
- 38- **WALES, D. P.** (2010). BGD Tutorial – Embryologie et tératologie appliquées., Sydney, *Université de New South Wales (UNSW) Australie*.
- 39- **WANG, L., WANG, F.-S., ET GERSHWIN, M. E.** (2020). Genomics Education: <https://www.genomicseducation.hee.nhs.uk/genotes/knowledge-hub/karyotype/>.
- 40- **WARBURTON, D.** (1991). Chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints. *American Journal of Human Genetics*, publié aux États-Unis (USA).
- 41- **WIKIMEDIA.** (s.d.). Isochromosome_Formation.jpg. (Wikimedia Commons).
- 42- **WILLIAM , K., MICHAEL , C., ET CHARLOTTE , S.** (2006). *Génétique. Pearson Education France*.
- 43- **ZHABSKA, T.** (2020, décembre 8). Type de chromosome. Classification des chromosomes. *Position du centromère : métacentrique, submétacentrique, acrocentrique, télocentrique. .*

**HENTIZ AMEL
RAHALI RABAB**

Date de soutenance : 14 Juin 2025

Thème :

**DIAGNOSTIC DU SYNDROME DE DOWN PAR CYTOGENETIQUE ONVENTIONNELLE
ET PAR LA TECHNIQUE FISH**

Nature du diplôme : Master Académique en Génétique

Résumé

Ce mémoire porte sur le diagnostic génétique du syndrome de Down (trisomie 21) à l'aide de deux techniques cytogénétiques complémentaires : la cytogénétique conventionnelle (caryotype) et la technique FISH (hybridation in situ en fluorescence).

La présente étude commence par une présentation générale de la structure et du rôle des chromosomes, ainsi que des différentes anomalies chromosomiques possibles. Elle s'intéresse ensuite aux caractéristiques génétiques et cliniques de la trisomie 21, l'une des anomalies chromosomiques les plus fréquentes chez l'être humain, en soulignant l'importance d'un diagnostic précoce et fiable pour une meilleure prise en charge médicale et psychosociale. La méthode du caryotype, bien qu'elle soit classique, permet d'observer l'ensemble des chromosomes afin de détecter toute anomalie de nombre ou de structure. En parallèle, la technique FISH repose sur l'utilisation de sondes fluorescentes spécifiques permettant une détection rapide et ciblée de la présence d'un chromosome 21 supplémentaire. Le travail, réalisé dans sa partie pratique au sein du Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBT) de Constantine, se conclut par une analyse comparative des deux approches, mettant en évidence leurs avantages et leurs limites. Alors que le caryotype offre une vision globale du génome, la FISH se distingue par sa rapidité et sa précision, notamment dans un contexte de diagnostic prénatal ou urgent.

Mots clés : Trisomie 21, syndrome de Down, anomalies chromosomiques, cytogénétique, caryotype, FISH

Centre de Recherches en Biotechnologies (CRBT) Constantine

HAMADA Youcef : Encadreur



**Université Abbes Laghrour –Khenchela-
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire
Juin 2025**



الموضوع :

**تشخيص متلازمة داون باستخدام علم الوراثة الخلوية التقليدي وتقنية
فيش (FISH)**

طبيعة الشهادة : ماستر أكاديمي في الوراثة

المخلص :

تركز هذه المذكرة على التشخيص الجيني لمتلازمة داون (التثلث الصبغي 21) باستخدام تقنيتين للوراثة الخلوية متكاملتين، وهما: التحليل النمط النووي الكروموزومي التقليدي (caryotype) وتقنية FISH (التهجين الموضعي باستخدام التآلق). تبدأ الدراسة بتقديم نظرة عامة على بنية ووظيفة الكروموسومات، إلى جانب أنواع الشذوذات الصبغية التي قد تحدث. بعد ذلك، تتناول المذكرة الخصائص الوراثية والسرييرية للتثلث الصبغي 21، والذي يُعد من أكثر الاضطرابات الكروموسومية شيوعًا عند البشر، مع التركيز على أهمية التشخيص المبكر والدقيق لضمان رعاية طبية وتنموية مناسبة. وتتطرق الدراسة إلى طريقة الكاريوتيب، التي تتيح رؤية شاملة للكروموسومات بهدف الكشف عن أي خلل عددي أو بنيوي. كما تقدم تقنية FISH، التي تعتمد على مجسات فلورية خاصة، تتيح الكشف السريع والدقيق عن وجود كروموسوم إضافي في الزوج 21. وتُختتم المذكرة بتحليل مقارنة بين الطريقتين، مبرزة نقاط القوة والقيود في كل منهما. حيث يمنح الكاريوتيب رؤية عامة وشاملة للجينوم، بينما توفر تقنية FISH نتائج أسرع وأكثر دقة، خصوصًا في حالات التشخيص العاجل أو قبل الولادة.

الكلمات المفتاح : التثلث الصبغي 21، متلازمة داون، التشوهات الكروموسومية، علم الوراثة الخلوية، النمط النووي، FISH

مركز الأبحاث في البيوتكنولوجيا (CRBT) قسنطينة

المشرف : د. يوسف حمادة



جامعة عباس لغرور خنشلة
ABES LAGHROUJ UNIVERSITY KHENCHELA

جامعة عباس لغرور خنشلة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية
جوان 2025



جامعة عباس لغرور خنشلة
ABES LAGHROUJ UNIVERSITY KHENCHELA

HENTIZ AMEL
RAHALI RABAB

Diva Date: June 14th, 2025

Theme :

**DIAGNOSING DOWN SYNDROME BY CONVENTIONAL CYTOGENETICS AND FISH
TECHNIQUE**

Nature of the diploma: Academic Master in Genetics

Abstract :

This thesis focuses on the genetic diagnosis of Down syndrome (trisomy 21) using two complementary cytogenetic techniques: conventional cytogenetics (karyotype) and the FISH technique (fluorescence in situ hybridization).

This study begins with a general presentation of the structure and role of chromosomes, as well as the various possible chromosomal abnormalities. It then focuses on the genetic and clinical characteristics of trisomy 21, one of the most common chromosomal abnormalities in humans, emphasizing the importance of early and reliable diagnosis for better medical and psychosocial care. The karyotype method, although classic, allows observation of all chromosomes in order to detect any abnormality in number or structure. In parallel, the FISH technique is based on the use of specific fluorescent probes allowing rapid and targeted detection of the presence of an additional chromosome 21. The work, carried out in its practical part within the Biotechnology Research Center (CRBT) of Constantine, concludes with a comparative analysis of the two approaches, highlighting their advantages and limitations. While karyotyping provides a global view of the genome, FISH stands out for its speed and precision, particularly in the context of prenatal or urgent diagnosis.

Key Words: Trisomy 21, Down syndrome, chromosomal abnormalities, cytogenetic, karyotype, FISH

Biotechnology Research Center (CRBT) of Constantine

HAMADA Youcef : Promoter



Abbes Laghrour University –Khenchela-
Faculty of Natural and life sciences
Department of Molecular et Cellular Biology
June 2025

