

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB – BLIDA**

FACULTE DES SCIENCES AGRO -VETERINAIRES ET BIOLOGIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCES DE LA NATURE
ET DE LA VIE**

Option : Génétique et physiologie

THEME :

SPINA BIFIDA :
**Introduction a la base génétique et étude des facteurs de
risques**

Présenté par :

AYAD Fatma Zohra
Le 18-12-2012

Membres du jury :

M ^r IMEKRAZ S.	Maitre assistant A	C.H.U Blida	Promoteur
M ^{me} EL FERTAS- AISSANI R.	Maitre Assistante A	USDB	Co promotrice
M ^{me} INAL D.	Maitre Assistante B	USDB	Présidente
M ^{me} CHERRALLAH A.	Maitre Assistante A	USDB	Examinatrice
M ^r BESSAAD A.	Maitre Assistante B	USDB	Examineur

Année universitaire 2011 /2012

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*Aux être les plus chers, **ma mère et mon père**. Vous êtes les plus beaux visages que j'ai vus dans ma vie, vous êtes la source de l'amour, la tendresse, le courage et l'espoir.*

A mes très chères sœurs pour leurs encouragements :

Sabrina, Safaa.

A tous mes frères :

Mohamed, Abdelkerim.

Il ne se passe pas un jour sans que je pense à vous.

*A mon amie et ma cousine **Aicha** et à toute sa famille.*

A mes grands-parents, tantes, oncles, cousins et cousines

Merci pour votre aide, votre gentillesse, votre soutien.

Vous avez répondu toujours présent, je vous remercie d'être toujours là pour moi.

A tous ceux que je n'ai pas cité et qui me sont chères.

Fatma Zohra

REMERCIEMENTS

Je souhaite remercier avant tout Allah le plus puissant, le Miséricordieux, de m'avoir guidé et surtout assisté tout au long de mes études jusqu'à la réalisation de ce document. Qu'il guide davantage mes pas sur le bon chemin.

J'adresse mes vifs et sincères remerciements à :

Madame INAL D. d'avoir accepté de présider le jury de notre travail.

Madame CHERRALAH A. Pour l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir bien voulu accepter d'être mon examinatrice.

Monsieur BESSAD A. Pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir bien voulu accepter d'être mon examinateur.

A mon promoteur docteur IMEKRAZ S. qui a accepté de me prendre en charge, Je tiens à le remercier non seulement pour la confiance, le soutien, ses précieux conseils & pour ses remarques et ses suggestions qui m'ont permis d'enrichir mon travail.

Ma co-promotrice Madame EL FERTASSE R, qui a bien voulu promouvoir et pour m'avoir encouragé à faire ce thème, diriger mon travail, son aide dont les conseils m'ont été précieux sur le plan scientifique. Je tiens également à la remercier pour la confiance et la sympathie.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au professeur BOUYOUCEF de m'avoir accueilli dans son service « neurochirurgie » ; Je voudrais également remercier professeur BOUHADEF pour m'avoir accueillie au Laboratoire de biopathologie et génétique.

Je remercie tous les membres du laboratoire à biopathologie Et génétique ; L'équipe du service "neurochirurgie", l'équipe neurochirurgie- pédiatrie : merci pour l'étroite et franche collaboration ; Je tiens également à remercier en particulier : Dr. BAHMED, Dr MOKHBAT, MENAAZ ,Kamel, Ilham ,Mostafa, et Mohamed, pour leur aide inestimable.

J'exprime également toute ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'aboutissement de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

Aux être les plus chers, ma mère et mon père. Vous êtes les plus beaux visages que j'ai vus dans ma vie, vous êtes la source de l'amour, la tendresse, le courage et l'espoir.

A mes très chères sœurs pour leurs encouragements :

Sabrina, Safaa.

A tous mes frères :

Mohamed, Abdelkerim.

Il ne se passe pas un jour sans que je pense à vous.

A mon amie et ma cousine Aicha et à toute sa famille.

A mes grands-parents, tantes, oncles, cousins et cousines

Merci pour votre aide, votre gentillesse, votre soutien.

Vous avez répondu toujours présent, je vous remercie d'être toujours là pour moi.

A tous ceux que je n'ai pas cité et qui me sont chères.

Fatma Zohra

RESUME :

Le spina bifida est une anomalie de fermeture du tube neural. Cette affection est multifactorielle réunissant des facteurs environnementaux et génétiques.

Notre travail consistait à déterminer les anomalies génétiques associées au spina bifida. Pour ce faire nous, avons effectué une analyse cytogénétique sur 10 patients atteints de cette affection. La population étudiée présentait les caractéristiques épidémiologiques et cliniques communes au spina bifida : les patients étaient jeunes, les signes révélateurs de la maladie étaient multiples et s'exprimaient en fonction du type du dysraphisme. Nous avons noté l'existence, chez les mères des patients, certains facteurs susceptibles d'être à l'origine de malformation du tube neural, au cours du premier trimestre de grossesse. Parmi ces facteurs : l'Hyperthermie, le diabète, le cytomégalovirus, la consanguinité et la récurrence. Les patients ont été classés dans 3 groupes différents, selon le caryotype obtenu. Ceux qui avaient un caryotype normal, composaient le groupe 1. Le groupe 2, comportait des cas de mosaïque. Aucun caryotype n'a pu être obtenu pour les patients du groupe 3.

Ces résultats ne nous ont pas permis de déterminer le rôle des anomalies chromosomiques dans la survenue de spina bifida. Toutefois, nous avons pu dresser un tableau alarmant sur l'état de cette affection dans notre pays. La généralisation de l'analyse cytogénétique, permettra un meilleur conseil génétique.

Mots clés : Anomalie de Fermeture du tube neural, Spina bifida, caryotype,

المخلص

سبيننا بيفيدا هو تشوه في انغلاق الأنبوب العصبي. هذا الداء هو نتيجة عوامل وراثية و بيئية.

عملنا يركز على تحديد التشوهات الجينية المرتبطة **بسبيننا بيفيدا** .لذلك قمنا بإجراء تحليل وراثي خلوي (الطابع النووي) على 10 مرضى مصابين بهذا الداء. تتميز المجموعة المدروسة بخصائص وبائية وسريرية مشتركة **لسبيننا بيفيدا** منها : العمر المبكر ، وجود بعض الأعراض الكاشفة للمرض التي يعبر عنها وفقا لنوع خلل الرفاء (dysraphisme). لاحظنا وجود بعض العوامل لدى أمهات المرضى، قدرة على أن تسبب عيوب الأنبوب العصبي خلال الأشهر الثلاثة الأولى من الحمل، من بين هذه العوامل: ارتفاع الحرارة، السكري، والفيروس المضخم للخلايا، زواج الأقارب، إعادة ظهور المرض. تم تصنيف المرضى إلى ثلاث مجموعات مختلفة، وذلك وفقا للنمط النووي الذي تم الحصول عليه. أولئك الذين لديهم النمط النووي العادي يمثلون المجموعة 1. المجموعة 2 تألفت من حالات الفسيفساء، لم نتمكن من الحصول على أي النمط النووي للمرضى في المجموعة 3.

هذه النتائج لا تسمح لنا لتحديد دور شذوذ الكروموسومات في حدوث **سبيننا بيفيدا**. ومع ذلك، فقد تمكنا من تنصيب جدول إنذار حول هذا الداء في بلدنا. تعميم التحليل الوراثي الخلوي، يسمح بأفضل نصائح الوراثة.

الكلمات المفتاحية: تشوه في انغلاق الأنبوب العصبي, سبيننا بيفيدا , الطابع النووي.

SUMMARY:

Spina bifida is a defect of neural tube closure. This disease is multifactorial involving genetic and environmental factors.

Our work was to determine genetic abnormalities associated with spina bifida. We have performed cytogenetic analysis on 10 patients with this condition. The population, which we studied, had common epidemiological and clinical characteristics of spina bifida: patients were young; the revealing signs of the disease were multiple and were expressed according to the type of dysraphism. We noted the existence, in the mothers of the patients; some factors which can cause neural tube defects during the first trimester of pregnancy. Among these factors: hyperthermia, diabetes, cytomegalovirus, consanguinity and recurrence. Patients were classified into three different groups, according to the karyotype obtained. Groupe 1 was composed with those who had a normal karyotype. Group 2 consisted of cases of mosaic. We could not obtain any karyotype for patients in group 3.

These results do not allow us to determine the role of chromosomal abnormalities in the occurrence of spina bifida. However, we have been able to draw an alarming picture of spina bifida state in our country. The generalization of the cytogenetic analysis, allow better genetic advice.

Key words: defect of neural tube closure, Spina bifida, karyotype

Glossaire

Acétylcholinestérase : Enzyme catalysant spécifiquement l'hydrolyse de l'acétylcholine en acide acétique et choline [www.larousse.fr/encyclopedie/medical].

Anencéphalies Absence de crâne et d'encéphale (cerveau, cervelet et tronc cérébral) chez le fœtus ou le nouveau-né [www.larousse.fr/encyclopedie/medica].

Aneuploïdies : le terme aneuploïdies désigne les anomalies de nombres touchant un seul chromosome, voire deux, les cellules peuvent être trisomiques (un chromosome en excès) ou monosémiques (un chromosome en défaut) [ML Briard et M-Delvallez.,1998].

Conseil génétique : ensemble des moyens et méthodes permettant de mesurer le risque héréditaire [Kernbaun S et Jean-pierre., 2008].

Cytogénétique : branche de la génétique étudie les phénomènes normaux et pathologique de la reproduction cellulaire [Kernbaun S et Jean-pierre., 2008].

Dysraphie : anomalie congénitale caractérisée par la formation des fentes (bec-de-lièvre, spina bifida, ect..) [Kernbaun et pierre.,2008].

Dysraphisme Spinal : fissure congénitale, partielle ou totale, de la colonne vertébrale. Malformation de la colonne vertébrale (le plus souvent dans la région lombo-sacrée) caractérisée par l'absence de soudure des deux moitiés d'un ou de plusieurs arcs vertébraux postérieurs. La fissure ainsi créée peut favoriser la hernie d'une portion des méninges et de la moelle.

Encéphalocèle : dysraphie crânienne avec hernie, sur la ligne médiane, d'un sac méningé contenant du liquide céphalorachidien et du tissu nerveux encéphalique habituellement malformatif [Kernbaun et pierre.,2008].

Epigénétique : Désigne la discipline biologique qui étudie les mécanismes de différenciation du phénotype en relation avec le génotype, c'est-à-dire l'analyse des voies impliquant l'action de gènes sur le développement cellulaire somatique, des points de vue morphologique et physiologique. Ce terme décrit les phénomènes distincts d'une mutation, tel que la méthylation ou la modification d'une histone, qui modifie l'expression d'un gène [Kernbaun et pierre.,2008].

Hydrocéphalie : L'hydrocéphalie est une dilatation des cavités ventriculaires intracérébrales à l'origine d'hyperpression intracrânienne [Sylla, 2008].

Les anneaux (chromosomes en anneau) : résultent de deux cassures une sur chacun des deux bras d'un chromosome, avec partie des fragments distaux et fusion des extrémités cassées, sont à l'origine d'un autre type de délétion [ML Briard et M –Delvallez .,1998].

Malformation d'Arnold Chiari : La malformation de Chiari se caractérise par une hernie à la base du cervelet et de la partie du tronc cérébral dans la colonne cervicale [Fletcher et Brei, 2010].

Mosaïque : organisme ou tissu constitué de cellule ayant des génotypes différents. [Cailliez et K Verreman ., 2004].

polymorphisme : existence d'au moins deux formes alléliques différentes pour un gène donné (sur un chromosome donné) dans une population donnée(ou dans un ensemble de population) [Cailliez et K Verreman ., 2004].

Spina bifida : malformation osseuse segmentaire du rachis, le plus souvent lombosacrée, caractérisée par un défaut de fermeture des arcs postérieures vertébrales [Kernbaun et pierre .,2008].

Spinal : qui se rapporte à la moelle épinière ou au rachis [Kernbaun et pierre ., 2008].

Stigmate : marque plus ou moins indélébile, révélatrice d'un état morbide [Kernbaun et pierre ., 2008].

Liste des abréviations

A C : anticonvulsifs

A: Adenine

AChE : Acétylcholinestérase.

ADN : Acide Désoxy Ribo Nucléique.

AFP : Alfa Foetoprotéine.

AFPLA : α -foetoprotéine du liquide amniotique.

AFPSM : α -foetoprotéine du sérum maternel.

AFTN : Anomalies de Fermeture du Tube Neural.

C: Cytosine.

CGH : comparative genomic hybridization.

CGH Array : Array comparative genomic hybridization.

Del :Délétion.

Der :chromosome dérivé.

Dup :duplication.

FISH: Fluorescence in Situ Hybridization.

Ins : insertion.

IRM : imagerie à résonance magnétique .

KCL : chlorure de calcium

M E : Mitose Etudié

Mat :origine maternelle;

MC :Méningocèle

MMC: myéloméningocèles

MoM : Multiple of médian

MTHFR : méthylène tétrahydrofolate réductase

Pat : origine paternelle.

P : bras court

P H A : Phytohémagglutinine P

q : bras long

R : ring chromosome : chromosome en anneau)

RPMI : Roswell Park Memorial Institute medium

S B : Spina Bifida

SBA : Spinabifida Aperta.

SBC: Spina bifida cystica .

SBO : Spina bifida occulta .

SNC : système nerveux central.

SVF : Sérum de veau fœtal.

T/m : tour par minute.

T: Thymidine

T° : température.

Liste des figures

Figure 1 : Schéma représentatif Les différents types de spina bifida .	05
Figure 2 : schéma représentatif de spina lipome.	05
Figure 3 : Facteurs étiologiques impliqués dans la survenue de Spina bifida.	07
Figure 4 : Métabolisme des folates.	09
Figure 5 : Neurulation de l'embryon de mammifère .	11
Figure 6: Anomalies chromosomiques structurales associées au spina bifida (original).	14
Figure 7 : Principales manifestations cliniques de la population étudiée.	23
Figure 8 : Arbre généalogique du patient N°5	26
Figure 9: Résultats de l'analyse cytogénétique des cas témoins.	29
Figure 10 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°7 du groupe 1.	30
Figure 11 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°9 du groupe 1.	31
Figure 12 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°2 du groupe 2.	33
Figure 13 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°2 du groupe 2.	34
Figure 14: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°4 du groupe 2.	35
Figure 15: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°4 du groupe 2.	36
Figure16 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°1 du groupe 1.	Annexe2
Figure 17 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°1 du groupe 1.	Annexe2
Figure 18 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°5 du groupe 1.	Annexe2
Figure 19: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°6 du groupe 1.	Annexe2
Figure 20 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°7 du groupe 1.	Annexe2
Figure 21 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N° 9 du groupe 1.	Annexe2
Figure 22: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°10 du groupe 1.	Annexe2

Figure 23: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient №2 du groupe 2.

Annexe2

Figure 24: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient №4 du groupe 2.

