

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et Biologie

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزينية

Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Physiologie Cellulaire et Physiopathologie (PCPP)

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Étude clinique et cytogénétique de l'anémie de Fanconi chez une population de l'Est Algérien.

Présenté par : BENDAKIR Nour el houda

Le 21/06/2023

SAIDI Amina

Jury d'évaluation :

Présidente : ROUBAH. L (Professeur-UFM Constantine 1)

Encadrante 1 : DALICHAUCHE. I (MCB –UFM Constantine 1)

Encadrante 2 : SELLAM. F (MCB - Centre de Recherche National en Biotechnologie)

Examinatrice : DAHMANI Dahbia Ines (MCA - UFM Constantine 1)

Année universitaire
2022 - 2023

Remerciements

Avant tout, nous remercions infiniment le bon dieu, le tout puissant de nous avoir guidée, d'avoir éclairé notre chemin et nous avoir donné la force et le courage et même la volonté pour la réalisation de ce mémoire.

Au terme de notre travail on tient à remercier tout d'abord nos encadrantes Dr. DALICHAOUICHE Imane et Dr. SELLAM Feriel pour avoir encadré ce mémoire. Dr. DALICHAOUICHE Imane pour le grand plaisir qu'elle nous a fait en acceptant de nous encadrer, pour l'aide très précieuse qu'elle nous a apportée et pour sa patience et ses précieux conseils. Dr. SELLAM Feriel pour son soutien infini, pour sa disponibilité, d'avoir partagé avec nous ses expériences qui nous ont permis d'accomplir ce travail.

Nous sommes très reconnaissantes envers notre professeur ROUABAH Laila qui nous a offert la possibilité de suivre cette formation. Nous la remercions pour sa patience et surtout pour sa confiance, sa disponibilité et sa bienveillance. Merci de nous faire l'immense honneur de présider notre mémoire de fin d'étude.

Nous tenons également à exprimer notre sincère gratitude à Dr. BENSSADA Mustapha et Mme ROUIBAH Lina pour leurs critiques judicieuses et leurs efforts et à tout le personnel du laboratoire de cytogénétique du Centre National de Recherche en Biotechnologie.

On remercie chaleureusement Mme DAHMANI Dahbia Ines de nous faire l'honneur d'examiner notre travail de fin d'étude.

Nous tenons également à remercier tous nos enseignants de notre cycle universitaire pour leurs efforts et leurs conseils au fil des années plus spécifiquement nos enseignants du parcours « PCPP ».

Dédicaces

Je dédie ce travail à mon défunt père BRAHIM (que dieu ait son âme) qui a été le premier à me soutenir et à m'encourager à aller loin dans mes études. Il m'a inculqué le gout du travail, de la rigueur et l'ambition. Même au plus fort de sa maladie, il m'avait toujours soutenue. Ainsi j'ai voulu mener à bien ce travail pour que tu sois fier de moi, PAPA. Mille fois merci papa, merci pour tout.

Repose en paix mon papa chéri.

A la lumière de ma vie, ma très chère au cœur le plus tendre et le plus doux, qui s'est beaucoup sacrifié pour me voir meilleure.

Merci Maman.

A mes sœurs Sara et Hadjer ;

A celles qui m'ont toujours soutenu, supportant mes sauts d'humeur et mon stress, inconditionnellement présentes auprès de moi.

A mon binôme Amina avec qui j'ai ce très grand plaisir de partager des instants de bonheur continu.

A tous ceux qui me connaissent et dont j'ai apprécié leurs compagnies sur cette terre qui m'a vu naître.

Nour el houda

Dédicaces

Louange à Allah, par Son aide s'accomplissent les bonnes actions, et que la paix soit sur Son noble Messager, notre Maître Muhammad, que la prière et la paix soient sur lui.

Je dédie humblement ce travail à mes chers parents, qu'Allah prolonge leur vie et les préserve.

Ainsi qu'à tous les membres de ma famille, grands et petits.

A mon binôme et mes amis sans exception.

Enfin, je remercie Allah, qui m'a accordé le succès dans ce travail, et je Lui demande, béni et exalté soit-Il, de le rendre une connaissance bénéfique pour Sa noble cause.

Amina

Table de matières

LISTE DES ABBREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

RESUMÉ

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE. I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I Anémie.....4

I.1 Anémie aplasique4

I.2 Pancytopénie4

II Définition de l'anémie de Fanconi4

III Épidémiologie5

IV Physiopathologie de l'AF5

IV.1 Les gènes FANC6

IV.2 Fonctions des protéines FANC8

IV.2.1 Réparation de l'ADN (voie canonique)8

IV.2.2 Autres rôles de la voie FA (voie non canonique)11

IV.2.2.1 Cycle cellulaire11

IV.2.2.2 Voie AF et cancérogénèse12

IV.2.2.3 Stress replicatif.....13

IV.2.2.4 AF et conflit transcription-réplication13

IV.3 Rappel sur les aberrations chromosomique.....14

IV.3.1 Anomalies de nombre15

IV.3.1.1 Aneuploïdie.....15

IV.3.1.2 Polyploïdies.....	16
IV.3.2 Anomalie de structure	16
IV.3.2.1 Anomalies de structure impliquant un seul chromosome	16
IV.3.2.2 Anomalies de structure impliquant plusieurs chromosomes	18
V Causes de l'AF	19
IV.1 Facteurs génétiques	19
IV.2 Facteurs environnementaux.....	22
VI Manifestation clinique	23
VI.1 Anomalies hématologiques	23
VI.2 Anomalies congénitales.....	24
VI.3 Prédisposition au cancer.....	26
VII Diagnostic.....	26
VII.1 Test de cytogénétique	27
VII.2 Test génétique.....	27
VII.3 Conseil génétique	27
VII.4 Diagnostic prénatal et diagnostic préimplantatoire	28
VII.5 Après la confirmation de la maladie.....	28
VIII Prise en charge	29
VIII.1 Traitement de soutien	29
VIII.2 Transplantation de la moelle osseuse	29
VIII.3 Thérapie par les androgènes	29
VIII.4 Traitement chirurgical	30
VIII.5 Surveillance des cancers.....	30
VIII.6 La thérapie génique	30

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I. Types d'études.....	33
II. Population, lieu et période de l'étude.....	33
II.1 Critère d'inclusion.....	33
II.2 Critère d'exclusion.....	33
III. Méthodes.....	33
III.1 Etude clinique.....	33
III.1.1 Variables étudiées.....	33
III.1.2 Collecte et saisie des données.....	34
III.1.3 Analyse des données.....	34
III.2 Etude cytogénétique.....	34
□ Caryotype.....	34
IV. Considération éthique.....	36

CHAPITRE III : RESULTATS

I. Description de la population étudiée.....	38
I.1 Distribution des patients de l'AF selon le sexe.....	38
I.2 Répartition des patients selon l'âge à la consultation.....	38
I.3 Répartition des patients selon la consanguinité parentale.....	39
I.4 Répartition de l'échantillon selon le motif de consultation.....	40
I.5 Répartition des patients selon les signes cliniques au cours de la maladie.....	41
I.6 Répartition des patients selon les antécédant médicaux.....	42
I.7 Répartition des patients selon les antécédents chirurgicaux.....	43
I.8 Repartition des patients selon le cas de décès.....	44
II Analyse bi variée des données cliniques de la population de l'étude.....	44

II.1 Age et durée de la maladie	44
II.2 Sexe et évolution de la maladie	45
II.3 Age et consanguinité	45
II.4 Consanguinité et évolution de la maladie.....	46
II.5 Age et sexe.....	46
II Caryotype	46

CHAPITRE. IV : DISCUSSION

Discussion.....	50
Conclusion et perspective.....	55

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : Anémie aplasique.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AF : Anémie de Fanconi.

AM : Aplasie médullaire.

ARN : Acide ribonucléique.

ATR: Ataxia telangiectasia and Rad3-related protein.

CC : Cancer du col de l'utérus.

CFS : Sites fragiles communs.

CMP: Cytogenetic and molecular pathology.

CSH : Cellules souches hématopoïétiques.

CSM : Cellules souches mésenchymateuse de la moelle osseuse.

DEB : Diépoxybuturate.

FA : Fanconi anemia.

FANC : Fanconi Anemia protein – protéine de l'anémie de Fanconi.

FOREM : Fondation nationale pour la promotion de la santé et le développement.

HNSCC: Head and neck squamous cell carcinoma.

HR : Recombinaison homologue.

ICL : InterstandCrosslink.

KCL : Chlorure de potassium.

LAL : Leucémie aiguë lymphoblastique.

LMA : Leucémie myéloïde aiguë.

MMC : Mitomycine C.

Nek2: Never-in-mitosisgene (NIMA)-related kinase 2.

NGS: Next generation sequencing.

PBM: Phosphate-buffered medium.

PBS: Phosphate-buffered saline.

PCR: Polymerase Chain Reaction.

RPM: Rotation par minute.

RPMI: Roswell Park Memorial Institute.

SAC: Spindle assembly checkpoint.

SMD: Syndrome myélodysplasique.

STP: Retard stature-pondérale.

SVF : sérum de veau fœtale.

TFAR : Registre tunisien de l'AF.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

LISTE DES FIGURES

Figure.1: Signalisation AF dans la voie de réparation de l'ICL de l'ADN.....	10
Figure.2: Rôle de la voie AF dans la stabilisation des conflits transcription-réplication.	14
Figure.3: Schéma représentatif d'une aberration chromosomique du type chromosome en anneau.	17
Figure.4: schéma d'une inversion péricentrique d'un chromosome.....	17
Figure.5: schéma représentatif d'une translocation réciproque.....	18
Figure.6: Schéma représentatif d'une translocation robertsonienne.....	19
Figure.7: Schéma de la transmission autosomique récessive	20
Figure.8: Schéma de la transmission liée à l'X maternelle.....	21
Figure.9: Schéma de la transmission autosomique dominante	22
Figure.10: Coupe d'un os d'une personne développant une anémie aplasique en comparaison d'une personne saine coupes colorées à l'hématéine et à l'éosine	24
Figure.11: Image présentant la petite stature des malades de Fanconi	24
Figure.12: Image présentant une absence complète du radius la main est en position perpendiculaire à l'avant-bras	25
Figure.13: Anomalies typiques du pouce	25
Figure.14: Anomalies typiques de la pigmentation cutanée tache café au lait observé sur le dos	26
Figure.15: Répartition des patients atteints de l'AF selon le sexe.....	38
Figure.16: Répartition de l'échantillon étudiée selon l'âge.....	39
Figure.17: Répartition des patients selon la consanguinité parentale.....	40
Figure 18: Répartition de l'échantillon selon le motif de consultation.....	41
Figure.19: Répartition des patients selon les signes cliniques au cours de la maladie.....	42
Figure.20: Répartition des patients selon leurs antécédents médicaux.....	43

Figure.21: Répartition selon les antécédents chirurgicaux.	43
Figure.22: Répartition des patients selon les cas de décès.	44
Figure.23: Observation microscopique du caryotype d'un patient présentant des cassures chromosomiques et chromosome en anneau.....	48
Figure.24: Observation microscopique du caryotype des patients présentant des cassures chromosomiques et tétrades.....	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau.I: classification des vingt-deux gènes FANC.....	7
Tableau.II: Association entre l'âge et la durée de la maladie.	44
Tableau.III: Association entre le sexe et l'évolution de la maladie.	45
Tableau.IV: Relation entre l'âge et la consanguinité des malades d'AF.	45
Tableau.V: Relation entre la consanguinité et l'évolution de la maladie.	46
Tableau.VI: Relation entre l'âge et le sexe des patients.....	46

Résumé

Contexte et objectif : L'anémie de Fanconi (AF) est une maladie très rare caractérisée par une insuffisance médullaire, des malformations congénitales et prédisposition au cancer. La fragilité chromosomique induite par des agents induisant la réticulation interbrin (ICL) de l'ADN tels que DEB ou MMC est le test de référence pour le diagnostic de l'AF. Les objectifs de ce travail étaient de décrire le profil clinique des patients atteints de l'anémie de Fanconi et de montrer l'intérêt de l'analyse cytogénétique par l'observation de nombre de cassures chromosomiques spontanées dans le diagnostic de certitude de l'anémie de Fanconi chez des patients de l'Est Algérien.

Méthodes : Vingt patients de l'Est algérien souffrant d'AF ont été inclus dans cette étude clinique dont 6 patients ont été recrutés au laboratoire de diagnostic génétique au Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBt) ou ils ont subi une analyse cytogénétique ; leurs échantillons de sang total ont été testés par les tests de rupture chromosomique avec MMC.

Résultats : Tous les patients atteints de l'anémie de Fanconi présentaient cliniquement un aplasie médullaire avec une moyenne d'âge de 7.80 ans \pm 3.15. La prépondérance masculine s'est avérée plus élevée (65%) par rapport aux femmes (35%). La consanguinité parentale a été observée chez 18 patients AF (90%). Les signes cliniques sont apparus dans des proportions variables ; le visage triangulaire (45%), la microcéphalie (40%), neutropénie le syndrome tumoral et les anomalies du pouce (35%), les taches café au lait et le rein fer à cheval (25%), oreilles décollé et thrombopénie (15%) et la pancytopenie (5%). Les patients recrutés avaient des antécédents médicaux divers dont les plus en communs ce sont les infections répétés (60%) et la cytopénie (50%). Le taux de mortalité dans cette étude est estimé de 15%. Nos résultats montrés une relation hautement significative entre l'âge et la durée de l'aplasie médullaire et entre le sexe et l'évolution de la maladie ($P < 0.005$).

L'étude cytogénétique a révélée chez 6 patients taux élevé d'aberrations chromosomiques (cassures chromosomique 6 patients, des tétrades 5 patients, et un chromosome en anneau 1 patient).

Conclusion : Cette étude illustre l'utilité des tests cytogénétiques pour le diagnostic des patients AF ainsi que l'importance de l'évaluation clinique détaillé dans la reconnaissance précoce de l'AF afin d'avoir une meilleure prise en charge et augmenter leur chance de vie.

Mots clé : Anémie de Fanconi, Mitomycine C, Cytogénétique, Est Algérien.

Abstract

Context and aims: Fanconi anemia (FA) is a rare disease characterized by bone marrow failure, birth defects and predisposition to cancer. The chromosomal fragility induced by interstrand crosslinks (ICL) of DNA such as DEB or MMC, which is the reference test for the diagnosis of AF.

The aim of this study was to assess the clinical profile Fanconi anemia of affecting patients and to show the utility of cytogenetic analysis by observing several spontaneous chromosomal breaks in the diagnosis of Fanconi anemia affecting patients from eastern Algeria.

Methods: Twenty patients from Eastern Algeria suffering from FA were included in this clinical study, of which 6 patients were recruited in the laboratory of genetic diagnosis at the National Center for Research in Biotechnology (CRBt). They underwent cytogenetic analysis; their whole blood samples were tested by chromosome breakage tests with MMC.

Results: All patients with Fanconi anemia presented clinically with bone marrow aplasia with a mean age of 7.80 years (\pm 3.15). The preponderance of males was higher (65%) than females (35%). Parental consanguinity was observed in 18 FA patients (90%). Clinical signs appeared in varying proportions; triangular face (45%), microcephaly (40%), neutropenia, tumor syndrome and thumb anomalies (35%), café au lait spots and horseshoe kidney (25%), detached ears and thrombocytopenia (15%) and pancytopenia (5%). The patients recruited had diverse medical histories, the most common of which were recurrent infections (60%) and cytopenia (50%). The mortality rate in our study was estimated at 15%. Our results showed a highly significant relationship between age and duration of bone marrow aplasia, and between gender and disease progression ($P < 0.005$).

Cytogenetic study revealed a high rate of chromosomal aberrations in 6 patients (chromosomal breaks 6 patients, tetrads 5 patients and ring chromosomes 1 patient)

Conclusion: This study illustrates the usefulness of cytogenetic tests for the diagnosis of FA patients, as well as the importance of a detailed clinical evaluation in the early recognition of FA in order to improve patients care management and optimize their chances of survival.

Keywords: Fanconi anemia, Mitomycin C, Cytogenetics, Eastern Algeria.

ملخص

السياق والهدف: انيميا فانكوني مرض نادر جدا يصب نخاع العظم ويؤدي الى فشله كما تتميز بوجود عيوب خلقية مع قابلية التعرض للسرطان. هشاشة الكروموسومات التي تسببها العوامل التي تحفز التشابك البيني للحمض النووي مثل داي ايبوكسي بوتان او ميتوميسين سي وهو التحليل المرجعي لتشخيص فقر الدم الفنكوني. الهدف من هذا العمل هو اظهار أهمية تحاليل الوراثة الخلوية لملاحظة عدد الكسور التلقائية في الكروموسومات عند التشخيص النهائي لفقر الدم الفنكوني عند مرضى شرق الجزائر مع القدرة على وصف حالتهم المرضية.

الطرق: عشرون مريض من شرق الجزائر يعانون من فقر الدم الفنكوني تم تضمينهم في هذه الدراسة السريرية. تضمنت هاته الدراسة 6مرضى تم اختيارهم في مخبر التحليل الوراثي في المركز الوطني للبحث في البيوتكنولوجيا. تم اجراء تحليل وراثي خلوي لدم هاته العينات تم اختياره عن طريق اختبار تكسر الكروموسوم باستخدام ميتوميسين سي.

النتيجة: قدم جميع المرضى الذين يعانون من فقر الدم فانكوني سريريا فشل في نخاع العظم بمتوسط عمر 7.80 سنوات (3,15±). تبين أن غالبيتهم الذكور (65%) مقارنة بالنساء (35%). لوحظ القرابة الأبوية في 18 مريضا بفقر الدم الفنكوني (90%). ظهرت العلامات السريرية بنسب متفاوتة ; الوجه الثلاثي (45%)، صغر الرأس (40%)، قلة العذلات، متلازمة الورم وتشوهات الإبهام (35%)، بقع حليب القهوة وكلية حدوة الحصان (25%)، أذان بارزة ونقص الصفيحات (15%) وقلة الكريات الشاملة (5%). كان للمرضى المعينين اعراض طبيا مختلفا، وأكثرها شيوعا هي العدوى المتكررة (60%) وقلة الكريات البيض (50%). يقدر معدل الوفيات في هذه الدراسة بنسبة 15%. أظهرت نتائجنا وجود علاقة مهمة للغاية بين عمر ومدة فشل نخاع العظم وبين الجنس وتطور المرض.

كشفت الدراسة الوراثة الخلوية في 6 مرضى عن ارتفاع معدل الانحرافات الصبغية (فواصل الكروموسومات في 6 مرضى، ورباعية في 5 مرضى، وكروموسوم حلقي في 1 مريض).

الخلاصة: هاته الدراسة توضح فائدة تحليل الوراثة الخلوية لتشخيص مرضى فقر الدم الفنكوني مع اظهار أهمية التقييم الطبي المدقق للمعرفة المبكرة بالمرض من اجل الحصول على رعاية أفضل وزيادة فرصهم في الحياة.

الكلمات المفتاحية: فقر الدم الفنكوني، ميتوميسين سي، الوراثة الخلوية، شرق الجزائر.

INTRODUCTION

Introduction

L'anémie de Fanconi (AF) est une maladie autosomique récessive très rare appartenant à un groupe de pathologie appelé maladie cassante (Magron 2015; Bhandari et al., 2022). D'une prévalence de 1 à 9 naissances dans 1000000 (Orphanet, 2020). Elle a été décrite la première fois par le pédiatre suisse Guido Fanconi en 1927 (Lobitz et Velleuer 2006).

L'AF est caractérisée généralement par myélosuppression progressive associée à des malformations congénitales et un risque élevé de maladies myéloproliférative à partir tumeurs solides (Orphanet, 2020); c'est le résultat d'une mutation dans l'un des 22 gènes FANC connus (Borges et al., 2023).

La reconnaissance de l'AF comme un trouble de l'instabilité chromosomique a été faite par les observations de Schroeder en 1964. Deux frères ont été décrits avec différents degrés de panmyélopathie similaire à celle de Fanconi. Environ 25% des cellules examinées présentent des cassures chromosomiques qui sont des ruptures dans la structure de l'ADN qui peuvent causer des aberrations chromosomiques telles que des échanges de chromatides sœurs, des translocations, des délétions et des duplications, un grand nombre d'endomitoses et peu de fuseaux tripolaires. Ces anomalies n'ont pas été trouvées chez les parents et le plus jeune frère. Cela semble être le premier cas chez l'homme où une sensibilité anormale des chromosomes somatiques aux aberrations spontanées est observée en relation avec un trait héréditaire ; Les cellules de personnes atteintes d'AF ont souvent des taux de cassures chromosomiques plus élevés que les cellules normales, ce qui peut être détecté par des tests cytogénétiques tels que le test de fragilité chromosomique par conséquent, Schroeder a suggéré l'utilité de cette spontanéité en tant que biomarqueur de l'AF (Auerbach 2009; Sharma et al., 2022).

Le diagnostic d'AF repose sur des données cliniques et les aspects moléculaires, ainsi que des tests d'hypersensibilité à la rupture chromosomique aux agents alkylants tels que le diépoxybutane (DEB) et la mitomycine C (MMC) qui sont des tests cytogénétique. En raison des conséquences de l'insuffisance médullaire et de la prédisposition accrue à la malignité, l'identification précoce de ces personnes est essentielle pour leur prise en charge clinique appropriée (Borges et al., 2023).

Une enquête de la fondation pour la recherche médicale (Forem), réalisée en 2018, a révélé que 38,30 % des mariages en Algérie sont consanguins (Farid L, 2022) ; comme toutes

maladies récessives rares, la fréquence de l'AF augmente dans un contexte de consanguinité (Magron, 2015).

En Algérie aucune étude clinique, cytogénétique ou moléculaire n'a été menée jusqu'à présent (Ben Haj Ali et al., 2021).

Il existe une très grande hétérogénéité des caractéristiques cliniques parmi les patients atteints d'anémie de Fanconi, même au sein d'une même famille (Bouguenouch et al., 2017).

Les patients atteints d'anémie de Fanconi présentent souvent une combinaison d'anomalies congénitales telles qu'une petite taille, des taches café au lait et des anomalies du pouce. Cependant, les anomalies physiques sont souvent subtiles, ou absentes. En effet, un large éventail de phénotypes cliniques est observé chez les patients atteints d'anémie de Fanconi ; ce qui reflète l'hétérogénéité génétique de la maladie (Ceccaldi et al., 2016).

La cytogénétique constitue l'une des étapes clés du diagnostic adéquat de cette maladie. La justification est basée sur le risque accru de malignité en raison de CIN. Cependant, le diagnostic peut être très difficile. Certaines des principales caractéristiques de l'AF sont partagées avec d'autres maladies à instabilité génomique (Merfort et al., 2022).

Les objectifs de ce travail de recherche étaient de :

1. Décrire le profil clinique des patients atteints de l'anémie de Fanconi dans l'Est Algérien.
2. Montrer l'intérêt de l'analyse cytogénétique par l'observation de nombre de cassures chromosomiques spontanées dans le diagnostic de certitude de l'anémie de Fanconi chez des patients de l'Est Algérien.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Anémie de Fanconi

I. Anémie

L'anémie est une affection qui se développe lorsque le sang contient une quantité de globules rouges ou d'hémoglobine inférieure à la normale (Bachy et al., 2021). La valeur seuil en dessous de laquelle on parle d'anémie varie selon l'âge et le sexe (Monachon, 2016) :

- Chez le nouveau-né : 14g /dl.
- Chez la femme adulte : 12g/dl.
- Chez l'homme adulte : 13g/dl.

I.1 Anémie aplasique

C'est un syndrome d'insuffisance médullaire caractérisé par une aplasie médullaire et une pancytopenie sanguine périphérique ; des études récentes fournissent des preuves que les cellules souches/progénitrices hématopoïétiques (CSH) et les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse (CSM) de patients atteints d'anémie aplasique (AA) portent des déficits intrinsèques qui contribuent à la vulnérabilité et une insuffisance médullaire (Giudice et Selleri, 2022).

I.2 Pancytopenie

La pancytopenie est un syndrome hématologique défini par une baisse associée des lignées érythrocytaires, granulocytaires et plaquettaires. Elle peut être causée par des diverses étiologies exprimant une atteinte primitive ou secondaire de la moelle osseuse (AtipoTsiba et al., 2016).

II. Définition de l'anémie de Fanconi

L'anémie de Fanconi est une maladie autosomique récessive rare caractérisée par une instabilité chromosomique et une susceptibilité accrue aux tumeurs malignes (Borges et al., 2023). C'est un trouble génétique qui affecte les gènes responsables de la réparation de l'ADN et la régulation du cycle cellulaire (Merfort et al., 2022).

Elle associe des malformations congénitales, des myélodysplasies progressives, très variables en gravité et en nombre (AFMF, 2019).

L'AF a été décrite pour la première fois par le pédiatre suisse Guido Fanconi en 1927 après avoir remarqué la naissance de trois garçons avec des malformations congénitales physiques

et sont mort d'une maladie qui ressemblait à une anémie pernicieuse.(Lobitz et Velleuer, 2006).