Annexe2

Liste des tableaux :

Tableau I: Prévalence de Spina bifida de part le monde.	03
Tableau II: Exemples d'anomalies chromosomiques de structure associées au Spina bifida .	13
Tableau II (suite) : Exemples d'anomalies chromosomiques de structure associées au Spina bifida .	14
Tableau III : caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la population étudiée.	22
Tableau III(suite) : caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la population étudiée.	23
Tableau IV: Répartition des différents facteurs de risques des patients atteints de Spina bifida.	24
Tableau V : Répartition de l'ensemble des résultats obtenus pour le caryotype.	28

Table de matières

INTRODUCTION	1
GENERALITE	2
I. Le Spina Bifida	2
I. 2. . Historique	2
I. 2. Epidémiologie	2
I. 3. Classification de Spina bifida	2
I. 3. 1. Spina bifida cystica	4
I. 3. 2. Spina bifida aperta	4
I. 3. 3. Spina bifida occulta	4
I. 3. 4. Spina bifida -lipome	4
I. 4. Facteurs de risque	6
I. 4. 1. Facteurs génétiques	6
I. 4. 2. Facteurs environnementaux :	6
▪ Facteurs nutritionnels	6
▪ Facteur maternel	8
▪ Facteur thermique	8
▪ Facteur médicamenteux	9
I. 5. Embryopathologie de Spina Bifida	10
I. 6. Aspects cliniques	10
II. Génétique de Spina bifida	12
II. 1. Anomalies chromosomiques associées au spina bifida	12
II. 1. 1. Anomalies de nombre	12
II. 1. 2. Les anomalies de structure	12
II. 2. Gènes de prédisposition au spina bifida	12
II. 2. 1. Gènes du métabolisme de l'acide folique	15
II. 2. 2. Gènes de régulation	15
II. 2. 3. Gènes de transport du Glucose	15
III. Diagnostic de spina bifida	16
IV. Traitements et prise en charge	17
IV. 1. En période néonatale	17
IV. 2. Période post natal	17

MATERIEL ET METHODES	
I. Matériel	18
I.1.Matériel biologique	18
I.2.Matériel non biologique	18
II. Méthodes	19
II. 1. Caryotype standard	19
RESULTATS ET DISCUSSION	
I. Caractéristiques générales de la population	22
II. Etude des facteurs de risque	24
III. Etude cytogénétique «caryotype »	28
CONCLUSION	38
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	40
ANNEXES	

Introduction :

Les anomalies de fermeture du tube neural (AFTN) sont des défauts congénitaux de la formation du système nerveux central qui surviennent pendant les 28 premiers jours de la vie intra-utérine. L'expression de ces anomalies est multiple : anencéphalie, encéphalocèle et un spina bifida (**Abbas et al., 2012**).

Le spina bifida (SB) est l'anomalie congénitale la plus courante qui affecte le système nerveux central (SNC) et est souvent considérée comme l'anomalie congénitale la plus complexe compatible avec la survie. L'origine de cette anomalie est multifactorielle. Des facteurs génétiques, nutritionnels et environnementaux sont incriminés dans son apparition (**Fletcher et brei, 2010**).

D'importants travaux ont été réalisés ces dernières années afin d'identifier les causes génétiques de cette maladie, en utilisant des techniques de cytogénétique et de biologie moléculaire. Cette approche permettra aux généticiens de formuler un conseil génétique, aux familles à risque.

Malgré le nombre croissant des cas de spina bifida, enregistré dans les services de neurochirurgie, des centres hospitaliers algériens, aucune étude génétique à la recherche des anomalies chromosomiques associées au spina bifida, n'a été effectuée. Notre travail s'inscrit dans le cadre d'un projet de fin d'étude, il a pour objectif d'apporter une modeste contribution au diagnostic génétique de cette pathologie chez 10 patients. Notre travail consistait à :

- ✓ déterminer les différents facteurs de risque susceptibles d'entraîner des anomalies de fermeture du tube neural.
- ✓ établir le caryotype de chaque patient, dans le but d'identifier d'éventuelles anomalies chromosomiques.

MATERIEL ET METHODES :

Notre travail a consisté en une analyse cytogénétique d'une pathologie congénitale, le spina bifida. Nous avons recrutés 10 patients atteints de spina bifida, au niveau du service de consultation de neurochirurgie du centre hospitalo-universitaire FRANTZ FANON de Blida, durant une période d'un mois de l'année 2012. Les caryotypes ont été effectués au niveau du laboratoire de biopathologie et génétique de l'institut Pasteur d'Alger.

I. MATERIEL

I. 1. Matériel biologique :

Les malades recrutés présentaient un Spina bifida selon une description clinique établie par le neurochirurgien du service. Les patients ont été soumis à un questionnaire rigoureux qui nous a permis de déterminer les antécédents personnels et familiaux ainsi que les facteurs de risque associés à l'apparition de cette maladie (**Annexe 1**).

Le caryotype a nécessité des prélèvements sanguins dans des conditions d'asepsie. Le sang est recueilli dans des tubes héparinés avec étiquette comportant le nom du patient, l'âge, le type d'anomalie, et la date du prélèvement. Les tubes sont gardés à température ambiante afin de lancer la culture cellulaire le jour même du prélèvement. Le sérum de veau fœtal (SVF) est nécessaire à cette culture.

I. 2. Matériel non biologique :

Le matériel non biologique que nous avons utilisé a concerné différents appareillages de laboratoire de biologie cellulaire et moléculaire résumé en **annexe 1**, ainsi que de la verrerie et autres matériels résumés dans la même annexe. Nous avons utilisé différents réactifs et solutions pour le caryotype:

- ✓ Milieu de culture pour lymphocytes (RPMI 1640)
- ✓ Colcemid (colchicine)
- ✓ Acide Acétique.
- ✓ Ethanol.
- ✓ Solution de Choc Hypotonique.

II. METHODES :

II. 1. Caryotype standard :

- **Principe :**

Le caryotype est une technique qui permet l'étude des chromosomes d'un individu. Cette technique permet d'obtenir une image, en microscopie optique, des chromosomes d'une cellule au cours de la métaphase ou de la prométaphase de la mitose. En génétique médicale, le caryotype contribue à la mise en évidence de remaniements chromosomiques équilibrés ou déséquilibrés.

- **Mode opératoire :**

1- Mise en culture :

Les leucocytes du sang périphérique, prélevé, sont mis en culture le jour même du prélèvement. Cette étape s'effectue sous hotte, avec port de gants stériles. Deux essais sont réalisés pour chaque patient. 500µl de sang sont mis en culture dans un tube contenant :

- ✓ 8ml RPMI-1640, SVF20 % ; L-glutamine
- ✓ 16µl Héparine
- ✓ 50 µl Phytohémagglutinine P (P H A)

Les tubes sont homogénéisés puis incubés, en position incliné, à 37°C pendant 72 h.

2- Blocage des mitoses en métaphase :

Chaque tube est additionné de 100 µl de colchicine. Cette dernière inhibe la polymérisation des tubulines en microtubules lors de la prophase ; la formation des fibres du fuseau ne peut avoir lieu, le processus de la mitose est alors interrompu. Les tubes sont ensuite agités puis incubés pendant 1h 30min 37°C.

3- Choc hypotonique :

Le choc hypotonique augmente le volume cellulaire et permet une meilleure dispersion des chromosomes. Une solution hypo-osmolaire est obtenue à partir 0.28 g de chlorure de calcium (KCL) préparé dans 50ml d'eau distillée stérile. Cette solution est mise sous agitation magnétique pendant 10min puis ramenée à la température de la culture, à savoir 37°C.

Après l'incubation d'une heure 30minutes, les tubes sont agités puis centrifugés à 1200 t /min pendant 5 min à T° ambiant. Le surnageant est éliminé. Le culot obtenu est additionné de 4ml de la solution hypotonique, ce qui entrainera le gonflement et l'éclatement des cellules par le phénomène d'osmose. Les chromosomes contenus jusqu'ici dans les noyaux se libèrent. Après une brève agitation, les tubes sont incubés pendant 30 min à 37°C.

4- Fixation :

Cette étape consiste à fixer les chromosomes en trois étapes. Pour ce faire, le fixateur est préparé en extemporané, il est composé de : 1volume d'acide acétique et de 3 volumes d'éthanol. Cette solution est conservée à +4°C.

Durant la première fixation, les tubes sont agités, puis centrifugés à 1200 t /min pendant 5 min. Le culot est additionné de 4 ml de fixateur, puis agité. Cette étape est répétée trois fois, seul le volume du fixateur change durant la troisième fixation (5ml au lieu de 4).

5- L'étalement :

L'étalement permet de visualiser les mitoses où les chromosomes sont en métaphase non enchevêtrés et bien individualisés. Cette étape nécessite, au préalable, la préparation des lames :

- ✓ Les lames sont mises dans un portoir rempli d'eau courante pendant 40min.
- ✓ L'eau courante est remplacée par de l'eau distillée pour le rinçage.
- ✓ Les lames sont séchées puis conservées, avant l'étalement, à -20 C°.

Les tubes, contenant le fixateur sont centrifugés. Le surnageant est éliminé et le culot homogénéisé délicatement. 2 gouttes de ce culot sont ajoutées à la surface d'une lame marquée (compter 2 à 4 lames par patient). Les lames sont recouvertes d'un papier aluminium puis séchées à température ambiante pendant 24h.

6- Coloration :

Après fixation et étalement sur lame, les chromosomes sont mis en évidence par coloration au GIEMSA

7- Analyse des chromosomes et établissement du caryotype:

L'analyse des chromosomes nous permet d'établir le caryotype de l'individu, dans le but de mettre en évidence d'éventuelles anomalies chromosomiques. On procède d'abord à l'observation des lames sous microscope optique, à faible (x10), moyen (x40) et fort grossissement (X100 après ajout d'huile d'immersion).

L'établissement du caryotype correspond à une classification standard des chromosomes humains. Les chromosomes sont donc classés par paire, en fonction de leur taille et de la position du centromère, la procédure de classement se fait à l'aide d'un système d'analyse informatique (smart -type)

RESULTATS ET DISCUSSION :

I. Caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la population étudiée :

Notre étude a porté sur une série de 10 patients, atteints de spina bifida et sélectionnés au service de neurochirurgie du CHU Blida. L'âge de ces patients, leurs sexes ainsi que les signes cliniques en faveur de cette pathologie sont consignés dans le **tableau III**.

L'analyse de ce tableau montre que l'âge de ces patients varie entre 3mois et 6 ans, dont 4 filles et 6 garçons. Les signes révélateurs de la maladie sont multiples et souvent exprimés en fonction du type de dysraphisme. L'examen du dos révèle une malformation : masse molle rougeâtre plus ou moins recouverte de peau ou ouverte à l'air libre ; fossette ou une touffe de poils grandissant dans le dos, pieds bot, paraplégies flasques, macrocranie. La malformation d'Arnold Chiari et l'hydrocéphalie a été confirmée par imagerie à résonance magnétique (IRM) (**Figure 7**).

Tableau III : caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la population étudiée

Individus	Age	Sexe	Symptômes	Pathologie
Patient n° 01	8 mois	F	Pas de déficit moteur	SB Méningocèle
Patient n° 02	8 mois	F	Paraplégie spastique macrocrannie	SB Myéломéningocèle
Patient n° 03	14 mois	M	Pied Paralytique MMC lombosacré male épidermisée	SB myéломéningocèle
			Pied bot	Lombosacré
Patient n° 04	19 mois	F	Hydrocéphalie	SB Méningocèle
Patient n° 05	17 mois	M	Hydrocéphalie Paraplégie flasque Macrocranie	SB Méyломéningocèle Lombo sacré
			-Hydrocéphalie	myéломéningocèle
			-Plaqué médullaire	Plaqué médullaire
Patient n° 06	6 ans	F	Dorso-lombaire -Paraplégie -Troubles sphinctériens, constipation chronique, Discrète -macrocranie	Dorso-lombaire malformation de chiari type 3

SB : Spina Bifida, MMC :méyломéningocele,F :féminin , G: masculin

Tableau III : caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la population étudiée

Individus	Age	Sexe	Symptômes	Pathologie
Patient n° 07	4 mois	M	Paraplégie MMC lombosacré épidermée	Myélomeningocèle Lombosacré
Patient n° 08	3 mois	M	Méningocele sacré Pas de déficit moteur	Méningocèle Sacré
Patient n° 09	21 mois	M	Paraplégie MMC male épidermée	Myélomeningocèle
Patient n° 10	3 ans	M	Hydrocéphalie Paraplégie flasque Macrocranie	Myélomeningocèle Dorsale

SB : Spina Bifida, MMC :méylomeningocele,F :féminin, M: masculin



Figure 7 : Principales manifestations cliniques de la population étudiée.

II. Etude des facteurs de risque :

Le questionnaire proposé aux mères de nos patients, nous a permis de récolter d’importantes informations. Les résultats de ce questionnaire sont répertoriés dans le **tableau IV**.

Tableau IV: Répartition des différents facteurs de risques des patients atteints de Spina bifida

Patients	Récurrence	Consanguinité	Anémie	A C	obésité	Diabète	Hyperthermie
Patient №1	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Oui
Patient №2	Non	Oui (1 ^{er} degré)	Oui	Non	Non	Oui	Oui
Patient №3	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Patient №4,8	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non
Patient №5	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Patient №6	Non	Oui (2 ^{eme} degré)	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Patient №7	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Patient №9,10	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Oui

A C : anticonvulsive

L’analyse des résultats du tableau révèle que :

- **6 femmes parmi les 10, ayant enfantées un bébé avec une spina bifida, présentaient, durant leur grossesse une anémie.**

Safi et al, 2012 rapportent qu’une anémie gestationnelle pourrait être associée à une carence en vitamine B12 et en acide folique. La carence en acide folique constitue un important facteur de risque qui prédisposerait à une malformation du tube neural. Cette carence peut être nutritionnelle ou biologique.

L’équipe de **Rothenberg** a mis en évidence des autoanticorps dirigés contre les récepteurs cellulaires des folates, dans le sérum de plusieurs femmes ayant eu une grossesse compliquée par une AFTN. Ces autoanticorps bloquent l’absorption intracellulaire de l’acide folique et pourraient expliquer la survenue d’AFTN chez des femmes ne présentant pas de carence vitaminique (**Rothenberg et al., 2004**). Toute fois, la carence en acide folique ne pourrait expliquer à elle seule la survenue de cette pathologie. D’autres facteurs, notamment génétiques, concernant le polymorphisme des gènes codant pour les enzymes du métabolisme

de l'homocystéine, s'intriquent avec les facteurs environnementaux lors de la fermeture du tube neural (Wanat *et al.*, 2005 ; Abbas *et al.*, 2012).

- **la moitié des femmes (5/10) ont eu un ou plusieurs épisodes d'hyperthermie durant le premier trimestre de leur grossesse.**

L'hyperthermie, comme facteur de risque aux AFTN, a fait l'objet de plusieurs études (Milunsky *et al.*, 1992 ; Moretti *et al.*, 2005). Ces dernières rapportent qu'une exposition prolongée au sauna/bain ainsi que les fièvres en début de grossesse augmentent le risque d'AFTN. Sandford *et al.*, 1992 ont constaté que l'hyperthermie maternelle était significativement plus élevée que dans le groupe contrôle. Ces femmes ont déclaré prendre des bains chauds au cours de la période déterminée cliniquement critique de la fermeture du tube neural.