Le phénotype de l'AF est très hétérogène, certains patients ont des anomalies morphologiques importantes et une pancytopénie de début précoce, d'autres, au contraire, n'ont que peu ou pas d'anomalies morphologiques et ne développant que tardivement une pancytopénie (Bouguenouch et al., 2017).

Le taux élevé de consanguinité a été généralement associé à l'apparition des maladies autosomiques récessives à une haute fréquence l'AF fait partie des maladies pour lesquelles l'incidence est augmentée par la consanguinité (Ben Haj Ali et al., 2019).

De manière inexplicable ; la prépondérance masculine s'est avérée plus élevée dans l'anémie aplasique ainsi que dans l'anémie de Fanconi (Siddiqui et al., 2020).

Jusqu'à présent 22 gènes FANC ont été identifiés (Borges et al., 2023) ; dont le premier gène a été découvert en 1992 et a été nommé FANCC (Schindler et Hoehn, 2007).

III. Épidémiologie

L'AF est une maladie génétique rare dans l'ensemble, une moyenne de 1 nouveau-né sur 136 000 souffre d'anémie de Fanconi, et elle varie de 1 sur 100 000 à 250 000 naissances(Che et al., 2018).

Il a été trouvé dans toutes les races. Cependant, le taux est plus élevé dans la population africaine d'Afrique du Sud, des Noirs subsahariens et des Gitanos espagnols avec des taux de 1 sur 40 000 naissances.

La fréquence des porteurs est plus élevée chez les juifs ashkénazes des États-Unis, soit 1 cas pour 100 personnes avec un taux de natalité de 1 cas pour 30 000. Il y a une légère prédilection des hommes plus que des femmes, mais globalement, 99 % des cas sont égaux dans les deux sexes (Bhandari et al., 2022).

En Tunisie selon le registre tunisien de l'AF « TFAR » 142 cas sont répertoriés en 2012 (Hadiji Mseddi et al., 2012). En Algérie jusqu'à nos jours aucune enquête épidémiologique n'a été menée sur ce sujet (Ben Haj Ali et al., 2021).

IV. Physiopathologie de l'AF

Bien que l'AF soit une maladie génétique complexe avec de nombreux gènes impliqués et un éventail de phénotypes cellulaires et de symptômes cliniques, la cause sous-jacente au niveau cellulaire semble tourner autour de défauts moléculaires contribuant à une réponse aux dommages à l'ADN et à la réparation de l'ADN compromises. Bien que les preuves suggèrent

que les ICL sont le principal coupable ; un défaut dans la recombinaison homologue de l'ADN double brins (un système de réparation fidèle car elle copie une séquence homologue intacte ce qu'il permet d'assurer la stabilité génomique) ; est le principal mécanisme de pathogénèse de l'anémie de Fanconi. Il existe d'autres facteurs de stress de réplication et d'instabilité génomique dans l'AF (Datta et Brosh Jr, 2019; Saintigny et al., 2005) .

Des mutations dans l'un des nombreux gènes associés au complexe central FA rendront le complexe non fonctionnel et perturberont l'ensemble de la voie FA. Les protéines produites par les gènes FANC maintiennent la stabilité génomique. Des défauts dans la réparation d'ADN sont présents dans la voie AF, de sorte que les cellules ne peuvent pas réparer correctement les types de dommages à l'ADN particulièrement néfastes. En conséquence, les dommages à l'ADN ne sont pas réparés efficacement et les ICL s'accumulent avec le temps. Les ICL bloquent la réplication de l'ADN, entraînant finalement soit une mort cellulaire anormale due à une incapacité à fabriquer de nouvelles molécules d'ADN, soit une croissance cellulaire incontrôlée en raison d'un manque de processus de réparation de l'ADN. Les cellules qui se divisent rapidement, telles que les cellules de la moelle osseuse et les cellules du fœtus en développement, sont particulièrement touchées. La mort de ces cellules entraîne la diminution des cellules sanguines et les anomalies physiques caractéristiques de l'anémie de Fanconi. Lorsque l'accumulation d'erreurs dans l'ADN entraîne une croissance cellulaire incontrôlée, les personnes touchées peuvent développer une leucémie myéloïde aiguë ou d'autres cancers (MedlinePlus, 2012; Bhandari et al., 2022).

IV.1 Les gènes FANC

Un degré élevé d'hétérogénéité génétique existe dans l'anémie de Fanconi ; 22 gènes FANC (Tableau I) ont été identifiés jusqu'à aujourd'hui comme étant impliqués dans l'étiologie de l'AF (Borges et al., 2023).

Des études génétiques ont révélé que les mutations des gènes FANCA, FANCC et FANCG sont les plus courantes et représentent environ 85 % des cas d'AF, FANCA représentant à elle seule près de 70 % des cas (Oppezzo, 2021).

Les mutations dans FANCD1 (BRCA2), FANCI (BRIP1), FANCB, FANCD2, FANCE, FANCF et FANCI, combinés, représentent environ 16 % des cas d'AF signalés. Mutations dans les gènes FA restants, FANCG (ERCC4), FANCL, FANCM, FANCV (MAD2L2), FANCN (PALB2), FANCR (RAD51), FANCO (RAD51C), FANCP (SLX4), FANCT (UBE2T) FANCU (XRCC2), FANCW (RFX3) et FANCG (ERCC4, XPF) contribuent à <5 % des cas d'AF, combinés (Niraj et al. 2019).

Parmi les gènes mutés chez les patients atteints de la maladie seulement 15 (FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCN, FANCP, FANCQ et FANCT) ont été considéré comme étant des gènes d'intérêt ; car leur mutation provoque le phénotype classique (instabilité chromosomique et aplasie médullaire). Les autres gènes sont identifiés comme gènes de type FANC, car leur mutation provoque une instabilité chromosomique avec des anomalies congénitales, mais sans une aplasie médullaire (Ceccaldiet al., 2016).

Tableau.I: classification des vingt-deux gènes FANC (Che et al., 2018).

FANC locus	Alias	FA patients (%)	Chromosomal location	Protein product (kDa)	Known key features of the protein ³
A	<i>FANCA</i>	64	16q24.3	163	Core complex, phosphorylated
B		2	Xp22.2	95	Core complex
C		12	9q22.3	63	Core complex
D1	<i>BRCA2</i>	2	13q12–13	380	HR
D2		4	3p25.3	155, 162	ID complex, monoubiquitinated, incision, TLS, HR, S-phase arrest
E		1	6p21–22	60	Core complex
F		2	11p15	42	Core complex
G	<i>XRCC9</i>	8	9p13	68	Core complex
I		1	15q25–26	150	ID complex, phosphorylated, monoubiquitinated
J	<i>BACH1, BRIP1</i>	2	17q22–24	130	RecQ DEAH helicase family, HR, MMR, TLS, DSB repair
L	<i>POG, PHF9</i>	0.4	2p16.1	43	Core complex, the ubiquitin ligase (E3)
M		0.1	14q21.3	250	DNA translocase activity, lesion recognition, core complex
N	<i>PALB2</i>	0.7	16q12.1	130	HR, DSB repair
O	<i>RAD51C</i>	0.1	17q25.1	47	RAD51 paralog, HR,
P	<i>SLX4, BTBD12</i>	0.5	16p13.3	200	Scaffold protein, endonuclease, unhooking crosslink, TLS, telomere maintenance
Q	<i>ERCC4, XFP</i>	0.1	16p13.12	101	Endonuclease, NER
R	<i>RAD51</i>	0.1	15q15.1	45	HR
S	<i>BRCA1</i>	0.1	17q21.31	220	HR
T	<i>UBE2T</i>	<0.1	1q32.1	22.5	Ubiquitin-conjugating enzyme (E2); NER
U	<i>XRCC2</i>	<0.1	7q36.1	34	Involved in HR, resolving D-loop structure
V	<i>REV7, MAD2L2</i>	<0.1	1p31	24	Subunit DNA polymerase ζ involved in TLS
W	<i>RFWD3</i>	<0.1	16q23.1	~90	Ubiquitin protein ligase (E3)

Toutes les protéines codées par les gènes susmentionnés participent à la voie de réparation FA/BRCA, qui détecte un dommage qui lie de manière covalente les deux brins d'ADN (les réticulations interbrins ICLs) (Moreno et al., 2021). Les ICLs sont formées dans l'ADN par la présence d'agents exogènes, tels que les agents chimio thérapeutiques anticancéreux, ainsi que par des agents endogènes, tels que les métabolites de l'alcool, la fumée de cigarette, l'acétaldéhyde et le malondialdéhyde (Stone et al., 2008).

Ces lésions provoquent le blocage des fourches de transcription et de réplication, rendant impossible la séparation de l'ADN double brin ; à ce stade, la réponse aux dommages à l'ADN et les processus de réparation par recombinaison homologue qui agissent en phase S sont activés (Niraj et al., 2019).

IV.2 Fonctions des protéines FANC

IV.2.1 Réparation de l'ADN

Au niveau moléculaire, les protéines FA sont connues pour fonctionner sur une voie commune de réparation de l'ADN, la voie FA/BRCA, qui se concentre sur le traitement des fourches de réplication bloquées générées soit spontanément, soit en réponse à des ICLs induites par des médicaments, et d'autres types de dommages à l'ADN (Niedernhofer et al., 2005).

L'instabilité chromosomique, le risque élevé des cancers et des malformations congénitales chez la majorité des personnes touchées est causée par l'accumulation de dommages dans le génome (Nalepa et Clapp, 2018). Les patients atteints d'AF n'ont pas la machinerie optimale les ICLs non réparés mène à la rupture de l'ADN et jonction d'extrémités non homologues d'extrémités libres qui sont visibles et dénombrable sur les chromosomes en métaphase (Stone et al., 2008).

Pendant la phase S ; une coordination de plusieurs voies de réparation de l'ADN dans une voie de réparation commune de l'ICL de l'ADN. Les fourches de réplication sont bloquées au niveau des ICLs d'ADN (Halfon-Domenech, 2017).

Dans le cas d'une fourche bloquée par un ICL, le complexe CMG doit être éliminé pour permettre au brin principal de se rapprocher de l'ICL. Ce processus est encouragé par la polyubiquitination de la sous-unité MCM7 par la ligase TRAIP, suivie de l'extraction de l'ADN par la protéine p97/VCP (Wu et al., 2019).

Le complexe FANCM-FAAP24 détecte la fourche bloquée et recrute RPA, ce qui active le point de contrôle ATR-CHK1. Les protéines MHF1 et MHF2 s'associent à FANCM pour

stimuler son association à la chromatine, contribuant ainsi à l'activation de la signalisation FA (Huang et al., 2010).

En outre, UHRF1 est impliquée dans la détection de l'ICL d'ADN. FANCM travaille en collaboration avec PCNA et BLM pour favoriser la réparation et la réplication à travers les ICLs d'ADN en utilisant ses activités de translocase et de liaison à l'ADN (Rageul et Kim, 2020).

Ensuite FANCM favorise la réponse au point de contrôle dépendant de la kinase ATR. Le complexe I de l'anémie de Fanconi qui a son tour par mono-ubiquitination active FANCD2 et FANCI (complexe ID2) ; FANCD2-Ub et SLX4/FANCP recrutent des SSE pour exécuter les étapes de décrochage, générant des rupture double brin d'ADN dans le brin opposé au brin sur lequel le nucléotide réticulé s'attache. La réplication de l'ADN reprend par l'étape de contournement, en faisant passer l'ICL captif par des polymérase TLS, telles que REV1 ou Pol ζ . Le complexe USP1-UAF1 déubiquitine le complexe ID2 pour exécuter efficacement la voie FA. (Halfon-Domenech, 2017 ; Niraj et al., 2019)

Les extrémités de rupture double brin (DSB) de l'ADN sont traitées et réparées par RH (recombinaison homologue), qui est médiée par la recombinaise RAD51/FANCR et ses facteurs RH associés. Le chiffre d'affaires réglementé de RAD51 (et RPA) par RFWD3/FANCW est requis pour l'achèvement de l'étape RH. L'activité de FANCD2-Ub est régulée par le complexe de déubiquitine USP1-UAF1 et l'extraction dépendante de p97 du complexe ID à partir de lésions d'ADN (Rageul et Kim, 2020).

Si ces structures d'ADN ne sont pas réparées ou sont partiellement réparées, elles peuvent entraîner l'effondrement des fourches de réplication et aux événements de recombinaison aberrants tels que les fusions chromosomiques qui se traduisent par les chromosomes radiaux observés chez les patients AF (Wang et Gautier, 2010).