- **un cas de récurrence de Spina bifida au sein de la famille d'un des patients a été suspecté (arbre généalogique de la figure 8).**

Cette récurrence pourrait être expliquée par une composante héréditaire. L'arbre généalogique que nous avons établi n'est pas assez informatif ; il ne nous a pas permis de connaître le mode de transmission de cette pathologie.

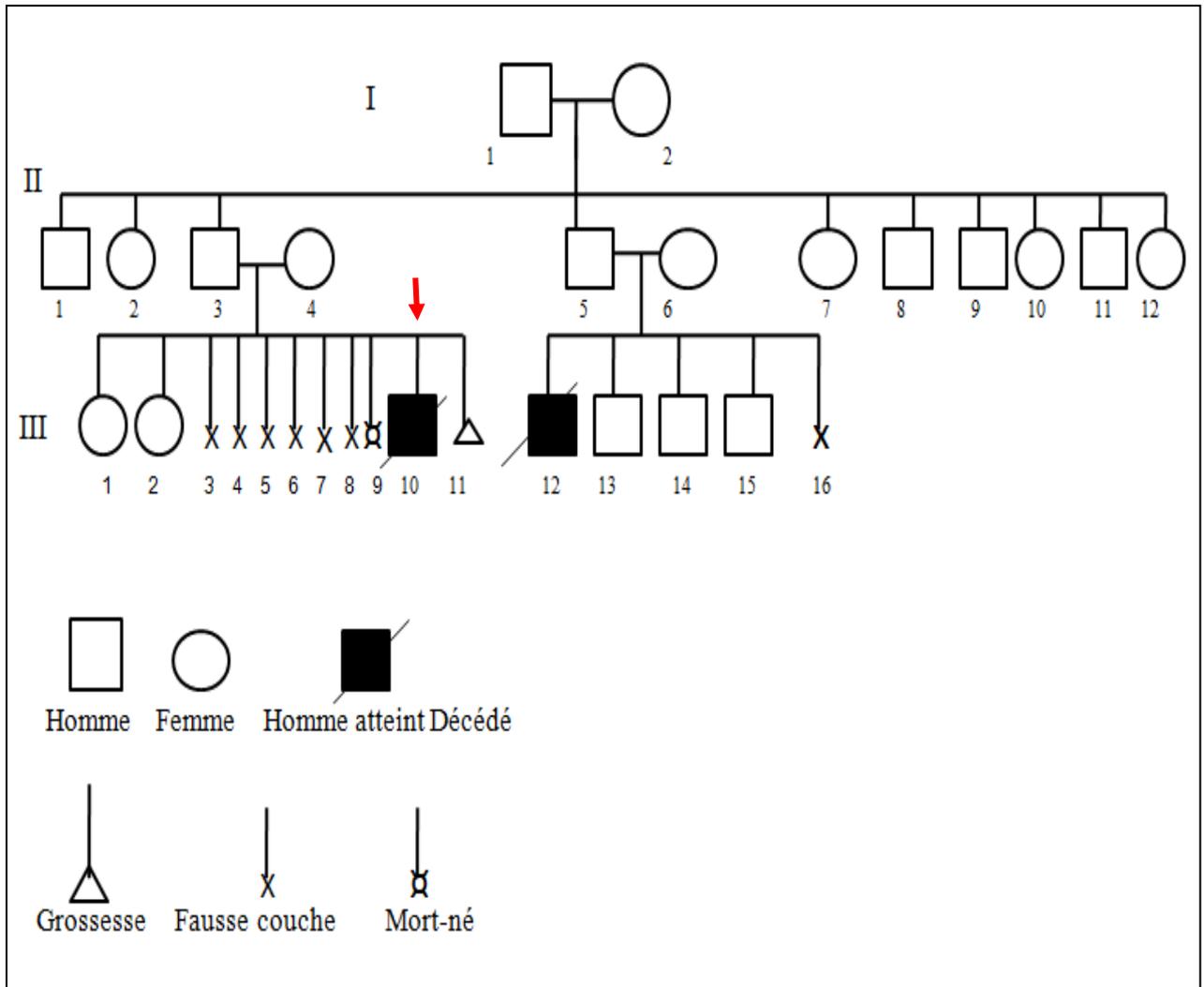


Figure 8 : Arbre généalogique du patient N5

Le spina bifida a été diagnostiqué chez deux garçons de cette famille ; le patient (III.10), correspondant au cas index, était âgé de 17 mois (il est décédé peu de temps après le prélèvement), il présentait un spina bifida associée à une hydrocéphalie. Son cousin germain (III.12) porte la même malformation.

Il est important de noter que la mère (II.4) du cas index, a fait 10 grossesses : 3 menées à terme donnant naissance à deux filles (III 1-2) phénotypiquement normale et un garçon avec Spina bifida (III.10), une donnant naissance à un bébé mort né (III 9) ainsi que 6 fausses couches (III 3-8). Cette maman est infectée par le cytomégalovirus (CMV). Cette information pourrait être cruciale dans la recherche de la cause de toutes ces fausses couches et le diagnostic de spina bifida. En effet, le CMV serait responsable de plusieurs désordres congénitaux familiaux tels que le syndrome de Down et le spina bifida (**Wang et al., 2011**).

Des études rapportent une nette augmentation de la fréquence des AFTN au sein de certaines familles, des analyses de ségrégation complexes basées sur des ensembles de données de population, ont été effectuées mais aucune conclusion n'a été tirée (**Carter et al., 1969 ; Chatkupt et al .,1994**). Dans une étude polonaise, 223 familles, ayant au moins un enfant atteint d'anencéphalie et / ou de spina bifida ont été analysées. Les résultats montrent que l'incidence des malformations du tube neural était 0,92 / 1000, que le risque de récurrence dans les fratries était de 3,4%, l'héritabilité avoisinait 76%. Ces études démontrent le caractère multifactoriel de ce trait héréditaire et soulignent l'importance de la contribution des facteurs génétiques dans la survenue des malformations du tube neural (**Pietrzyk , 1980**).

- **L'existence de 2 cas de consanguinité, un du premier degré (parents du patient N°2) et un de 2^{ème} degré (parents de patient N°6).**

Différentes études ont montré un risque plus élevé de récurrence et/ou d'occurrence de spina bifida chez les parents où leur consanguinité est de 1^{er} degré ou de 2^{ème} degré (0.5%) (**Toriello et al., 1983 ; Demenais et al., 1982**).

- **La maman du patient 2 est atteinte de diabète.**

Certaines maladies chroniques telles que le diabète de type 1 prédisposent les femmes enceintes à des anomalies de fermeture du tube neural (**McLeod et Ray ,2002**).

III. Etude cytogénétique «caryotype » :

Après une étude bibliographique approfondie sur le spina bifida, nous avons constaté que la majorité des articles scientifiques rapportent une forte association de cette pathologie à une anomalie chromosomique. Nous avons donc entrepris d’analyser l’état des chromosomes de quelques patients atteints de spina bifida dans la population algérienne. Les résultats du caryotype nous ont permis de classer les patients dans 3 groupes différents. Ces résultats sont résumés dans le **tableau V et les figures 9 à 15**. Les caryotypes des cas témoins sont illustrés dans les **figures 9**.

Tableau V : Répartition de l’ensemble des résultats obtenus pour le caryotype.

Groupes	Patients	Nbr mitoses	Caryotype/ME	Pathologie
Groupe 1	Patient №1	25	19ME :46, XX	MC
	Patient №5	10	9ME :46,XY	MMC Lombosacré
	Patient №6	3	2ME :46 ,XX	MMC Dorso-lombaire
	Patient №7	28	26ME :46, XX	MMC Lombosacré
	Patient №9	40	36ME : 46, XY	MMC
	Patient №10	19	17ME :46, XY	MMC Dorsale
Groupe 2	Patient №2	42	13ME : 45, X0 22ME :46, XX 1 ME :47,XX* 1ME :47, XX (trisomie 9)	MMC
	Patient №4	46	10ME : 45,XX-21 1ME ,45X0 11ME :46, XX 5ME :47 chr*	MC
Groupe 3	Patient №3	3	Pas de caryotype	MMC lombosacré
	Patient №8	0	Pas de caryotype	Méningocèle sacré

MMC : méylomeningocele, MC :méningocèle, ME :mitose étudiée, * Chromosomes difficile à classer

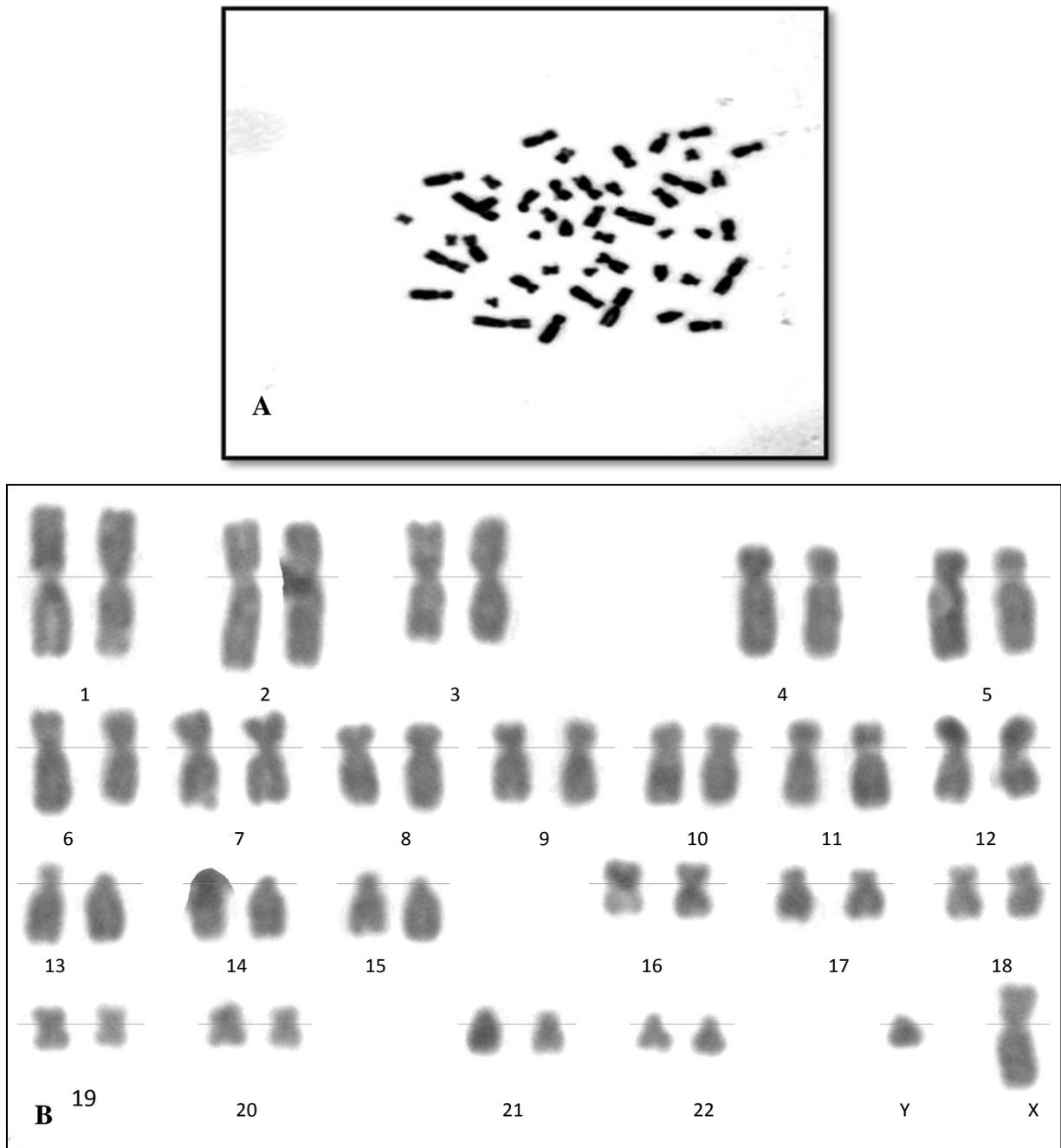


Figure 9: Résultats de l'analyse cytogénétique des cas témoins.

A. Stade de la métaphase d'une mitose du cas témoin observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype du cas témoin (46, XY)

- Le groupe 1 comporte les patients 1, 5, 6, 7, 9 et 10. Ils présentent un caryotype normal ; aucune anomalie du nombre ou de structure des chromosomes n'a été décelée (annexe 2) Exemple : le patient N°7, présente un caryotype 46, XY dans 26 mitoses sur 28 (Figures 10 et 11).

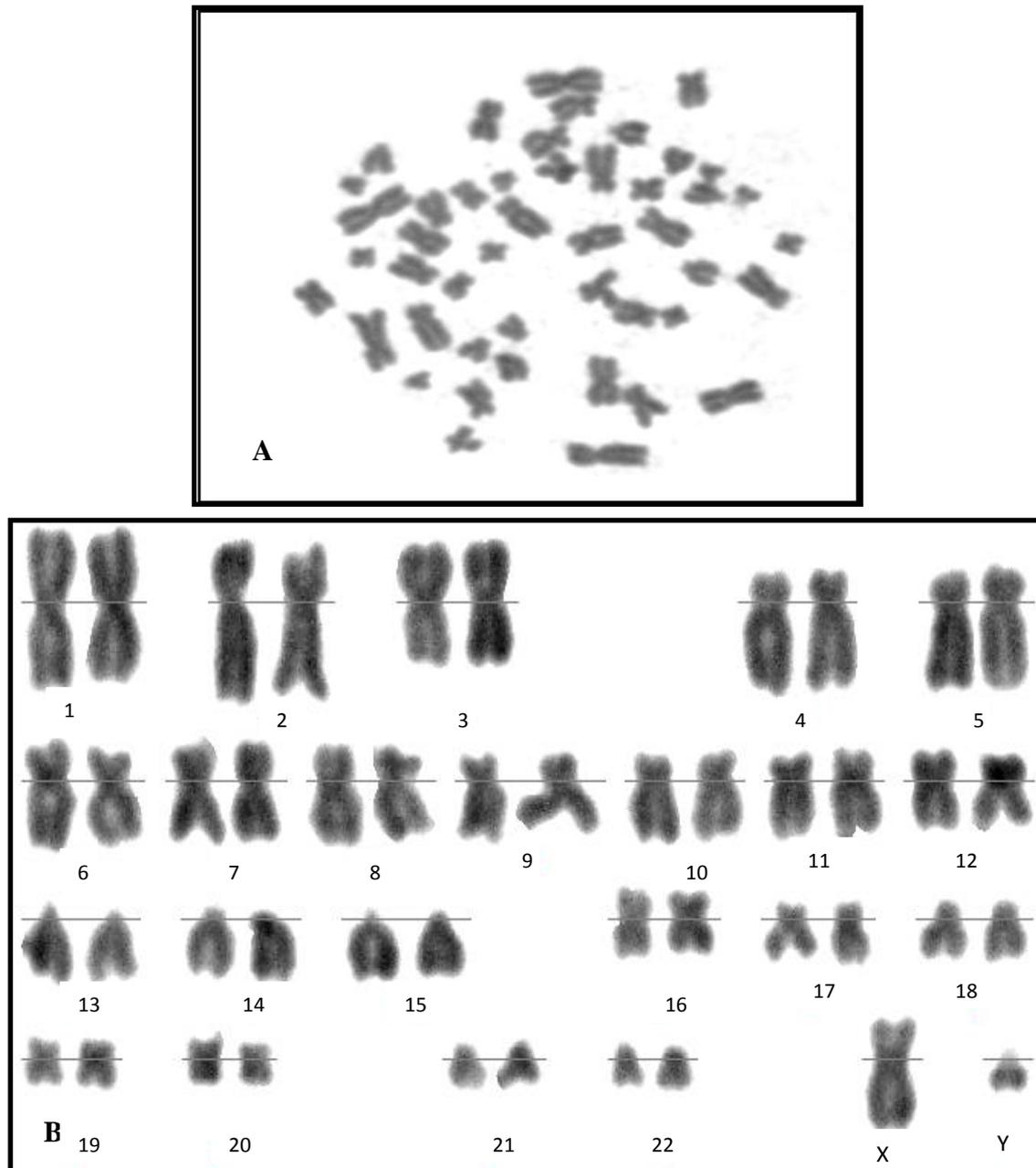


Figure 10 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°7 du groupe 1.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XY)

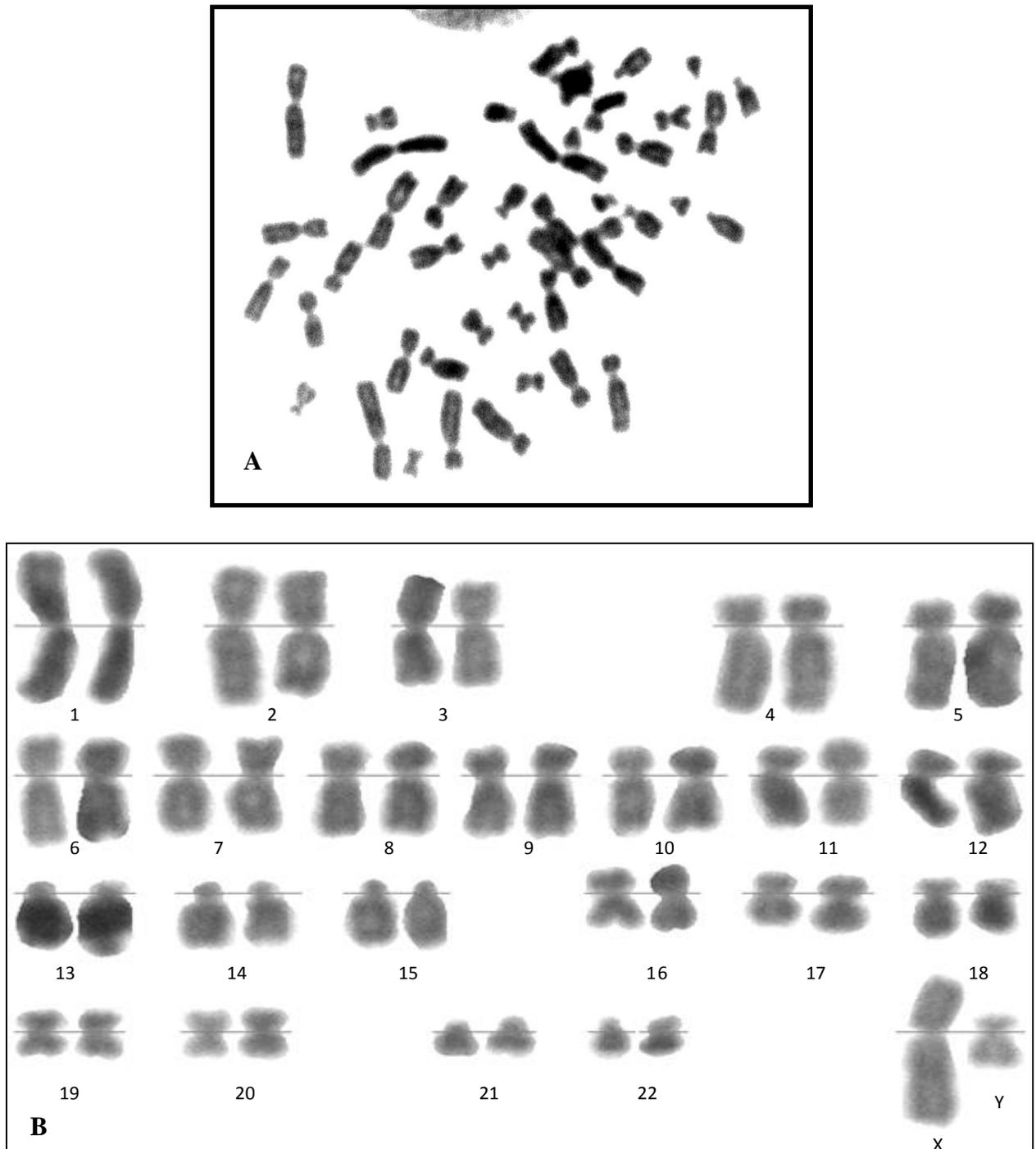


Figure 11 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°9 du groupe 1.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XY)

Les patients du groupe 1 semblent avoir un caryotype normal. La survenue de spina bifida chez ces patients pourrait être due à des facteurs liés à l'état physiologique de la maman durant la grossesse : la majorité d'entre elles ont présenté une anémie et une hyperthermie. Cependant, ce résultat ne nous permet pas de disculper le facteur génétique. En effet, la détection des anomalies de structure est plus complexe que celle du nombre, elle nécessite des techniques de cytogénétiques moléculaires et de biologie moléculaire plus sensibles telles que : le **Banding**, la **FISH** (fluorescence in situ hybridization), la **CGH** (Comparative Genomic Hybridization) et la **CGH-array**. Ces techniques permettent de caractériser de manière plus ciblée les microremaniements chromosomiques, non détectables par le caryotype métaphasique (**Sahoo et al., 2006**).

Plusieurs auteurs ont démontré que les techniques de cytogénétique moléculaire sont un outil très performant qui aide à la compréhension de la base génétique de cette affection. **Gustavsson et al., 2007** rapportent le cas d'un caryotype normal d'une fille atteinte de spina bifida associé à un retard mental. L'analyse des chromosomes par FISH et CGH révèle une duplication au niveau du chromosome 16 correspondant à un gain de 19,8 Mb d'ADN. **Ben Abdallah et al., 2011**, rapportent une observation similaire : le caryotype, d'apparence normal, d'une fille atteinte de spina bifida, s'avère être anormal par la technique des microarrays HCG. Une translocation réciproque t (2, 3) a été mise en évidence, à l'origine d'une trisomie 2q35 et monosomie partielle 3p26.

L'existence d'un cas de récurrence et de fausses couches répétées, au sein de ce groupe a attiré notre attention, et a conforté l'hypothèse de l'implication de la composante génétique dans la survenue de ces manifestations. Nous avons donc entrepris d'effectuer un banding G et R, dans l'espoir de mettre en évidence une anomalie dans le caryotype de ce patient. Aucun résultat concluant n'a été observé, du fait d'une mauvaise mise au point du protocole de cette technique. Les fausses couches répétées sont un signe d'anomalies génétique/chromosomiques. Des trisomies létales telles que la trisomie 18 et 13 ont souvent été incriminées dans ces manifestations (**Chen A, 2007**). Un caryotype des parents et du fœtus est conseillé, dans le but de formuler un conseil génétique.

- Le groupe 2 comporte les patients 2 et 4 qui présentent un nombre variable de chromosomes d'une mitose à une autre, ce qui nous laisse suspecter un cas de mosaïque. Exemple : le patient N°2, présente un caryotype 45, XO dans 12 mitoses ; 46, XX dans 20 mitoses ; 47 (Figures 12, 13 14 et 15)

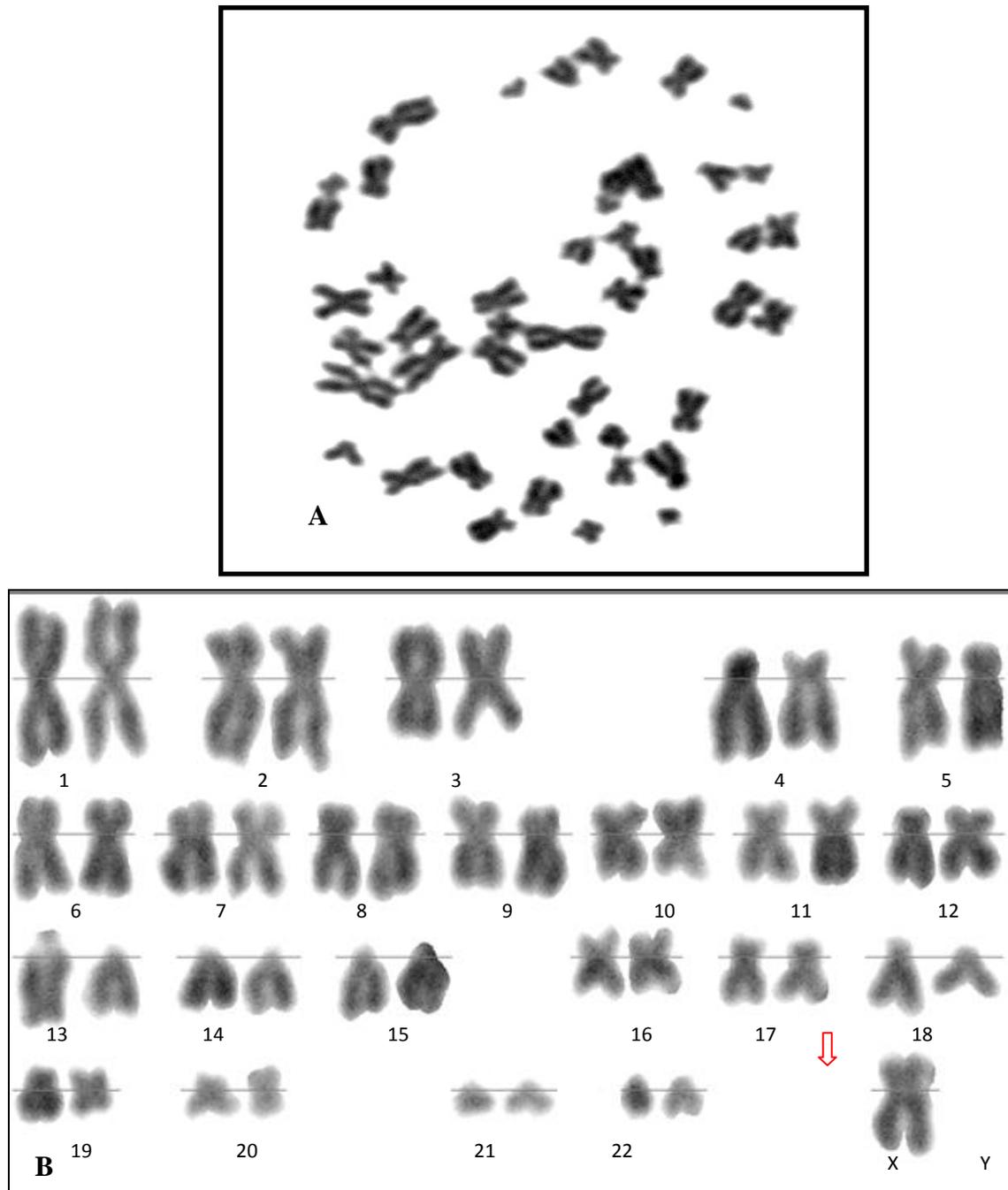


Figure 12 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°2 du groupe 2.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (45, XO)

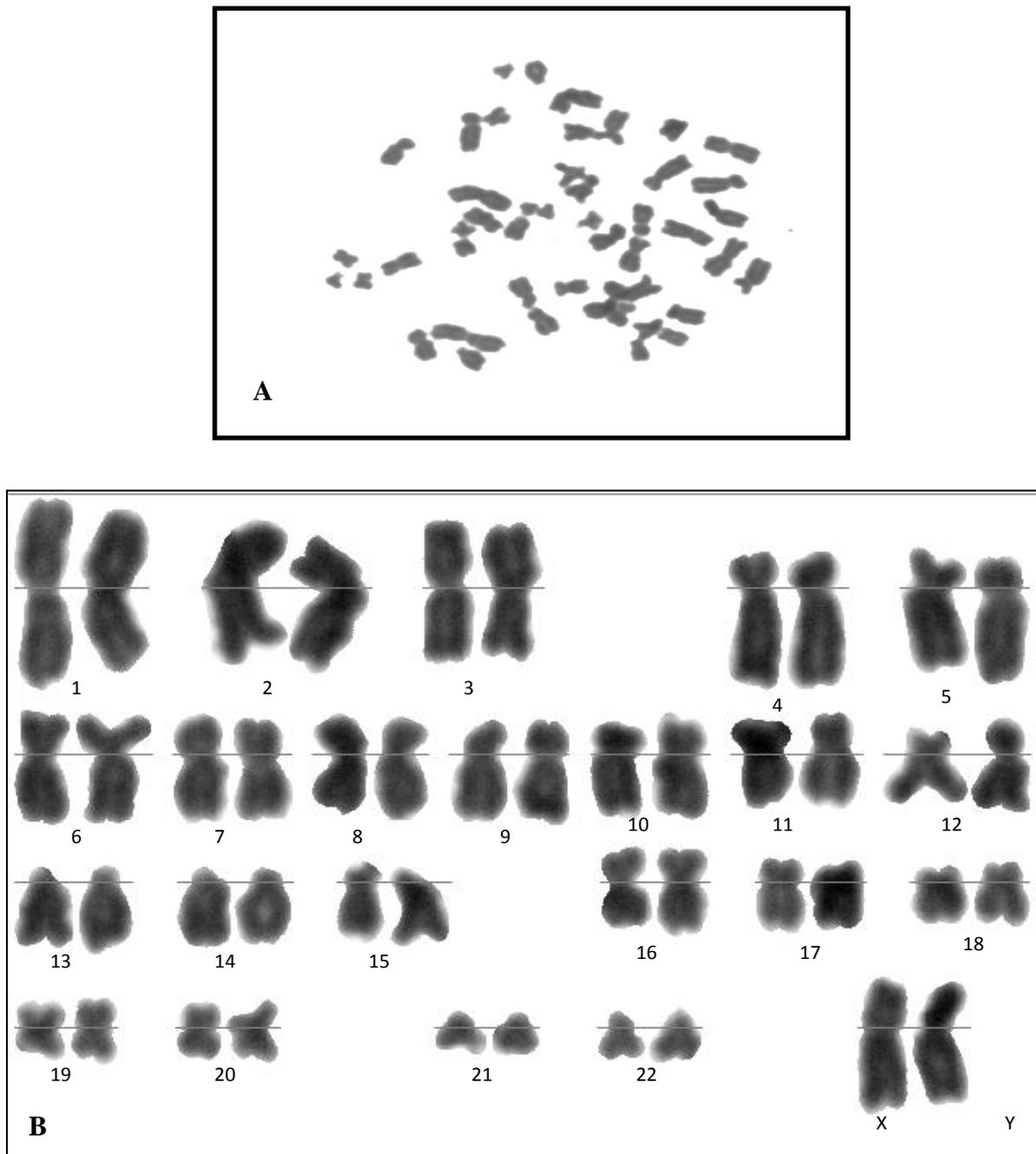


Figure 13 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient №2 du groupe 2.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XX)