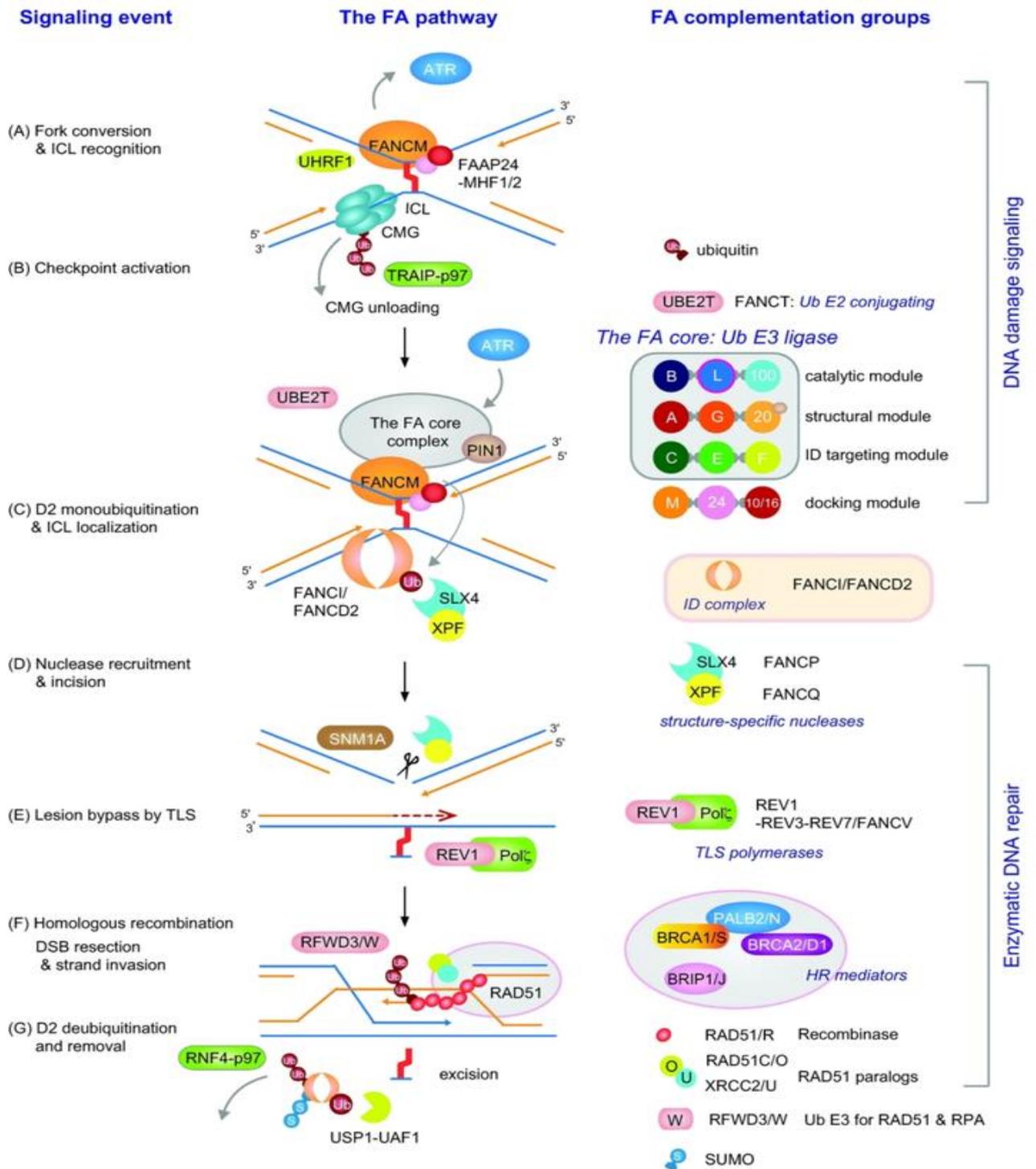


Figure.1: Signalisation AF dans la voie de réparation de l'ICL de l'ADN (Rageul et Kim, 2020).

IV.2.2 Autres rôles de la voie FA

Outre le rôle principal des gènes FA dans la résolution des lésions de l'ADN lors de la réplication, nombre de ses facteurs sont impliqués dans d'autres processus non canoniques (Milletti et al. 2020) .

IV.2.2.1 Cycle cellulaire

La voie AF semble nécessaire dans la régulation de cycle cellulaire. Protéine FANCM avec FAAP24 forment ensemble la voie ATR-Chk1 de signalisation lorsque la fourche de réplication reste bloquée ainsi que l'activité translocase de FANCM semble nécessaire à l'activation de l'ATR. Lorsqu'une mutation aura lieu au niveau du FANCM y aura une diminution de la phosphorylation de Chk1 comme FANCE, CDC25A et p53 est observée. Cette mutation empêche ainsi un arrêt du cycle cellulaire en phase S et la réparation correcte de l'ADN avant l'entrée en phase M (Magron, 2015).

La protéine FANCA interagit avec la kinase Nek2 (never-in-mitosisgene (NIMA)-related kinase 2), dont la fonction principale est de maintenir l'intégrité des centrosomes. La kinase Nek2 phosphoryle FANCA sur la thréonine 351. Si une mutation survient sur le gène FANCA peut induire un nombre anormal de centrosome et un arrêt en mitose (Magron 2015; Kim et al., 2013).

Ainsi que la présence de FANCI au niveau des centrosome mère peut être stimuler par des agents pontant d'ADN. Il participe aussi en interaction avec Plk1 à la régulation de la biogénèse des centrosomes (Magron, 2015).

Une étude a démontré que le BRCA2 a été retrouvé au niveau des centrosomes durant la phase S et M. tout en ayant une capacité de réguler la duplication et la séparation des centrosomes (Nakanishi et al., 2007). De plus la phosphorylation de BRCA2 par PLK1 impliqué dans la régulation mitotique expliquant l'instabilité chromosomique des cellules et le développement du cancer du sein chez les porteuses de la mutation (Takaoka et al., 2014).

Il a été aussi démontré que la protéine FANCC est impliqué dans la régulation cellulaire ; après avoir interagit avec la kinase CDK1 connue pour contrôler l'entrée en cycle cellulaire (Magron, 2015).

Ainsi les protéines FANCI semblent être impliqué dans la signalisation du cycle cellulaire une étude a démontré le rôle essentiel de ces protéines dans le contrôle de SAC (Spindle assembly checkpoint) permettant la ségrégation complète des chromosomes et empêchent la formation des cellules aneuploïde (Magron 2015; Nalepa et al., 2013).

IV.2.2.2 Voie FA et cancérogénèse

En clinique, une cause majeure de décès des patients AF est le développement du cancer en plus de l'insuffisance médullaire. Une grande enquête de population incluant 111 patients atteints d'AF indique une fréquence de cancer de 30 %, avec un âge médian d'apparition avant 20 ans (Steinberg-Shemer et al., 2020). Les leucémies myéloïdes, les tumeurs du foie, les carcinomes de la tête et du cou et les tumeurs malignes gynécologiques sont les cancers prédisposant les plus profonds chez les patients AF.

Dans les tissus tumoraux cliniques, qu'il s'agisse d'un cancer familial ou sporadique, les mutations du gène FA sont également courantes, ce qui suggère une relation intrinsèque entre la voie FA et la carcinogénèse (Dan et al., 2021). La raison en est la fonction critique de la voie FA dans le maintien de la stabilité du génome. Une voie FA déficiente provoque une instabilité du génome entraînant une accumulation de mutations, ce qui donne des avantages de survie supplémentaires pour les cellules mutées du gène FA, accélérant le processus de carcinogénèse pour certains types de tumeurs malignes. Par exemple, la délétion et la faible expression de FANCA sont courantes dans la leucémie myéloïde aiguë (LMA), le cancer de la prostate et le cancer de la bouche (Mantere et al., 2015 ; Tischkowitz et al., 2004 ; Tremblay et al., 2006).

De même, la mutation hétérozygote de FANCD2 a été confirmée être associée au cancer de l'œsophage, à la leucémie lymphoblastique aiguë à cellules T (LAL) infantile et au séminome testiculaire (Akbari et al., 2011 ; Smetsers et al., 2012). Un autre exemple bien connu est BRCA1 et BRCA2 (FANCS et FANCD1), dont les mutations germinales conduisent au cancer familial du sein et de l'ovaire (Antoniou et al., 2003 ; Chen & Parmigiani, 2007).

Le cancer du sein semble plus pertinent pour la voie FA : à l'exception de BRCA1/2, la mutation germinale de RAD51C (FANCO) est également associée à un risque accru de cancer du sein (Levy-Lahad, 2010 ; Loveday et al., 2012) et la mutation FANCM augmente la susceptibilité au cancer du sein triple négatif (Kiiski et al., 2014).

Dans les tumeurs solides, une hyperméthylation de FANCF a été trouvée dans plusieurs types de cancer. Dans l'adénocarcinome pulmonaire sporadique, l'hyperméthylation du FANCF est un facteur prédictif de faible survie par rapport à ceux présentant une hypométhylation (Marsit et al., 2004 ; Nakajima et al., 2009).

Dans le cancer du col de l'utérus (CC), l'hyperméthylation de BRCA1 et de FANCF coexiste dans les échantillons de patients, suggérant une fonction atténuante de la voie FA dans le CC (Narayan et al., 2004). Dans le cancer du sein sporadique, une faible expression de FANCD2 est couramment observée, ce qui est associé à une amélioration des résultats thérapeutiques à long terme (Feng et Jin, 2019 ; Dan et al., 2021).

IV.2.2.3 Stress réplicatif

Curieusement, certaines protéines AF protègent des régions spécifiques du génome appelées sites fragiles communs (CFS) : par exemple, la monoubiquitination FANCI et FANCD2 maintiennent les (FRA3B) et (FRA16D) deux points d'accès à réplication tardive qui résident dans les grands gènes suppresseurs de tumeurs FHIT et WWOX. De plus, certaines études rapportent que les rôles des protéines AF dépendent des niveaux de stress réplicatif. Dans des conditions physiologiques, FANCD2, indépendamment de FANCI, interagit avec et recrute le complexe d'hélicase BLM pour redémarrer les fourches de réplication bloquées. De plus, FANCD2 et FANCI, indépendamment de la voie FA, s'associer au complexe réplicatif hélicase MCM2–7 lors d'un stress réplicatif médié par l'ATRÀ des niveaux élevés de stress de réplication (induits par un traitement pharmacologique), FANCD2, FANCI et les protéines du complexe central fonctionnent en synergie pour conférer la stabilité de la fourche et favoriser le redémarrage de la réplication (Chaudhury et al., 2013; Milletti et al., 2020).

IV.2.2.4 AF et conflit transcription-réplication

La pertinence et la fréquence de la réplication et de la transcription de l'ADN au cours du cycle de vie cellulaire facilitent la rencontre des machineries responsables de ces deux processus. La voie de l'anémie de Fanconi supprime l'instabilité du génome associée à la boucle R (figure.2) (les boucles R sont des inducteurs majeurs de l'instabilité du génome elles en résultent de la combinaison d'hybrides ARN-ADN avec un ADN simple brin). Les collisions entre les fourches de réplication et les ARN polymérases allongées représentent une source d'instabilité du génome, une caractéristique du développement du cancer. Ces conflits peuvent également être causés par des structures indirectes issues de l'activité transcriptionnelle elle-même. Par conséquent, les cellules ont développé différentes stratégies pour empêcher leur accumulation (Datta et Brosh Jr, 2019; Milletti et al., 2020).

Une fourche de réplication rencontrant une boucle R est stabilisée par les fonctions coordonnées des protéines impliquées dans l'AF ; BRCA2, FANCD2 et éventuellement d'autres protéines FA sont recrutées dans la fourche rencontrant un hybride ADN-ARN pour

empêcher l'effondrement de la fourche. Les protéines FA peuvent faciliter la résolution d'enzymes de boucle R telles que RNH1 ou SETX. D'autre part, FANCM résout directement les structures en boucle R pour faciliter la reprise de la synthèse d'ADN. Ainsi, les protéines impliquées dans la voie FA atténuent les conflits transcription-réplication associés à la boucle R et assurent la stabilité du génome. BRCA1 en association avec SETX est recruté sur les sites de boucle R formés au niveau des régions de terminaison transcriptionnelle des gènes hautement transcrits et agit pour réparer/prévenir les dommages à l'ADN induits par la boucle R au niveau de ces locus génomiques (Datta et Brosh Jr, 2019).