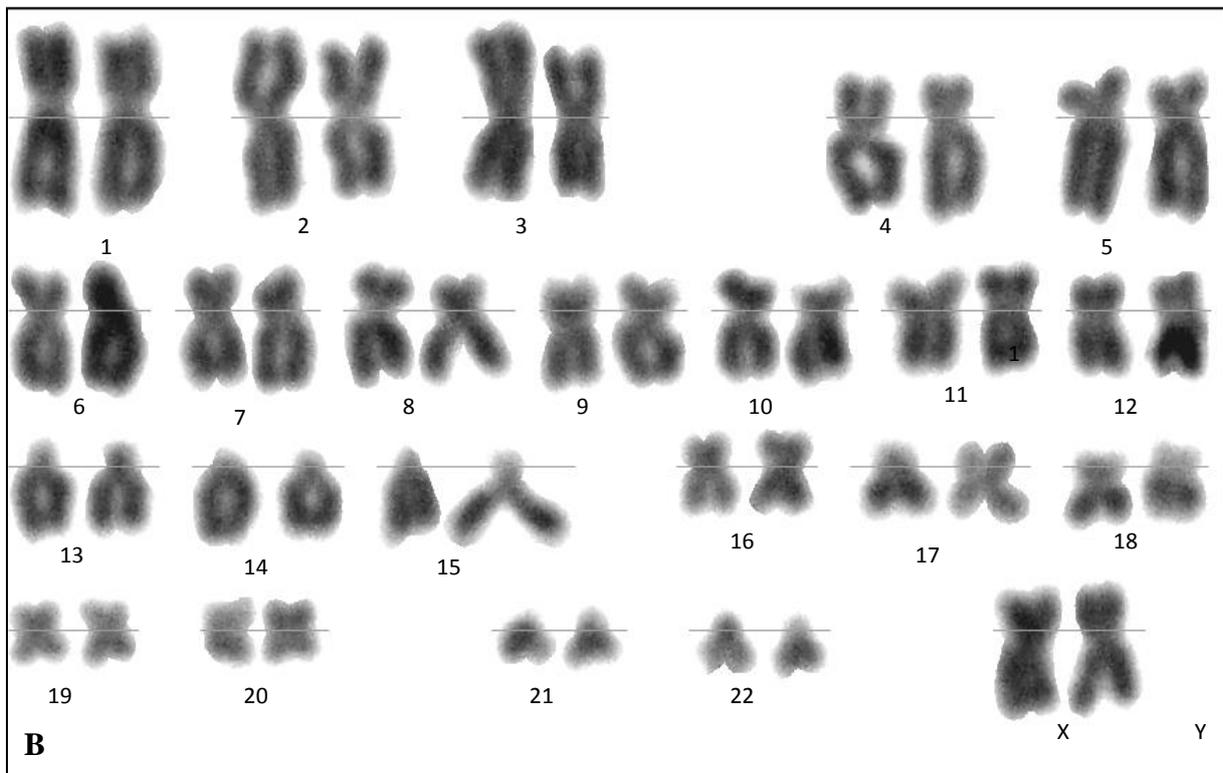
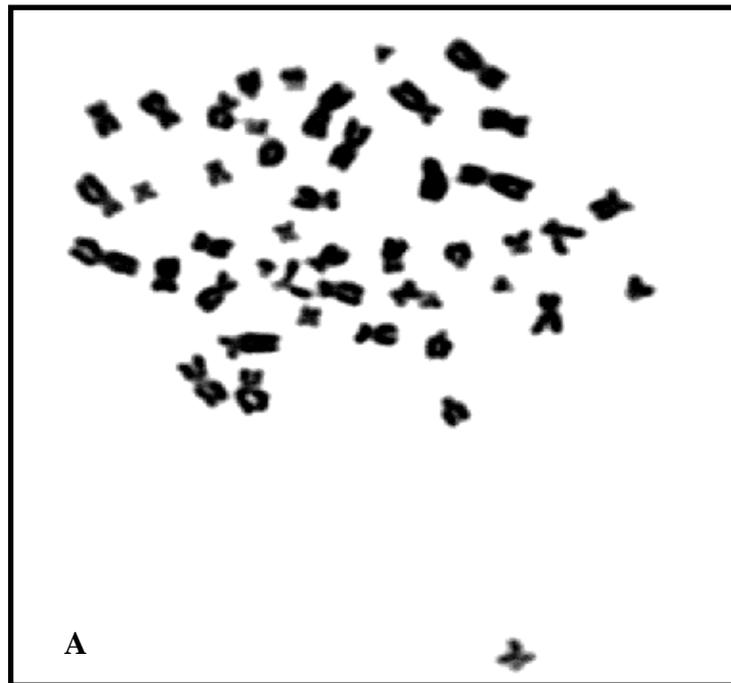


Figure 14: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient №4 du groupe 2.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XX)

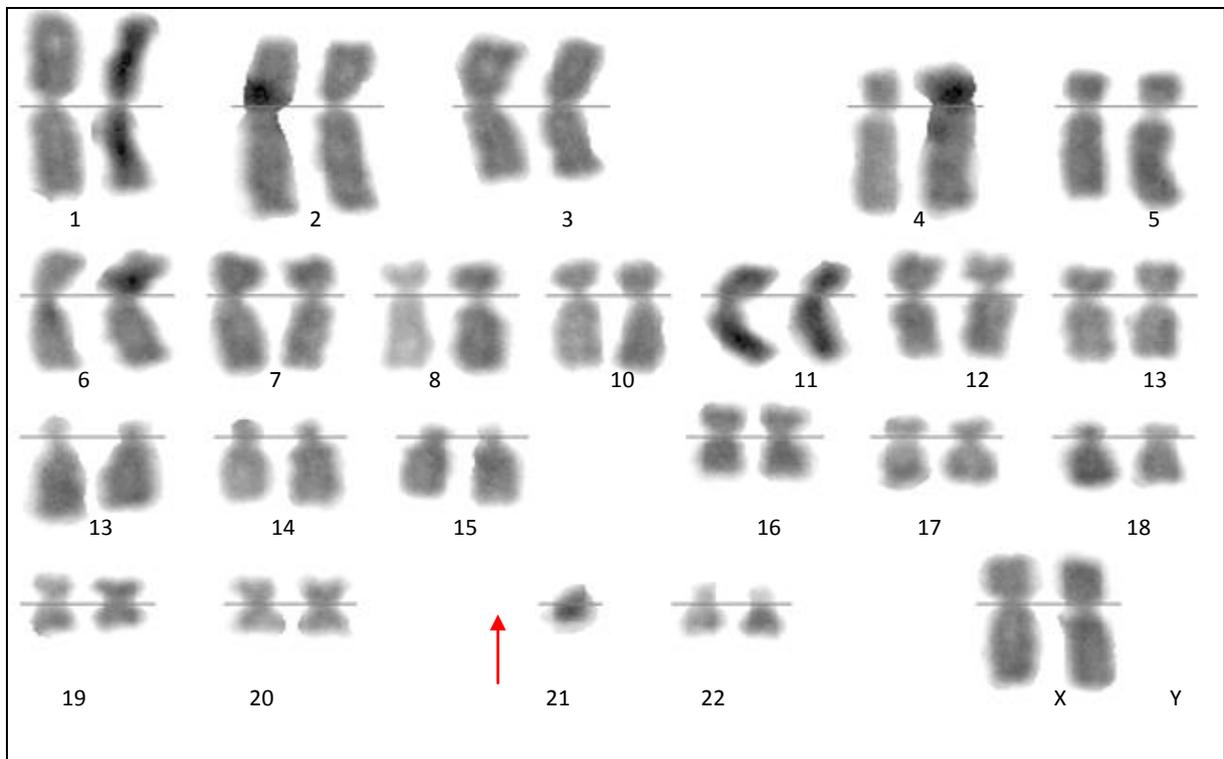
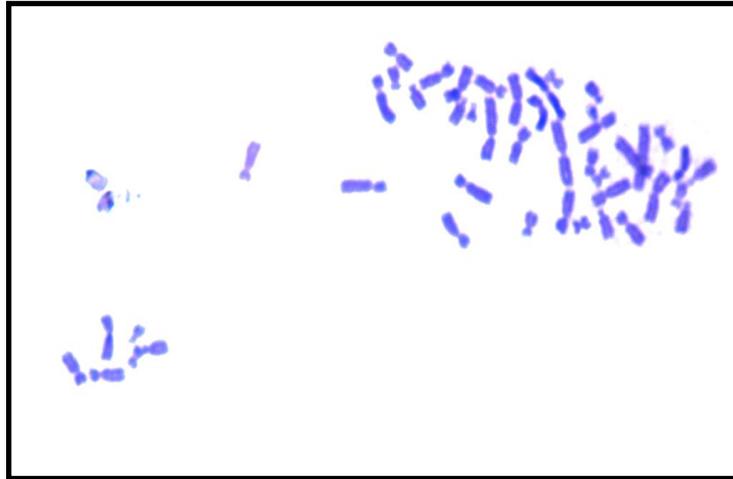


Figure 15: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient №4 du groupe 2.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (45, XX) monosomie 21

Dans le groupe 2, deux patients (N° 2 et 4) ont présenté des mosaïques. Le mosaïsme est défini comme l'existence de deux (ou plus) populations cellulaires ayant des caryotypes différents. Nous avons déterminé 4 caryotypes différents, pour les deux patients, dont des monosomies des trisomies et un caryotype normal. **Bishun et al., 1968** ont rapporté un cas de mosaïsme, chez un fœtus présentant un spina bifida. Ils ont révélé un caryotype 45, X0 /46,XX.

Le groupe 3 comporte les patients 3 et 8. Il nous a été difficile d'établir le caryotype.

Nous n'avons pas pu obtenir de caryotype pour les patients 3 et 8. En effet, aucune mitose n'a été observée. Ceci pourrait être dû à deux causes principales.

La première est purement technique : la mauvaise conservation des milieux de culture, utilisés dans le caryotype, pourrait entraîner une inhibition de la division cellulaire.

La deuxième est d'ordre physiologique : certains traitements, liés à la pathologie, favorisent la déplétion cellulaire, peu de matériel cellulaire est alors disponible pour effectuer le caryotype. Il est important de noter que ces patients étaient sous traitement au moment du prélèvement. Cette information pourrait fournir une raison à l'échec de la manipulation.

Conclusion :

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'aspect génétique d'une anomalie de fermeture du tube neural appelé spina bifida. Grâce à un questionnaire complet, adressé à 10 patients atteints de cette affection, nous avons :

- déterminé les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de cette population : l'âge des malades variait entre 3 mois et 6 ans avec aucune prédominance sexuelle. Tous présentaient des signes cliniques révélateurs d'un spina bifida.
- suspecté l'implication de certains facteurs, relatifs à l'état physiologique des mères, dans la survenue de spina bifida.

L'aspect génétique a été analysé par l'établissement d'un caryotype, à partir des cellules nucléées du sang périphérique, des patients atteints et de témoins sains. Nous avons regroupé les caryotypes obtenus dans 3 groupes différents selon le type d'anomalies décelées :

- Le groupe 1 présentait un caryotype normal.
- Le groupe 2 comprenait des cas de mosaïque.
- Le groupe 3 comportait des cas où l'on ne pouvait pas obtenir de caryotype interprétable.

Les résultats du caryotype ne nous ont pas permis de tirer des conclusions quant à l'implication des anomalies chromosomiques dans la survenue de spina bifida, pour plusieurs raisons:

- Le nombre insuffisant de mitoses étudiées.
- L'état physiologique des patients : certains étaient sous médication.
- Le manque de spécificité du caryotype classique.
- Une mauvaise mise au point de la technique du banding, qui est de meilleure spécificité comparée au caryotype classique.

Ce travail nous a permis de dresser un tableau alarmant sur l'évolution de cette maladie dans notre pays. La composante génétique et l'hérédité sont d'importants facteurs de risque, au regard des caractéristiques génétiques et ethniques de notre population. La généralisation de l'analyse cytogénétique des caryotypes des patients et des parents, permettra un meilleur conseil génétique, dans le but de réduire l'incidence de spina bifida.

Notre travail ouvre à d'importantes perspectives :

- L'utilisation de nouvelles techniques de cytogénétique moléculaire, telles que le banding, la FISH et la CGH, dans la détection des anomalies chromosomiques associées à cette pathologie.
- Etendre l'étude à un nombre plus important de patients et de réaliser les caryotypes des mères, des pères et de tous les membres atteints ou ayant enfanté un enfant atteint
- Etendre l'étude à l'échelle de la famille, voir la population. Ceci nous permettra de calculer le risque lié à la consanguinité et de faire des études comparatives entre les différents groupes ethniques qui composent la population algérienne.