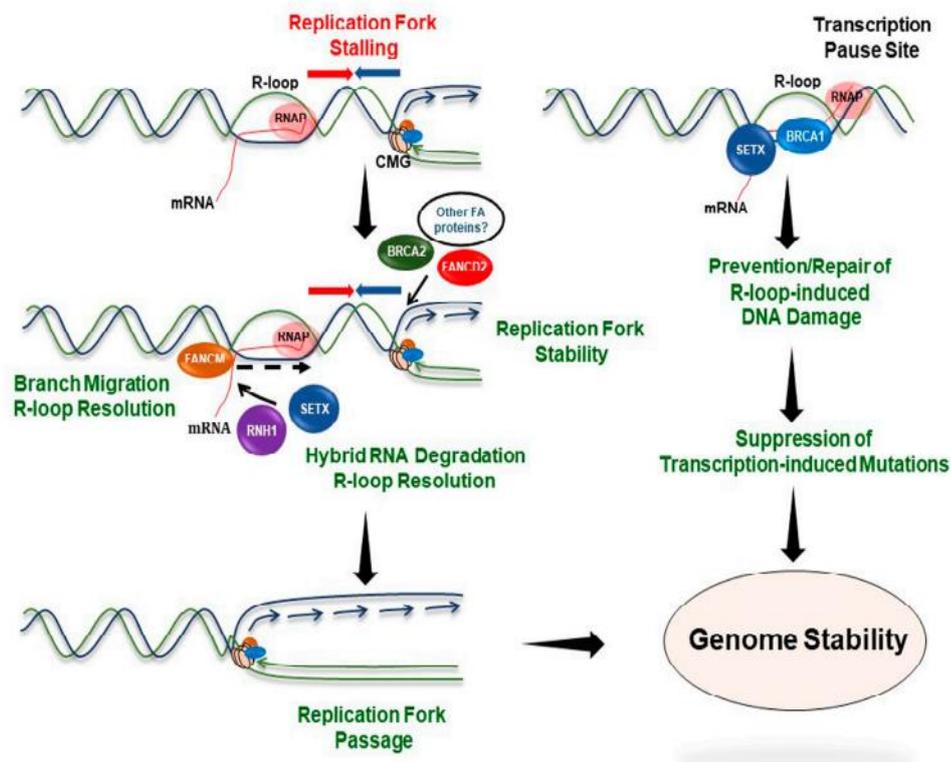


Figure.2: Rôle de la voie AF dans la stabilisation des conflits transcription-réplication (Datta et Brosh Jr, 2019).

IV.3 Rappel sur les aberrations chromosomique

Les cellules AF montrent une fréquence élevée spontanée des aberrations, y compris les cassures chromosomiques (lacunes et cassures des chromatides) (Oppezzo, 2021). Une anomalie chromosomique, ou aberration chromosomique, est un trouble caractérisé par une altération morphologique ou numérique d'un ou de plusieurs chromosomes, affectant les autosomes, les chromosomes sexuels ou les deux ; en 1959 était la mise en évidence de la première anomalie chromosomique ; la trisomie 21. Ces remaniements chromosomiques

peuvent être : constitutionnels ; sont présents dès la conception ou se forment lors des premières divisions du zygote, ou acquis qui vont apparaître au sein d'une cellule au cours de la vie. (Belmokhtar, 2014 ; Daniel A et al., 2022).

Les anomalies chromosomiques sont de plusieurs genre ; on distingue les classes suivantes :

IV.3.1 Anomalies de nombre

Ces anomalies peuvent toucher aussi bien les chromosomes sexuels que les autosomes. Elles sont caractérisées par la perte ou le gain d'un seul ou plusieurs chromosomes (Belmokhtar, 2014).

IV.3.1.1 Aneuploïdie

C'est une anomalie caractérisée par la présence d'un chromosome de plus (trisomie) ; ou en moins (monosomie) dans les paires chromosomique (Dimassi et al., 2017). C'est le résultat d'une mal ségrégation des chromosomes lors de la division cellulaire (Belmokhtar, 2014).

Homogène

Ce sont des anomalies qui peuvent toucher toutes les cellules de l'organisme Dans l'espèce humaine, seules trois trisomies autosomiques homogènes sont viables. Il s'agit des trisomies 13, 18 et 21, la trisomie 21 étant de loin la plus fréquente, d'autre ne sont pas viables et s'éliminent très précocement sous forme de fausses couches spontanées (trisomie 16) (Belmokhtar, 2014 ; Dimassi et al., 2017).

Aucune monosomie autosomique homogène n'est viable Les gamètes nullosomiques produisent des monosomies. Ces dernières, bien que produites en nombre théoriquement égal aux trisomies, subissent une élimination précoce (Belmokhtar, 2014 ; Dimassi et al., 2017).

Les anomalies gonosomiques de nombre sont nombreuses ; et leur viabilité est plus grande dont il apparait : trisomie X et Y, monosomie X, tétra et pentasomie Y sont viables (Belmokhtar, 2014).

Mosaïque

La mosaïque résulte des anomalies de ségrégation (des non-disjonctions) survenant au cours des premières mitoses, exemple : Syndrome de Klinefelter en mosaïque 46, XY/47, XXY. Les aneuploïdies en mosaïque des gonosomes sont viables vu l'inactivation du chromosome X et le faible contenu en gènes du chromosome Y (Belmokhtar, 2014 ; Lespinasse et Nadeau, 2005).

IV.3.1.2 Polyplœidies

Les polyplœidies correspondent à une anomalie du nombre de lots haploïdes. Normalement nous recevons un lot de 23 chromosomes de notre père et un lot de 23 chromosomes de notre mère il arrive que certaines cellules n'aient pas deux lots haploïdes, mais trois ou quatre lots. On parle alors de triploïdie ($3N=69$ chromosomes), et de tétraploïdie ($4N=92$ chromosomes) (Dimassi et al., 2017). C'est une anomalie qui survient à la suite de la fécondation d'un ovule par deux spermatozoïdes ou suite à la non-éjection d'un globule polaire de l'ovule (Belmokhtar, 2014).

IV.3.2 Anomalie de structure

Les anomalies de structure sont des mutations qui résultent des cassures du matériel chromosomique suivies par un ou plusieurs recollements anormaux. Si ce réarrangement ne s'accompagne ni de perte ni de gain de matériel génétique, il est dit équilibré n'a habituellement pas de traduction clinique ou déséquilibrées accompagnées souvent d'un phénotype anormal (Belmokhtar, 2014 ; Dimassi et al., 2017).

IV.3.2.1 Anomalies de structure impliquant un seul chromosome

✓ Délétions

Les délétions sont les anomalies de structure déséquilibrées les plus fréquentes. Elles correspondent à une perte de matériel chromosomique, donc de gènes de taille plus ou moins importante. Elle résulte d'une cassure chromosomique avec perte du segment distal (délétion terminal) ou de deux cassures sur le même bras avec perte du segment intercalaire (délétion interstitielle ou intercalaire) (Belmokhtar, 2014 ; Dimassi et al., 2017).

✓ Duplications

Le remaniement opposé de la délétion ; elle se définit par la répétition d'une ou deux fois d'un segment de chromosome cette duplication peut être inversée "en miroir" ou dans le même sens "en tandem"(Belmokhtar, 2014 ; Dimassi et al., 2017).

✓ Chromosomes en anneau

Les anneaux résultent la cassure aux deux extrémités d'un chromosome avec perte des extrémités cassées et recollement du chromosome (figure.3). Ils sont rarement transmis à la descendance car un anneau est particulièrement instable (Belmokhtar, 2014 ; Dimassi et al., 2017).

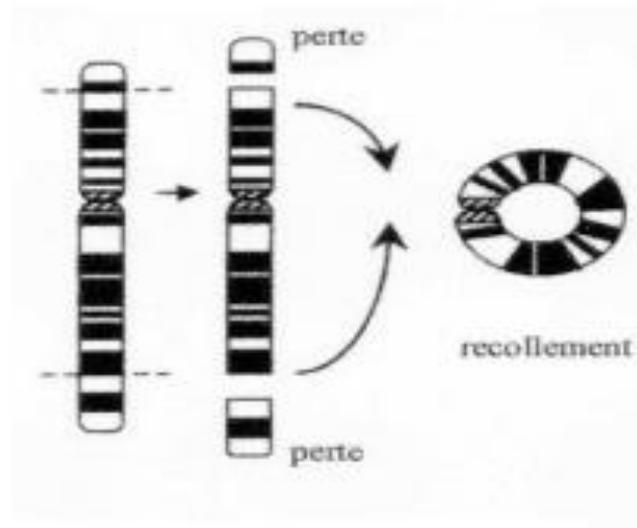


Figure. 3: Schéma représentatif d'une aberration chromosomique du type chromosome en anneau (Turleau et Prieur, 2000).

✓ **Isochromosome**

Il s'agit d'un chromosome anormal formé de deux bras longs ou de deux bras courts d'un même chromosome avec perte de l'autre bras (Belmokhtar, 2014 ; Dimassi et al., 2017).

✓ **Inversion**

Est due à deux cassures chromosomiques sur le même chromosome avec retournement du fragment entre les deux cassures (figure.4). Elles sont dites péricentriques si le centromère est inclus dans le segment intermédiaire, et paracentriques si les cassures se sont produites dans le même bras (Belmokhtar, 2014 ; Dimassi et al., 2017).

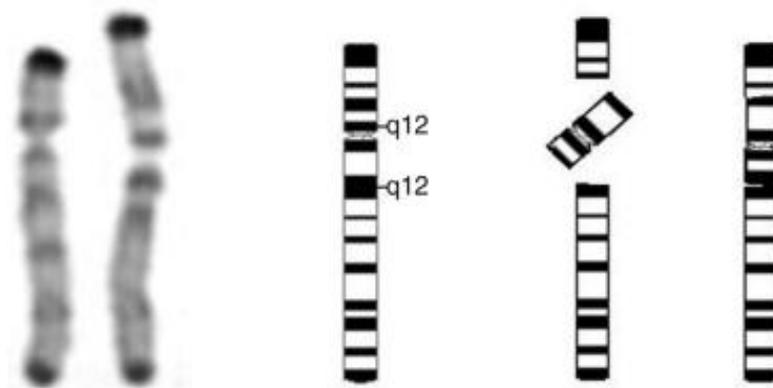


Figure. 4: Schéma d'une inversion péricentrique d'un chromosome (Dimassi et al., 2017).

IV.3.2.2 Anomalies de structure impliquant plusieurs chromosomes

✓ Translocations

Il s'agit d'une transposition d'un fragment chromosomique sur un autre chromosome c'est une cassure sur au moins deux chromosomes non homologues avec échange entre les chromosomes des portions cassées qui se recollent au point de cassure ; on distingue deux formes majeures : la translocation réciproque (figure.5) (résultat des cassures qui surviennent sur des chromatides de deux chromosomes non homologues un échange segmentaire réciproque survient entre ces deux chromosomes donnant naissance à deux dérivés) et la translocation robertsonienne (figure.6) (concernant les chromosomes acrocentriques (paires 13, 14, 15, 21, 22) lesquels leurs bras courts ont une très petite taille et ne codent que pour des gènes répétés sans importance pour le développement) (Belmokhtar, 2014 ; Dimassi et al., 2017).

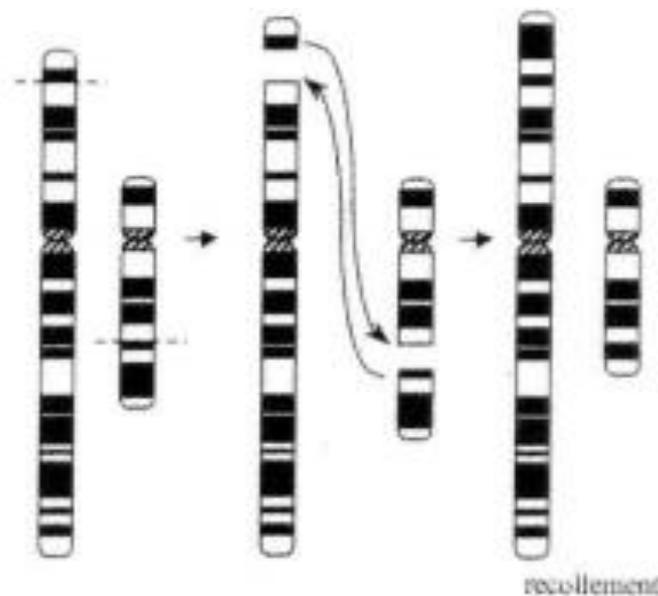


Figure. 5: Schéma représentatif d'une translocation réciproque (Turleau et Prieur, 2000).