Enfin, nous suggérons certaines recommandations :

- La prévention à base d'une supplémentation en acide folique pendant la période périconceptionnelle et le dépistage anté-natal en vue d'une éventuelle interruption volontaire de la grossesse limite la survenue de cette anomalie.
- La prise en charge des enfants est multidisciplinaire. Elle reste astreignante pour le malade que pour ses parents.
- La réalisation des campagnes de sensibilisation dans les régions rurales qui préviennent des risques liés aux mariages consanguins
- Plus de rigueur dans le suivi médical et les interrogatoires ; ainsi qu'une enquête familiale est nécessaire.
- Insister sur la prise de l'acide folique chez les femmes enceintes.
- pratique régulière des échographies au cours des consultations prénatales

Annexe 1 :

1.Dysraphisme spinal : fiche technique:

Données épidémiologiques

Nom :	N° du dossier :
Prénom :	Date d'admission :
Age :	Date d'opération :
Sexe :	Origine :
Fratricité :	Date de sortie :

Facteurs probables de risque

- 1-hérédité :
- 2-consanguinité : degré :
- 3-prise de l'acide folique (B9)/facteurs socio-économiques :
- 4-prise des anticonvulsifs
- 5-obésité
- 6-hyper insulinémie/diabète
- 7-fièvre au début de la grossesse

Classification

- 1- (OSD) :MMC/Myelocele/hémimyelomeningocele/Chiari / hemimyocele
 - 2- (CSD) →avec masse sous cutané :→lombosacré
 - liop-MMC
 - MC
 - cervical
 - Myelomeningocele
 - MC sans masse sous cutané simple état dysraphique
-

2. Matériel spécifique au caryotype :

2.1. Equipements

Le laboratoire dispose des équipements qui nous permettent de réaliser le caryotype :



Hotte à Flux laminaire



Centrifugeuse



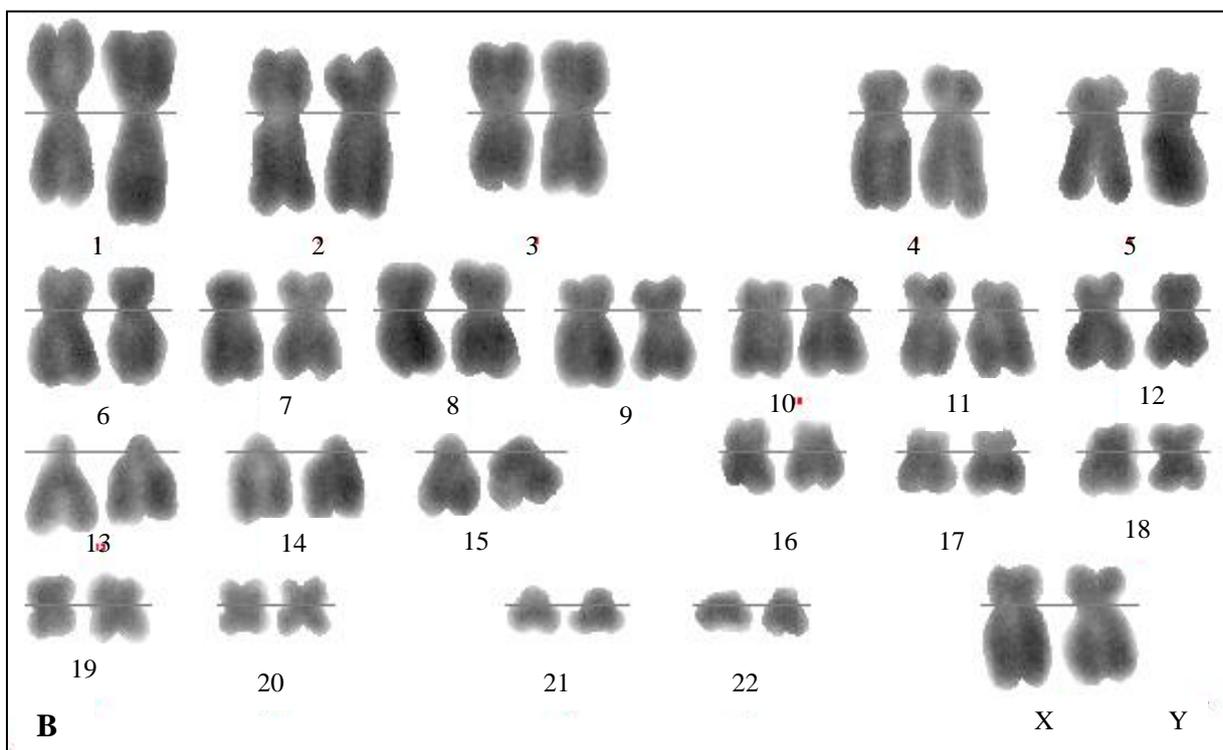
Etuve



vortex

2.1. Verrerie et autres matériel

- ✓ Lamelle couvre objet en verre.
- ✓ Portoir.
- ✓ Micropipettes réglables.
- ✓ Bécher.
- ✓ Gant jetable.
- ✓ Pipette automatique 100µl.
- ✓ Pipettes automatique 1000µl.
- ✓ Pipettes automatique 20 µl.
- ✓ Pipettes pasteur stérile.
- ✓ Pipettes stériles graduées.
- ✓ Pissette.
- ✓ Poires.
- ✓ Portoir à tube.

Annexe 2 :**▪ Résultats de Groupe N° 1 :****Le groupe 1 comporte les patients 1, 5, 6, 7, 9 et 10 :****Figure16** : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°1 du groupe 1.**A.** Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.**B.** Caryotype (46, XX)

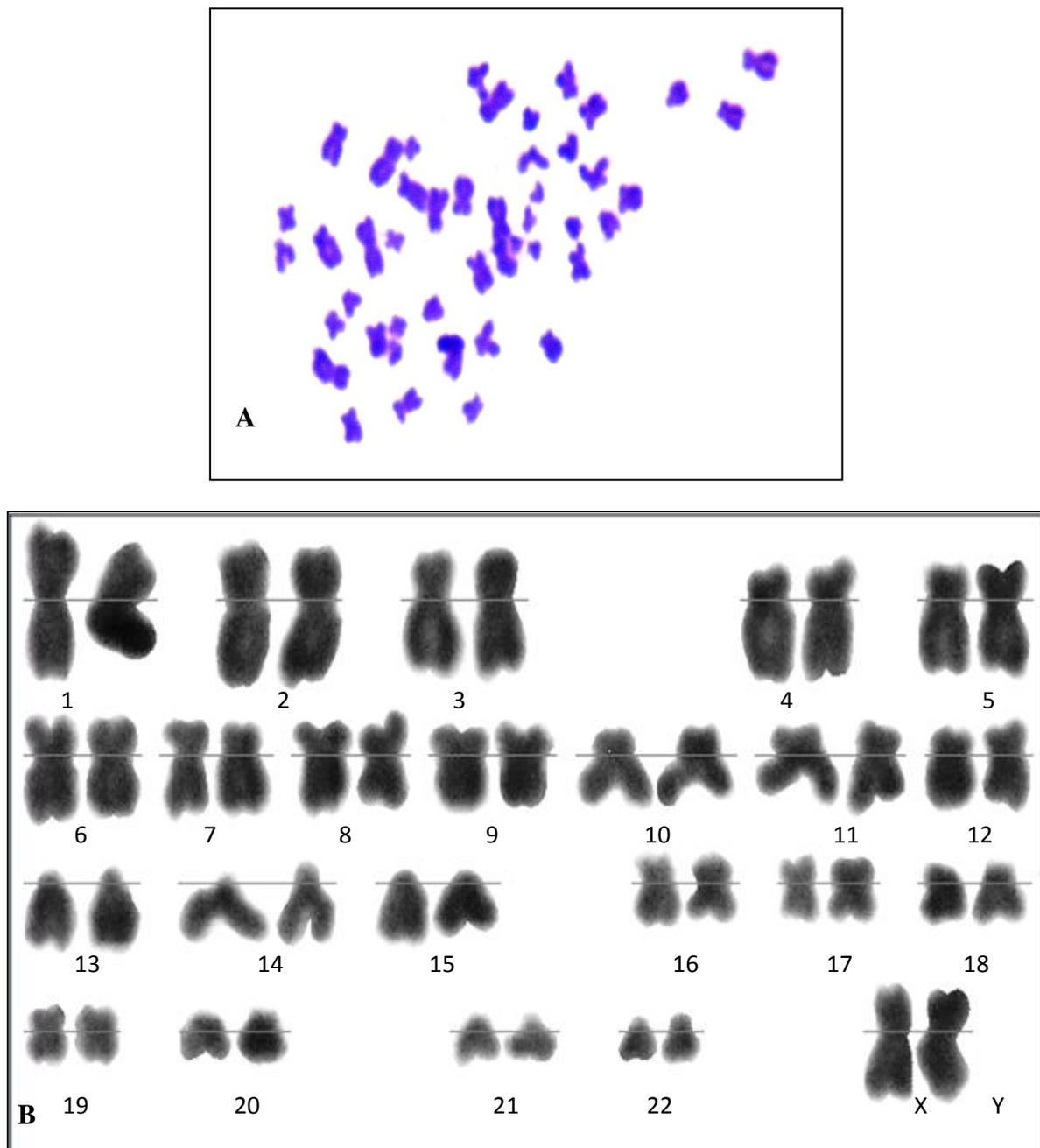


Figure 17 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°1 du groupe 1.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XX)

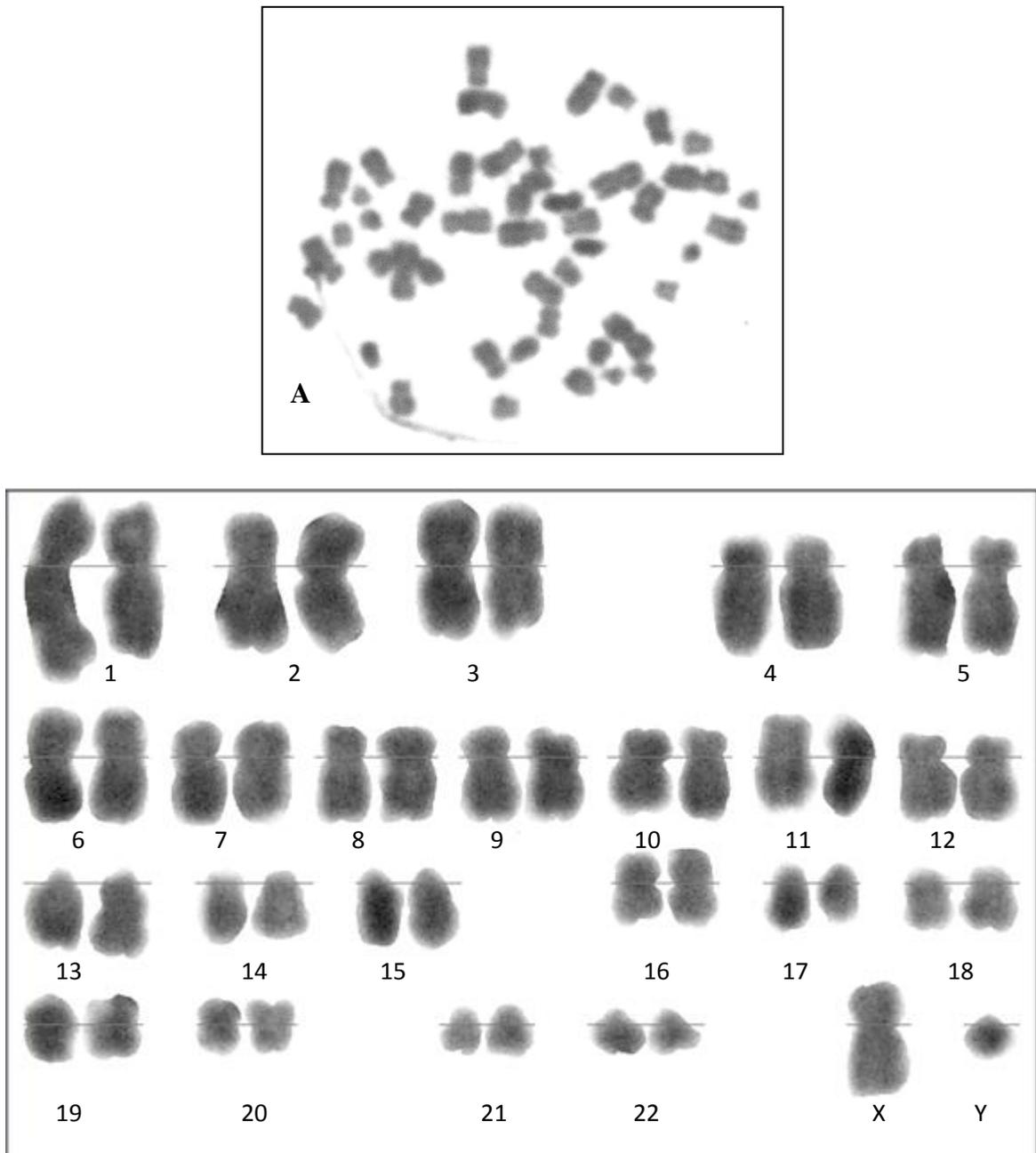


Figure 18: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient №5 du groupe 1.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XY)

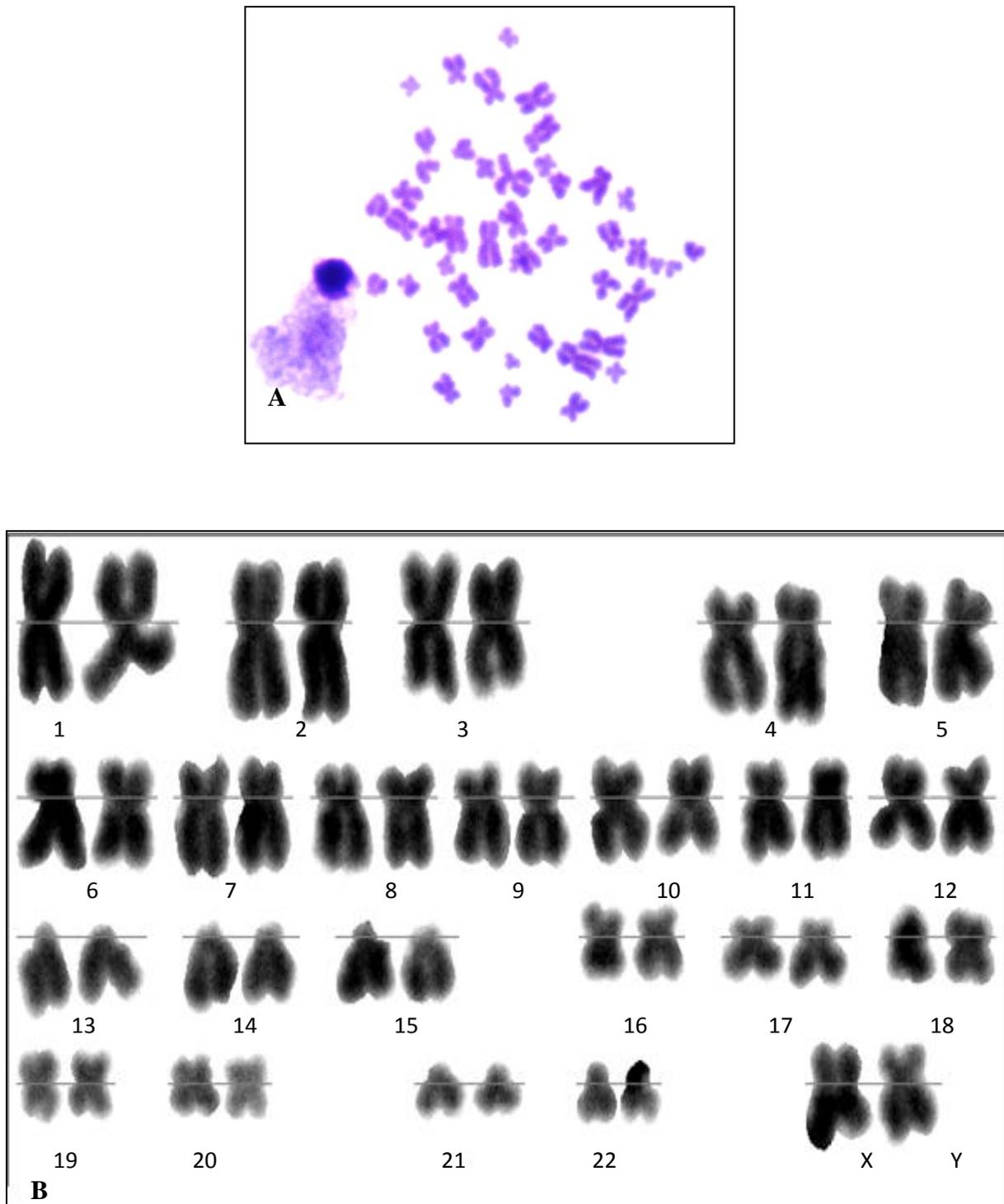


Figure 19: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient №6 du groupe 1.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XX)