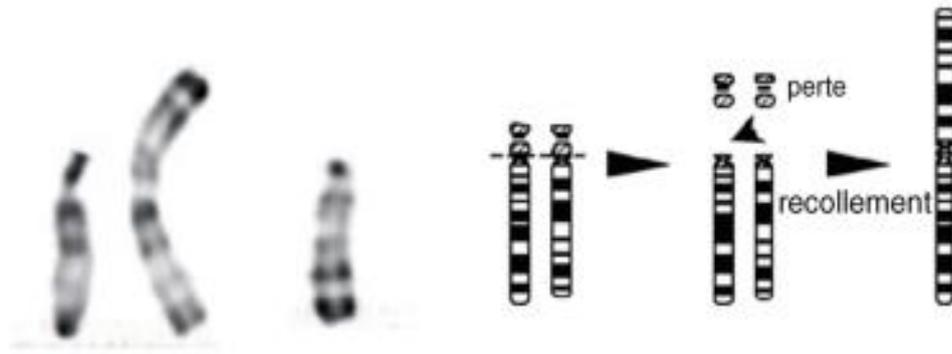


Figure. 6: Schéma représentatif d'une translocation robertsonienne (Dimassi et al., 2017).

✓ Insertion

Elles sont liées à l'existence d'une partie d'un chromosome insérée dans un autre chromosome. Ces remaniements sont beaucoup moins fréquents que les translocations (Dimassi et al., 2017).

V. Causes de l'AF

IV.1 Facteurs génétiques

Les facteurs de risque de développer l'AF incluent donc principalement les antécédents familiaux de la maladie (AFMF, 2019).

La plupart des cas d'AF sont hérités de manière autosomique récessive. Un trouble récessif survient lorsqu'un individu hérite deux copies d'un gène anormale pour le même trait un des deux parents. Si une personne hérite un gène normale et un gène pathologique cette personne sera « porteuse » et ne présentera aucun symptôme et ne développent pas la maladie mais ils sont capables de la transmettre (figure.7) (NORD, 2020).

- ✚ Dans le cas où l'enfant ait deux copies du gène Fanconi non altéré, il a 25% de chances qu'il ne soit pas malade.
- ✚ Puisque l'enfant possède une seule copie du gène FANC altéré, il a 50% de chance d'être porteur hétérozygote (porteur sain).
- ✚ L'enfant possède deux copies du gène altéré et à 25% de chances d'être malade.

Les parents qui sont des parents proches (consanguins) ont plus de chances que les parents non apparentés d'être tous les deux porteurs du même gène anormal, ce qui augmente le risque d'avoir des enfants atteints d'une maladie génétique récessive.

Transmission autosomique récessive

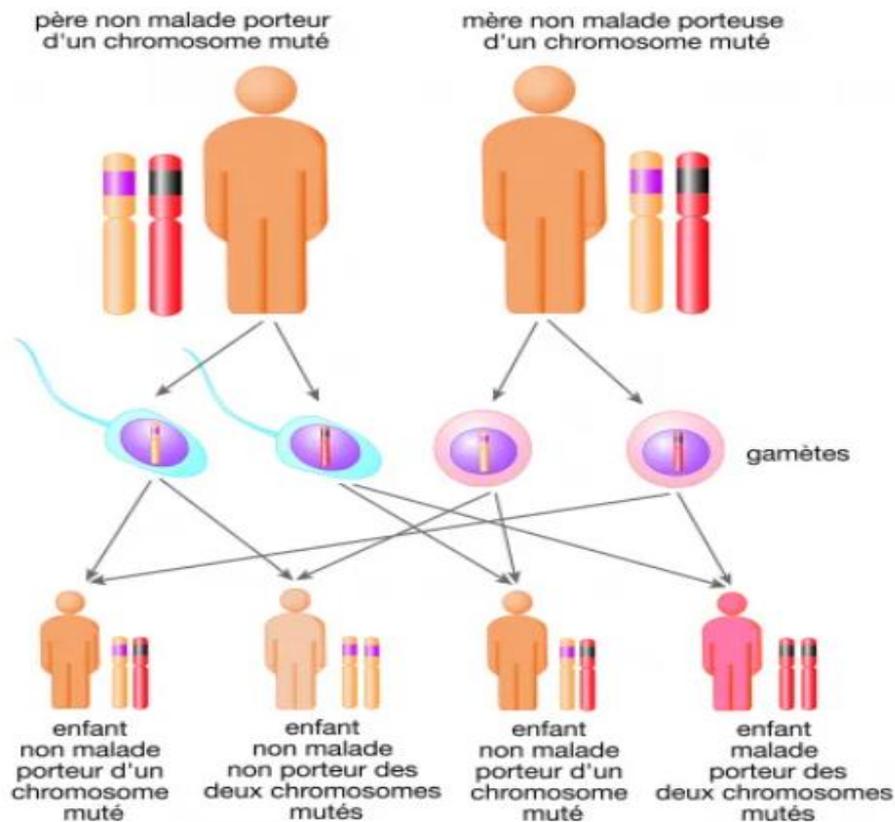


Figure. 7: Schéma de la transmission autosomique récessive (AFM Téléthon .2022).

Le FANCB est situé sur le chromosome sexuel X alors que les 21 autres sont situés sur des chromosomes autosomes ; on parle d'une transmission liée à l'X. (AFMF.2019)

Les femmes qui ont un gène altéré présent sur l'un de leurs chromosomes X sont porteuses de ce trouble. Les femmes porteuses ne présentent généralement pas de symptômes car elles ont deux chromosomes X et un seul porte le gène altéré (figure.8). Les hommes ont un chromosome X hérité de leur mère et si un homme hérite d'un chromosome X contenant un gène altéré, il développera la maladie. Les femmes porteuses d'un trouble lié à l'X ont (NORD. 2020).

- ✚ À chaque grossesse il y a 25 % de chance d'avoir une fille porteuse de la maladie.
- ✚ Avoir une fille non porteuse est de 25 % de chance à chaque grossesse.
- ✚ Il y a 25 % de chance d'avoir un fils atteint de la maladie.
- ✚ A chaque grossesse y a 25% de chance d'avoir un fils non atteint.

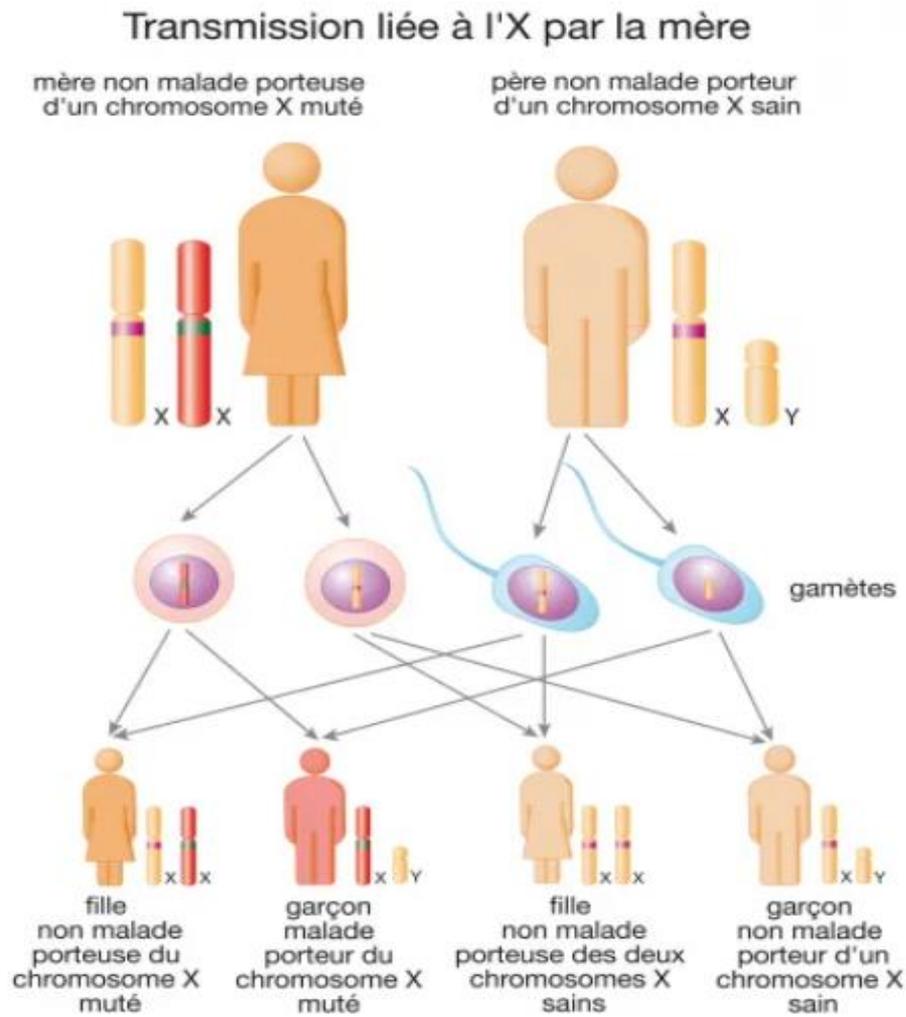


Figure. 8: Schéma de la transmission liée à l'X maternelle (AFM Téléthon .2022).

Si un homme atteint d'une maladie liée à l'X est capable de se reproduire, il transmettra le gène altéré à toutes ses filles qui en seront porteuses. Un mâle ne peut pas transmettre un gène lié à l'X à ses fils parce que les mâles transmettent toujours leur chromosome Y au lieu de leur chromosome X à la progéniture mâle (NORD. 2020).

Les mutations du gène RAD51 provoquent l'AF autosomique dominant (figure.9) (NORD. 2020). Il suffit qu'une anomalie touche un seul exemplaire du gène pour que la maladie se développe. Cette anomalie se transmet par un des parents, le père ou la mère (AFM Téléthon. 2022).

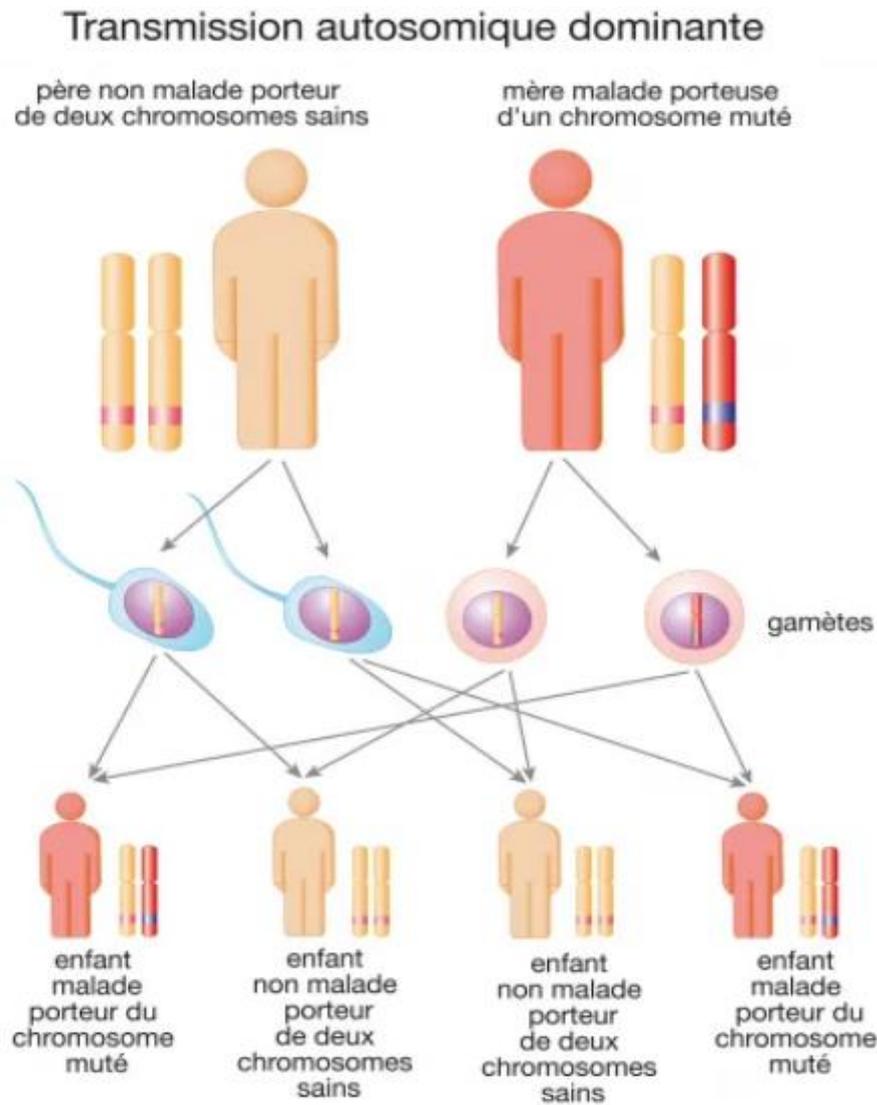


Figure. 9: Schéma de la transmission autosomique dominante (AFM Téléthon .2022).

IV.2 Facteurs environnementaux

L'anémie de Fanconi (AF) est héréditaire. La génétique est un facteur inaltérable dans le développement de la maladie. Mais toujours il existe des facteurs de risque environnementaux qui peuvent augmenter la probabilité de développer l'AF, notamment (NORD. 2020) :

- ✚ Exposition à des produits chimiques toxiques tels que le benzène le plomb et les produits chimique utilisé dans le solvant industriel a été associé à un risque accru de développer l'AF.

- ✚ Exposition aux rayonnements ionisants tels que ceux utilisés en radiothérapie pour le traitement du cancer.
- ✚ Infections virales telles que les virus de l'hépatite C et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

Il est important de noter que même si un individu présente des facteurs de risques environnementaux, cela ne garantit pas qu'il développera l'AF (Shamarad Charles, 2022).

VI. Manifestation clinique

VI.1 Anomalies hématologiques

Les patients atteints d'AF développent généralement un certain degré de dysfonctionnement de la moelle osseuse, entraînant une déficience en cellules sanguines ou la production de cellules anormales. Le dysfonctionnement de la moelle osseuse peut entraîner divers problèmes de santé, qui peuvent chacun présenter divers signes et symptômes (Parikh et Bessler, 2012). L'atteinte hématologique est le plus souvent absente à la naissance et n'apparaît que plus tard dans la vie du patient. Le premier signe détecté à l'âge infantile est une macrocytose qui correspond à une augmentation de la taille des globules rouges, ensuite une thrombopénie qui est due à une diminution des plaquettes, puis une neutropénie qui est due à une chute de neutrophiles, et enfin une anémie aplasique (Magron, 2015).

Les patients affectés peuvent présenter une pâleur, des hémorragies et/ou des infections récurrentes. La cause principale de mortalité des patients AF est l'insuffisance médullaire (figure.10) avec une incidence cumulée de 90% à l'âge de 40 ans ; contrairement au patient qui a reçu une greffe de la moelle osseuse pour traiter la pancytopenie, le cancer représente la complication majeure (Oppezzo, 2021).

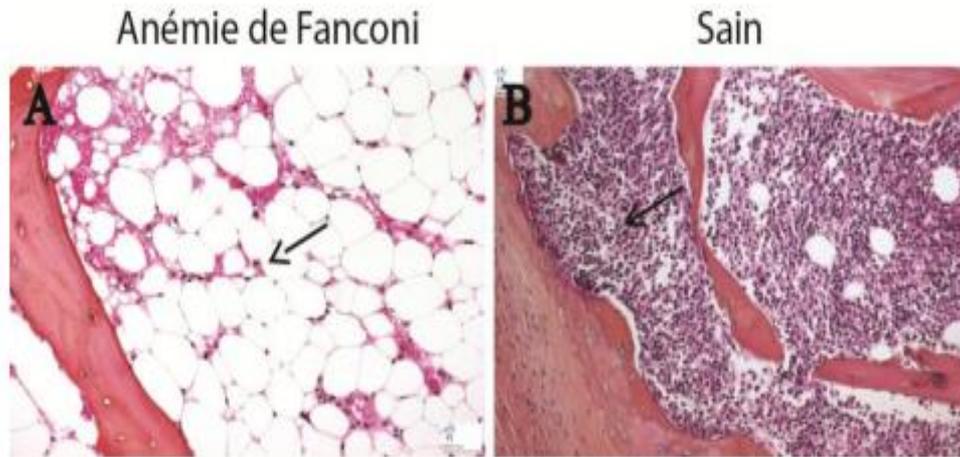


Figure. 10: Coupe d'un os d'une personne développant une anémie aplasique en comparaison d'une personne saine coupes colorées à l'hématéine et à l'éosine (Magron, 2015).

VI.2 Anomalies congénitales

L'expression clinique de FA est marquée par une grande hétérogénéité phénotypique, y compris dans la même famille. La petite taille est l'une des caractéristiques les plus fréquentes: elle débute pendant la vie utérine et les enfants naissent le plus souvent petits sans rattrapage post-natale (figure.11) (Magron, 2015). La petite taille en raison d'un déficit en hormone de croissance, d'une hypothyroïdie ou d'anomalies du glucose ou de l'insuline (Petryk et al., 2015).



Figure. 11: Image présentant la petite stature des malades de Fanconi (Magron, 2015).

La majorité des malades environ de 75% présentent des malformations congénitales de degré variable (Opezzo, 2021). Parmi ces anomalies congénitales ; des anomalies squelettiques dont les plus courantes est l'absence de l'os du radius (l'un des deux os de l'avant-bras) (figure.12) des malformations de pouces (absence, bifide, dupliqué, hypoplasique, plus proximal, long, à trois phalanges) (figure.13) (Mazon, 2018). Pigmentation anormale de la peau ; tache foncées ou claire qui apparaissent dès naissance (tache café au lait figure.14)(NORD.2020).



Figure.12: Image présentant une absence complète du radius la main est en position perpendiculaire à l'avant-bras (Laura Hays et al., 2014).



Figure.13: Anomalies typiques du pouce (Moreno et al., 2021).



Figure. 14: Anomalies typiques de la pigmentation cutanée tache café au lait observé sur le dos (Magron, 2015).

Environ d'un quart des patients présente une dysmorphie faciale caractérisée par un visage triangulaire et les nerfs et le système nerveux se traduisant par une microcéphalie un retard mental et une microphtalmie (Oppezzo, 2021 ; Magron, 2015).

Des malformations des reins et de l'appareil urinaire ; malformations de l'oreille externe, une surdité, des anomalies associées au tube digestif associé à une anorexie, des nausées, des diarrhées et des douleurs abdominaux peuvent aussi se manifester chez les patients AF (Magron, 2015).

VI.3 Prédiposition au cancer

Les cancers dans cette maladie sont à la fois plus fréquents que la population générale. Les tumeurs hématologiques dont la plus courante est la leucémie myéloïde aigue (LMA) précédé généralement par un syndrome myélodysplasique (SMD) (Monachon, 2016). En plus des tumeurs hématologiques y a une haute fréquence des tumeurs solide dont le plus connus est les carcinomes épidermoïdes comme les tumeurs de la tête et du cou (HNSCC) et les carcinomes des muqueuses anogénitale (Monachon, 2016; Oppezzo, 2021).

La susceptibilité malignes s'expliquerai par la présence d'une immunité déficiente ainsi que par la déficience de la fonction de réparation d'ADN à l'origine d'une grande instabilité chromosomique (Monachon, 2016).

VII. Diagnostic

Le diagnostic de l'AF peut être difficile car les symptômes sont très variés et non spécifiques. Le diagnostic est parfois évoqué cliniquement à un stade précoce en raison des

malformations congénitales (rein, membre supérieur, cœur...) mais, pour la plupart des patients, il ne l'est qu'au stade de l'insuffisance médullaire, généralement entre l'âge de 4 et 10 ans (AFMF, 2020). Ces tests peuvent inclure :

VII.1 Test de cytogénétique

Le diagnostic repose sur la démonstration d'un excès de cassures chromosomiques par test de cytogénétique après exposition des cellules (lymphocytes du sang) à un agent cassant : diepoxybutane ou mitomycine C ; ce sont des tests où l'aspect physique des chromosomes va être analysé. Ainsi, les cellules sanguines prélevées au cours d'une prise de sang sont traitées par de la MMC ou par le DEB, puis étalées sur des lames de verres. Chez des personnes saines, les chromosomes seront d'apparence habituelle, puisque les cellules vont pouvoir se réparer toutes seules. Tandis que chez les personnes atteintes de l'AF, les chromosomes présenteront un nombre important de cassures (AFMF, 2019).

VII.2 Test génétique

Pour les patients dont l'étude de cassure chromosomique est positive, il faut réaliser séquençage ciblé et WES, respectivement. Tous les variants de mutation identifiés ont été vérifiés par PCR et le séquençage. La PCR est utilisée pour amplifier des fragments d'ADN sélectionnés à l'aide de sondes oligonucléotidiques spécifiques pour les tests d'hybridation. La PCR peut également être utilisée pour amplifier les séquences d'ADN détectées à l'aide d'amorces spécifiques (Mori et al., 2019).

Le panel d'anémie Fanconi est utilisé pour identifier la ou les mutations causales. Ce panel de 22 gènes utilise le séquençage de nouvelle génération (NGS) pour analyser BRCA1, BRCA2, BRIP1, ERCC4, FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, MAD2L2, PALB2, RAD51, RAD51C, RFW3, SLX4, UBE2T et XRCC2. Le séquençage d'un seul gène de chaque gène du panel est également disponible, tout comme l'analyse spécifique de la mutation pour la mutation commune FANCC IVS4+4A>T chez les patients d'origine juive ashkénaze (Cincinnati children's hospital medical center, 2021).

VII.3 Conseil génétique

Le conseil est basé sur le modèle d'héritage et les gènes impliqués dans la maladie ; la recherche d'instabilité chromosomique doit être instaurée chez les membres de la famille du patient (Moreno et al., 2021 ; Bouguenouch et al., 2017). Lorsqu'un individu affecté reçoit un

diagnostic d'AF, il existe une possibilité qu'un autre individu affecté asymptomatique soit parmi les frères et sœurs ; ici, des tests cytogénétiques doivent être utilisés sur tous les frères et sœurs pour exclure la maladie, car un diagnostic rapide peut améliorer le pronostic (Moreno et al., 2021).

VII.4 Diagnostic prénatal et diagnostic préimplantatoire

Le diagnostic prénatal (DPN) est réalisé le plus souvent sur un prélèvement de villosités choriales ou biopsie du trophoblaste à 10 semaines de grossesse ou 12 semaines d'aménorrhée. Cela nécessite d'avoir recours à une échographie de datation à partir de 6 semaines de grossesse (AFMF,2019).

L'identification précise des mutations peut aussi permettre de réaliser un diagnostic préimplantatoire lors d'une procédure de fécondation *in vitro*. Après la fécondation *in vitro* et avant le transfert des embryons dans l'utérus de la mère, une cellule (ou deux) de chaque embryon est prélevée et analysée afin de rechercher l'anomalie génétique en cause. Seuls seront placés dans l'utérus de la maman les embryons indemnes de la maladie génétique (AFMF,2019).

VII.5 Après la confirmation de la maladie

- FNS utilisé pour le diagnostic des troubles hématologiques, par ex. anémie, polyglobulie essentielle, leucémie, thrombocytopenie.
- Biopsie de la moelle osseuse au trépan (localisation anormale des progéniteurs myéloïdes, augmentation des blastes sur la coloration spécifique de CD34 et CD117).
- Évaluation des fonctions hépatique, rénale, cardiaque, urinaire, gastro-intestinale, squelettique, auditive et visuelle.
- Évaluation endocrinologique (thyroïde, tolérance au glucose, fonction de l'hypophyse, gonades chez les sujets post-pubères).
- Imagerie par résonance magnétique (IRM) cérébrale avec angiographie pour l'hypophyse et le syndrome de Moyamoya.
- Évaluation des cancers généralement associés à l'AF avec une attention particulière à la cavité buccale.
- Typage HLA du patient, de la fratrie en bonne santé et des parents ; pour la recherche d'un donneur non apparenté HLA compatible si aucun frère ou sœur HLA compatible sain n'est trouvé dans la famille (Dufour et Pierri, 2022).

VIII. Prise en charge

Les patients atteints d'AF ont besoin d'un suivi et des plans de soins complets, coordonnés par des centres spécialisés dans la prise en charge de l'AF, qui commencent dès le diagnostic et se poursuivent tout au long de la vie. Une telle durée le suivi est essentiel pour détecter les complications liées à la maladie ou au traitement dans ce contexte (Dufour et Pierri, 2022).

VIII.1 Traitement de soutien

Les transfusions sanguines sont le meilleur traitement de soutien pour l'AF. Les culots globulaires et les transfusions de plaquettes ont un effet immédiat. La transfusion de globules rouges provenant de membres de la famille doit être évitée en raison de l'allo-immunisation et de la réaction du greffon contre l'hôte. La transfusion extensive a de mauvais résultats chez les patients ayant subi une greffe de cellules hématopoïétiques (Bhandari et al., 2022).

VIII.2 Transplantation de la moelle osseuse

Actuellement, la seule solution pour guérir la défaillance hématologique qui met la vie en danger est la greffe de moelle osseuse ou la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) (Bhandari et al., 2022). La greffe de la moelle osseuse est la méthode préférée par rapport aux autres à partir d'un frère compatible HLA. Il est essentiel de faire des tests de cassure chromosomique des frères et sœurs ou d'autres donneurs apparentés pour exclure l'AF chez les donneurs. Cette méthode n'est pas accessible à tous et est réservée uniquement aux patients atteints de syndrome myélodysplasique sévère et de leucémie, et en échec du traitement médical. 50% - 75% des patients répondent, et c'est un traitement plus permanent (Ebens et al., 2017).