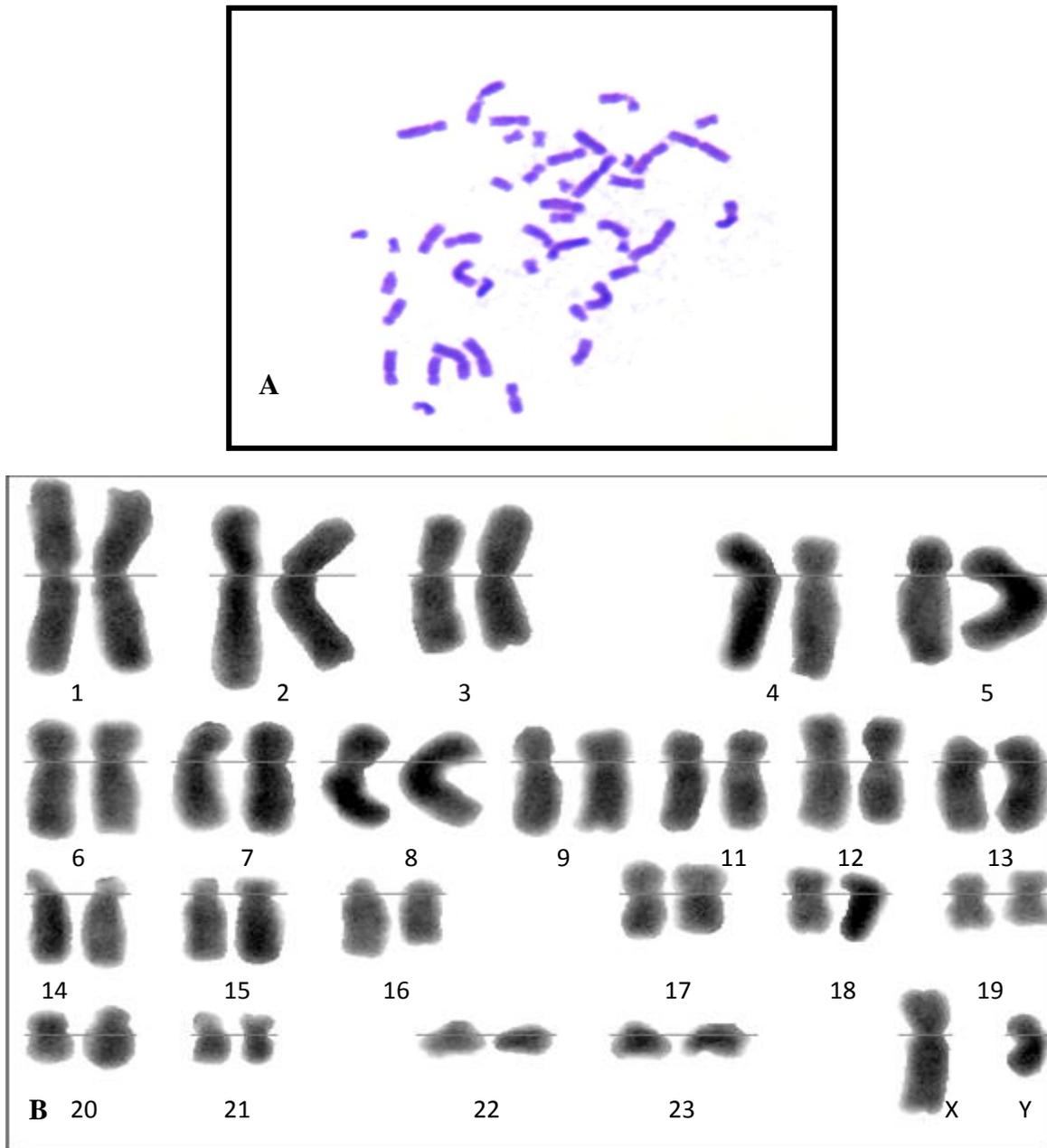


Figure 20 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°7 du groupe 1.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XY)

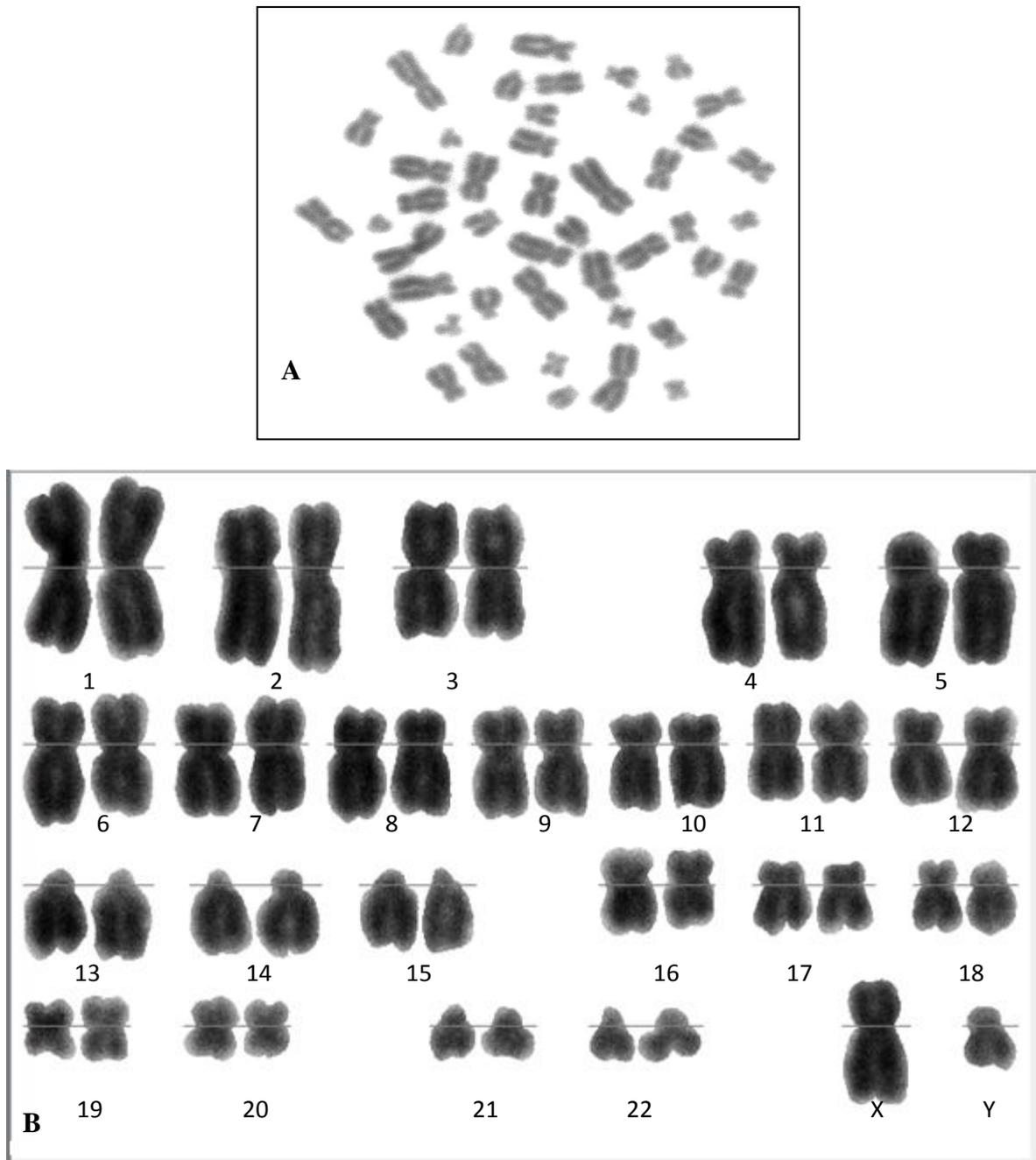


Figure 21 : Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N° 9 du groupe 1.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XY)

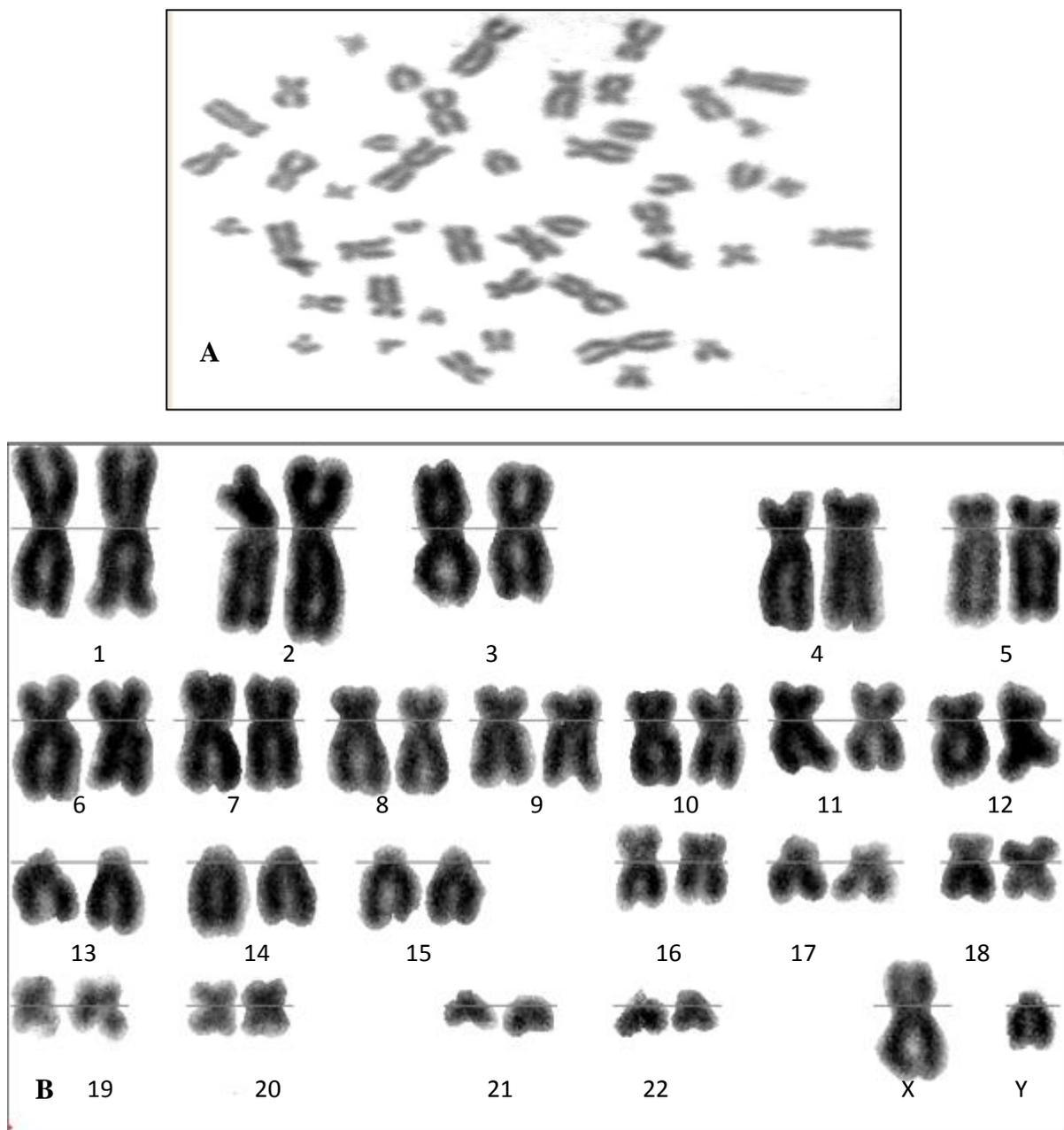


Figure 22: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N°10 du groupe 1.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (46, XY)

Groupe N2 :

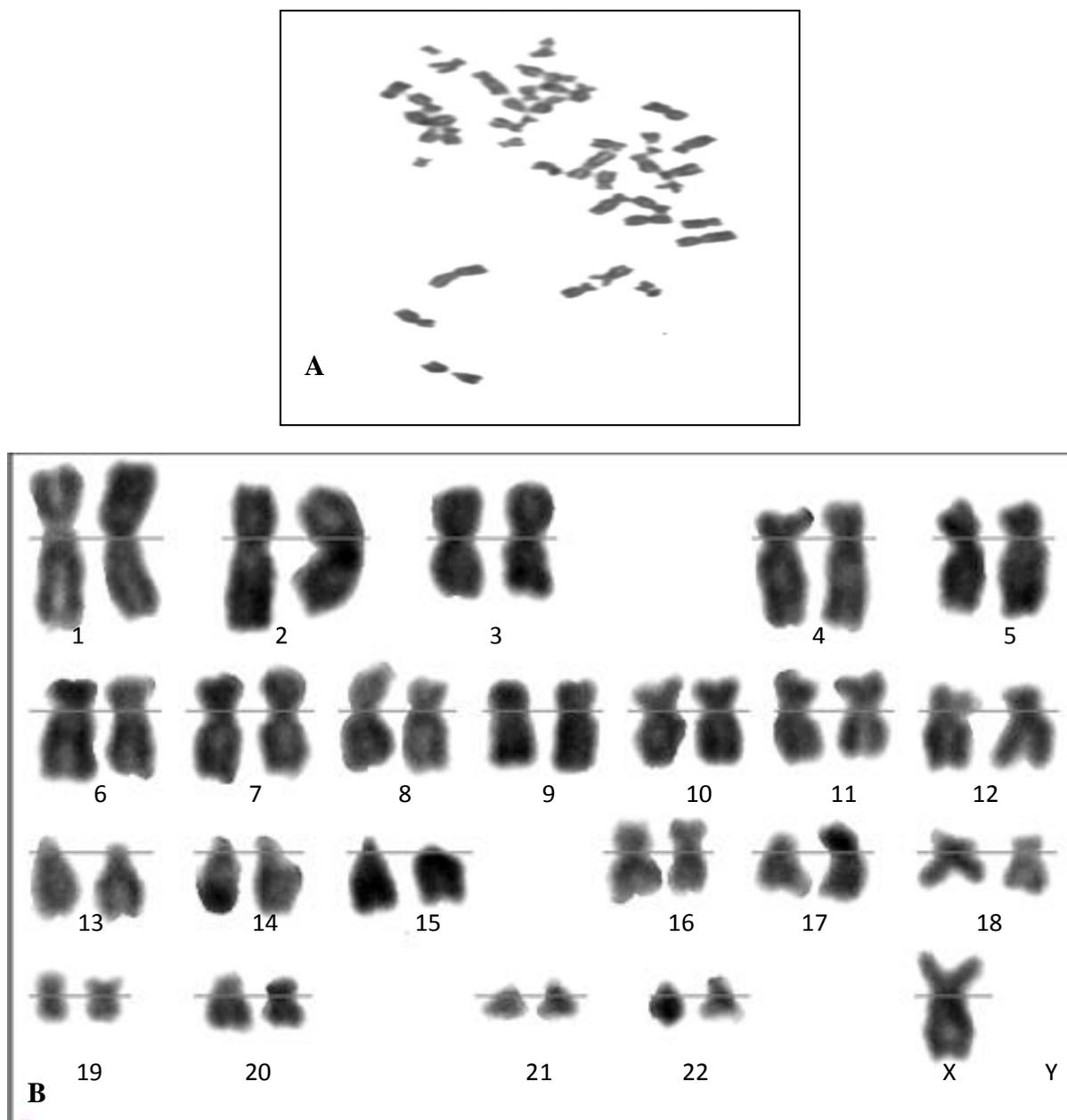


Figure 23: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient N^o2 du groupe 2.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (45, X0)

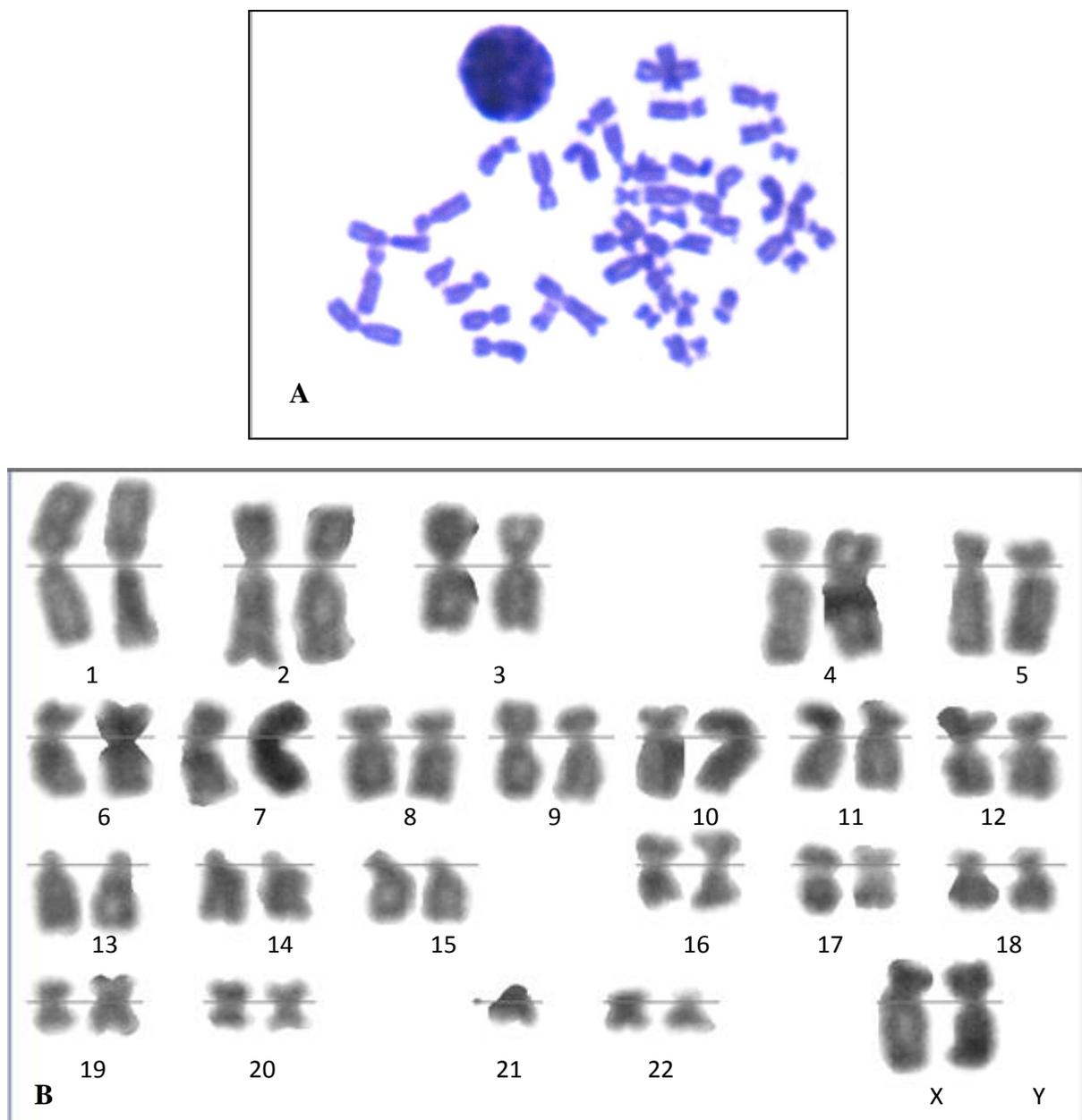


Figure 24: Résultats de l'analyse cytogénétique du patient №4 du groupe 2.

A. Stade de la métaphase d'une mitose observé au microscope photonique au grossissement 100.

B. Caryotype (45, XX) monosomie 21.

References:

- Abbas A, N. Abadi, D. Naimi, K. Sifi, et C. Benlatreche (2012). Recherche de la mutation C677 T du gène codant pour la méthylène tétrahydrofolate réductase (*MTHF*) dans les anomalies de fermeture du tube neural (AFTN) à Constantine. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* **xxx**, xxx—xxx.
- Adzick N. et D.Walsh (2003) Myelomeningocele: Prenatal Diagnosis, Pathophysiology and Management. *Seminars in Pediatric Surgery* **12**: 168-174.
- Au K. S, A. Ashley-Koch, et H. Northrup (2010) Epidemiologic and genetic aspects of spina bifida and other neural tube defects. *Dev Disabil Res Rev.* **16**: 6–15.
- Babcook C J, H. R Ball, et M L. Feldkamp (2000) Prevalence of Aneuploidy and Additional Anatomic Abnormalities in Fetuses with Open Spina Bifida: Population Based Study in Utah. *J Ultrasound Med.* **19**:619–623.
- Ben Abdallah I, Hannachi H, N Soyah, A Saad, et H Elghezal, (2011) Chromosomal Microarray Analysis in a Girl With Mental Retardation and Spina Bifida. *Pediatr Neurol*; **44**:65-68.
- Barlow-Stewart K. Neural Tube Defects -Spina Bifid et Anencephaly.(2007) *Gayathri Parasivam* ;**367**:1352-61.
- Bishun, N Rashad, Morton, Mannion, Neely, et Burke (1969) Chromosomal mosaicism in a case of repeated abortion. *Lancet*, **1**: 936.
- Bassuk A.G, et Z Kibar (2009). Genetic Basis of Neural Tube Defects. *Semin Pediatr Neurol* **16**:101–110.
- Briard M L et M –Delvallez . (1998) Anomalies chromosomiques .*Encycl Méd Chir (Elsevier ,Paris) ;AKOS Encyclopédie Pratique de Médecine* , 8-0400 :5p.

- Cabaret A- S (2004) Troubles de fermeture du tube neural: etiopathogenie et facteurs pronostiques a partir de 38cas du centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal de rennes. Thèse de doctorat en médecine.
- Cailliez J-C et K Verreman (2004) dictionnaire de biologie cellulaire et moléculaire, ed : ellipses ,315P.
- Carter CO,PA David , et K M Laurence (1968) A family study of major central nervous system malformation in South Wales .*J Med Genet* ;5:81-106.
- Chatkupt S, JH Skurnick ,et M Jaggi (1994) stady of genetic , epidemiology and vitamin usage in familial spina bifida in the united states In 1990s .*Neurology*; 44:65-70.
- Chen C P (A) (2007) chromosomal abnormalities associated with neural tube defects (i): full aneuploidy.*Taiwan J Obstet Gynecol*;46:325–335.
- Chen C P (B) (2007) chromosomal abnormalities associated with neural tube defects: partial aneuploidy . *Taiwan J Obstet Gynecol*; 46:336–351.
- Chodirker B.N, C. Cadrin, G.A.L. Davies, A. M Summers, R.D. Wilson, E.J.T. Winsor, D.Young (2001) indications génétiques pour un diagnostic prénatal . *J Soc Obstet Gynaecol Can* ;23:532-9.
- Demenais F, Le Merrer M, Briard ML, Elston RC (1982)Neural tube defects in France: segregation analysis. *Am J Med Genet*; 11: 287–98.
- Detrait E. R , T. M George, H. C. Etchevers, J. R Gilbert,M Vekemans, M. C Speer (2005) Human neural tube defects: Developmental biology,epidemiology, and genetics . *Neurotoxicology and Teratology* 27:515–524.
- Fletcher M J, et T .J Brei (2010). Introduction: Spina Bifida—A Multidisciplinary Perspective . *Dev Disabil Res Rev.* 16(1): 1–5.

- Frey L et w. A Hauser (2003) epidemiology of neural tube defect *.epelipsia* **44**:4-13.
- Gautheron V (2002) Le spina bifida. In:Déficiences motrices et situation de handicap. 2^e ; édition. Paris: APF; **505:246 -249**
- Greene N D.E, P Stanier et A .J Copp (2009) Genetics of human neural tube defects.*Human Molecular Genetics*, **18**:113–129.
- Goodrich T J :A Historical Review of the Surgical Treatment of Spina Bifida in: (2008) The Spina Bifida Management and Outcome. Springer;(2^{eme} ed):1-522.
- Gustavsson P, J Schoumans , J Staaf ,A Borg , M Nordenskjöld , G Annerén (2007) Duplication 16q12.1eq22.1 characterized by array CGH in a girl with spina bifida. *European Journal of Medical Genetics* **50**: 237-241.
- Jauffret E (2006) Spina bifida. EMC (Elsevier SAS, Paris), *kinesithérapie-médecine physique-réadaptation*, 26-472-B-10.
- Josan V, A Morokof, et W. J Maixner. (2008) Prevalence of neural tube defects in 20 regions of Europe and the impact of prenatal diagnosis, 1980-1986. EUROCAT Working Group (1991) *.J Epidemiol Comm Health* .; **45**:52-58.
- Kernbaun S et Jean – pierre (2008) dictionnaire de médecine Flammarion,*medecine science -flammarion* : 8^{eme} édition ,1133P.
- Milunsky A, M Ulcickas, KJ Rothman, W Willet, SS Jick, et H Jick. (1992) Maternal heat exposure and neural tube defects. *JAMA*; **268**: 882–85.
- Mitchell L E, N. S Adzick, J Melchionne, P. S Pasquariello, L. N Sutton,et A. S Whitehead(2004). Spina bifida. *Lancet*. **364**: 1885–95.
- Moretti ME, Bar-Oz B, Fried S, et Koren G (2005) Maternal hyperthermia and risk for neural tube defect in offspring: Systematic review and meta analysis. *Epidemiology Mar*; **16**: 216–9.

- McLeod L, et Ray JG (**2002**) Prevention and detection of diabetic embryopathy. *Community Genet*; **5**: 33–39.
- Namour F, J Olivier, I Abdelmouttaleb, C Adjalla, R Debard, C Salvat, J Gueant (**2001**). Transcobalamin codon 259 polymorphism in HT-29 and Caco-2 cells and in Caucasians: relation to transcobalamin and homocysteine concentration in blood. *Blood* .**97**:1092-1098.
- Pietrzyk JJ. (**1980**) Neural tube malformation: complex segregation analysis and recurrence risk. *Am J med genet*; **7**:293-300.
- Poloce F, et C Boisson-Gaudina (**2010**). Marqueurs seriques maternels d'anomalies foetales(trisomie 21, anomalies chromosomiques, spina bifida,...).*Elsevier Masson SAS* ;**421** :59-68 .
- Purves D, A Shimpi, et R B Lotto (**1999**). An empirical explanation of the cornsweet effect. *J Neurosci* .**19**:8542-8551.
- Rădulescu M,et E. C Ulmeanu. (**2012**) Prenatal ultrasound diagnosis of open spinal dysraphism in the cervical vertebrae. Case report. *Medical Ultrasonography*. **14**: 254-256.
- Rothenberg S P, M.P. da Costa, J.M. Sequeira, J. Cracco, J.L. Roberts, J. Weedon,et E.V. Quadros (**2004**) Autoantibodies against folate receptors in women with a pregnancy complicated by a neural-tube defect, N. *Engl. J. Med.* **350**: 134– 142.
- Rozen R. (**2010**) Biochemistry and genetics of folate metabolism. *Cerebrospinal Fluid Research* **7**:1-4.
- Safi J, L. Joyeux, et G. E. Chalouhi (**2012**) Periconceptional Folate Deficiency and Implications in Neural Tube Defects. *Journal of Pregnancy*. **2012** :1- 9 .

- Sahoo T, S W Cheung, P Ward, S Darilek, A Patel ,D Gaudio, S L. Kang, S R. Lalani, J Li, A Burke, A L. Beudet, et Christine M. Eng, (2006) Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities using array-based comparative genomic hybridization *Genet Med* ;**8**:719–727.
- Sandford MK, Kissling GE, et Joubert PE. (1992) Neural tube defect etiology: new evidence concerning maternal hyperthermia, health and diet. *Dev Med Child Neurol*; **34**: 661-75.
- Solo Ares G, S.Caron, et F.Tempremant.(2012) imagerie des malformation médullaires.*EMC Radiologie et imagerie médicale.neurologie maxillofiscale*.**31** :673 - A -15.
- Suzuki K (2007).Neuropathology of developmental abnormalities. *Brain & Development* **29** : 129–141.
- sylva S (2008) Etude du spina bifida dans le service de chirurgie Pédiatrique du chu gabriel toure these de doctorat en médecine.
- Taylor B H, S. H Landry, M Barnes, P Swank, L. B Cohen, et J Fletcher (2010). Early information processing among infants with and without spina bifida. *Infant Behavior & Development*. **33** : 365–372.
- Toriello HV, Higgins JV. (1983) Occurrence of neural tube defects among first-, second-, and third-degree relatives of probands: results of a United States study. *Am J Med Genet*;**15**: 601-6.
- Tsujimura R, K Mominoki, M Kinutani, T Shimokawa,T Doihara, H Nabeka, H Wakisaka, N Kobayashi, et S Matsuda.(2011). Sensory tract abnormality in the chick model of spina bifida. *Neuroscience Research*;**71** :85–91.
- van der Put NM et H. J Blom (2000).Neural tube defects and a disturbed folate dependent homocysteine metabolism. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. **92**:57-61

- Vidailhet M, A. Bocquet, J.-L. Bresson, A. Briend, J.-P. Chouraqui, C. Dupont, D. Darmaun, M.-L. Frelut, J. Ghisolfi, J.-P. Girardet, O. Goulet, G. Putet, D. Rieu, J. Rigo, et D. Turck. (2008). Préventions par l'acide folique des défauts de fermeture du tube neural : la question n'est toujours pas réglée. *Elsevier Masson. Archives de Pédiatrie*; **15**:1223-1231.
- Visconti D, G Noia, S Triarico, T Quattrocchi, M Pellegrino, B Carducci, M Santis, et A Caruso (2012). Sexuality, pre-conception counseling and urological management of pregnancy for young women with spine bifida. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* **163** :129–133.
- Wanat S, M. Brazier, F. Boitte, et C. Lemay (2005) Étude des concentrations sériques en vitamines B9 et B12 dans une population de femmes ayant porté un foetus atteint de malformation du tube neural. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* **20** : 28–31.
- Wang C, X Zhang, S Bialek, et M J. Cannon (2011) Attribution of Congenital Cytomegalovirus Infection to Primary Versus Non-Primary Maternal Infection. *Clinical Infectious Diseases*; **52**:11–13.
- Xiaowei W, H Li, J Mi, F Zhoua, B Liua, D Wua, S Li , Lili Wanga, Y Fana, W Wangb, et Z Yuana (2012). Disturbed apoptosis and cell proliferation in developing neuroepithelium of lumbo-sacral neural tubes in retinoic acid-induced spina bifida aperta in rat .*Int. J. Devl Neuroscience* ; **30** :375–381.