Les résultats de ces greffes se sont fortement améliorés ces dernières années, en particulier pour les greffes non apparentés, celles dont ils ont subi une amélioration l'état pré-greffe, des traitements immunosuppresseurs et la prévention de la GVH (Graft Versus Host disease = maladie du greffon contre l'hôte) (AFMF, 2019).

Cependant, ce traitement présente un certain risque de développer des tumeurs solides, ce qui nécessite une surveillance particulière (AFMF, 2019).

VIII.3 Thérapie par les androgènes

Il est effectué chez ceux qui ne conviennent pas au HCT. L'oxymétholone est l'androgène le plus couramment utilisé. D'autres androgènes moins couramment utilisés sont le danazol et

l'oxandrolone. Les androgènes stimulent la prolifération des cellules souches hématopoïétiques, mais ce n'est pas curatif. Les patients présentant une hypocellularité médullaire sévère ont une mauvaise réponse à la thérapie androgénique. Les globules rouges répondent bien, mais les plaquettes et les leucocytes sont moins susceptibles de répondre (Bhandari et al., 2022).

VIII.4 Traitement chirurgical

La chirurgie est pratiquée uniquement pour la prise en charge des déformations structurelles. Les anomalies de la main doivent être réparé tôt dans la vie pour éviter les retards fonctionnels. Les autres chirurgies comprennent la chirurgie des malformations cardiaques congénitales, la réparation des fistules trachée-œsophage et l'anus imperforé. La chirurgie peut également être nécessaire pour les cancers (Bhandari et al., 2022).

VIII.5 Surveillance des cancers

Toute lésion suspecte à l'examen doit être biopsiée. Cela permet la détection précoce et donc permet d'accroître la chance de survie. En cas de cancer avéré, le traitement est difficile du fait de la sensibilité anormale des patients AF à la chimiothérapie et à la radiothérapie (Orphanet,2020).

VIII.6 Thérapie génique

Il consiste à introduire une copie fonctionnelle du gène défectueux dans les cellules du patient il est encore expérimentale et offre les résultats les plus encourageantes lorsqu'il est réalisée dans les phases précoces d'aplasie médullaire (Dufour et Pierri, 2022). Des études précliniques et cliniques ont été menées en utilisant des vecteurs viraux pour délivrer des gènes FANC fonctionnels dans les cellules de patient mais il reste encore beaucoup de travail à faire avant que la thérapie génique puisse devenir une option de traitement de l'AF (Manus, 2020).

Pour accroître la sécurité de la thérapie génique, des avancées significatives ont également été réalisées dans le ciblage des gènes, grâce à la conception de nucléases spécifiques qui augmentent considérablement l'efficacité de la recombinaison homologe (RH) dans des séquences définies du génome l'utilisation de ces nucléases combinée au transfert de matrices d'ADN donneur a facilité la correction de mutations spécifiques, ainsi que l'insertion de gènes de type sauvage dans des refuges ou immédiatement en aval de séquences régulatrices endogènes (Bueren et al., 2018).

Des essais de thérapie génique pour traiter l'insuffisance médullaire dans l'AF sont en cours en Europe et les deux premiers patients ont été traités en 2019 aux États-Unis. Cela ouvre la voie à la prochaine phase des essais cliniques sur l'AF, qui se déroulera au Royaume-Uni, aux États-Unis et en Europe en 2020 (Fanconi Anemia Research Fund . 2020).

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

I. Types d'études

Il s'agit d'une étude clinique rétrospective à visée descriptive et cytogénétique expérimentale qui s'est déroulée sur une période de 03 mois (entre Mars et Mai 2023).

II. Population, lieu et période de l'étude

Vingt patients atteints de l'anémie de Fanconi ont été inclus dans l'étude, ils provenaient tous des régions de l'Est Algérien. Ces patients étaient recrutés au niveau du laboratoire de diagnostique cytogénétique du centre national de recherche en biotechnologie (CRBt) de Septembre 2022 à Mai 2023.

Parmi les vingt patients de l'étude, nous avons réalisés au niveau du CRBt, 06 caryotypes de patients, les caryotypes du reste des patients ont été réalisés en dehors du CRBt dans des laboratoires privés.

II.1 Critère d'inclusion

- Patients ayant un caryotype spécifique à l'AF.
- Les patients des deux sexes.
- Les patients inclus d'un âge pédiatrique.
- Les patients présentant des anomalies phénotypiques.

II.2 Critère d'exclusion

- Patients présentant une aplasie médullaire d'origine maligne.
- Patients présentant une aplasie médullaire avec phénotype négative.

III. Méthodes

III.1 Etude clinique

III.1.1 Variables étudiées

Les données reportées dans notre étude sont les suivants :

- L'âge
- Le sexe
- Les motifs de recrutement
- La consanguinité
- Les signes et symptômes
- La durée de l'aplasie médullaire
- Les antécédents médicaux et chirurgicaux

- L'évolution de la maladie

III.1.2 Collecte et saisie des données

La saisie des données, faite parallèlement à la collecte, a été effectuée à l'aide du logiciel Microsoft Excel.

III.1.3 Analyse des données

Les données saisies ont été exploitées par le biais des logiciels SPSS version 22 et Microsoft Excel.

Les résultats ont été exprimés sous formes de tableaux et de figures et selon le type de variable et le résultat à obtenir :

✓ Analyse univariée

- Variables qualitatives : estimation de la fréquence en pourcentage.
- Variables quantitatives : exprimées en moyenne \pm écart type.

✓ Analyse bivariée

Les données étaient analysées en utilisant le test de khi-deux et le test T.

La présence ou l'absence de lien est déterminée par la valeur de P si :

$P \leq 0.05$ la différence est significative.

$P \leq 0.01$ la différence est très significative.

$P \leq 0.001$ la différence est hautement significative.

III.2 Etude cytogénétique

❖ Caryotype

➤ Mise en culture : 72h

- Étiqueter les tubes du milieu de culture avec le nom et le numéro d'organisation.
- Travailler sous hotte à flux laminaire, ouvrir les tubes et éviter de passer les mains au-dessus des tubes.
- On met 10 gouttes de sang dans le milieu de culture PBM et CMP.
- Il faut bien fermer les tubes et les déposer horizontalement sur un plateau en inox et les mettre dans une étuve.

➤ Synchronisation : Après 48h.

- Ajout de 100 μ l de MMC après 48h de mise en culture et remise en culture.

- Lavage, remise en culture, blocage en métaphase, choc hypotonique, préfixation et fixation Après 72h.

➤ **Lavage**

- On commence par une centrifugation 1500 rpm durant 5min 30.
- Après avoir préparé les réactifs (solution de PBS) et après la centrifugation :
- On aspire le surnageant, on ajoute vers 1ml de PBS.
- On vortex pour bien mélanger.
- On met 10ml de PBS (jusqu'à l'étiquette).
- On mélange bien.
- On centrifuge une deuxième fois et on procède à un deuxième lavage « aspiration du surnageant, dilution au PBS, mélanger au vortex, rajouter du PBS et remettre à la centrifugeuse ».

-Après centrifugation :

- Rajouter 1.5ml de RPMI et vortexer.
- Compléter avec 5ml de RPMI et 1.5ml de SVF 'Pipette graduée'.

➤ **Sortie de culture**

❖ **Blocage en métaphase**

- Après incubation de 5h-5h30, ajouter 60µl de colchicine pure dans chaque tube, homogénéiser et remettre à l'étuve en position horizontale pendant 30 minutes.

❖ **Choc hypotonique et préfixation**

- Centrifuger les tubes de culture «1500rpm à 5min30 »
- Sous hotte chimique, aspirer le surnageant avec la pompe à vide.
- Ajouter 1 à 2ml de KCl à la concentration de 5.6g/l préchauffé à 37°C.
- Vortexer et compléter avec 10ml de KCl
- Homogénéiser par retournements.
- Incuber en position horizontale pendant 20min.
- Préfixation : ajouter 0.5ml à 1ml de carnoy (acide acétique + éthanol)
- Homogénéiser par retournements.
- Centrifuger les tubes de culture «1500rpm durant 5min 30 »
- Sous hotte aspirer le surnageant avec la pompe à vide.

➤ **Étalement**

- Centrifugation : 1500rpm pendant 5min30
- Aspirer le surnageant (l'ancien carnoy) et le remplacer par un nouveau carnoy

- A l'aide d'un compte-goutte aspirer et refouler le culot afin de le mettre en suspension.
- Placer une lame dégraissée et séchée à plat et laisser tomber une goutte de culot, rincer au carnoy « ou pas » car cela dépend de la qualité des étalements.
- Essuyer le bas de la lame ainsi qu'à côté de l'étalement.
- La faire sécher au bain marie.
- Observer au microscope optique.

➤ **Dénaturation :**

○ **Bandes R :**

Les faire rapidement après étalement.

- Commencer par réhydrater les lames dans de l'eau distillée durant 5 minutes.
- Plonger les lames dans la solution phosphate qui se trouve au bain marie à 86°C de 13-20 minutes (tout dépend du résultat de la première lame).
- Plonger les lames dans le colorant gimesa-tampon de Gürd durant 5 minutes.

○ **Bandes G :**

- La lame doit dater d'une semaine.
- Plonger les lames dans la solution de trypsine ; le temps doit être adapté à l'ancienneté de l'étalement, et varie de 30 secondes jusqu'à 2 minutes :
 - 30 secondes pour le lendemain et on ajoute 5 secondes aux jours qui suivent.
- Rincer rapidement dans du PBS 1X.
- Coloration et rinçage.
- Faire sécher la lame avant de l'observer.

IV. Considération éthique

L'étude clinique et cytogénétique ont été réalisées dans le respect strict des principes fondamentaux de la recherche.

CHAPITRE III

RESULTATS

I. Description de la population étudiée

I.1 Distribution des patients de l'AF selon le sexe

Il est important de signaler que sur les 20 patients atteints de l'anémie de Fanconi ; il y a une prédominance masculine de 13 garçons soit 65% et 7 filles soit 35% comme le montre la figure 15.

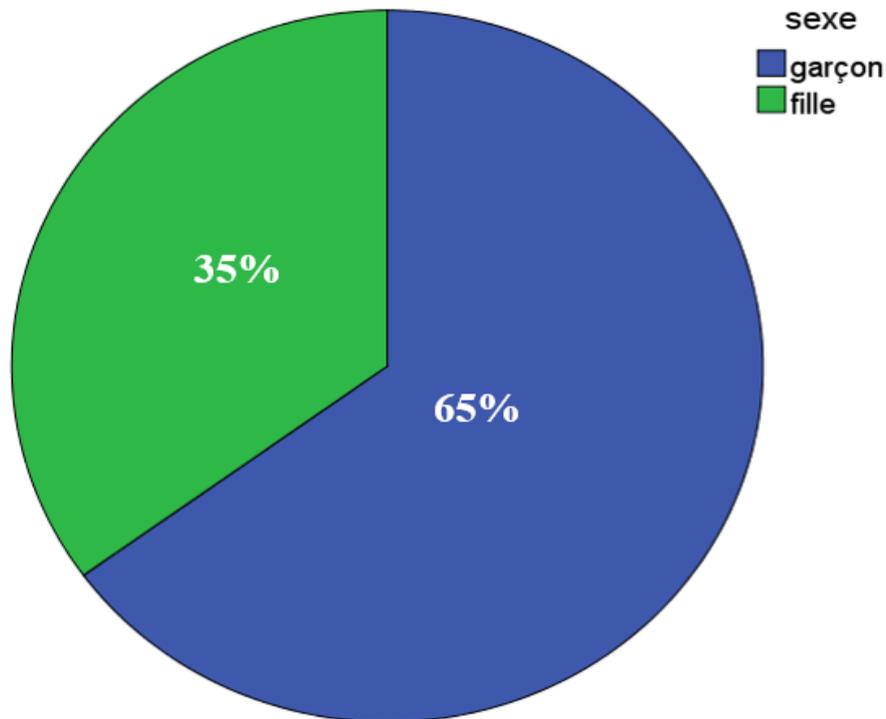


Figure.15: Répartition des patients atteints de l'AF selon le sexe.

I.2 Répartition des patients selon l'âge à la consultation

Les patients inclus dans notre étude étaient d'un âge pédiatrique avec une moyenne de 7.80 ans (± 3.15) avec des extrêmes d'âge :

✚ Âge minimum : 4 ans

✚ Âge maximum : 14 ans

Sur les 20 patients diagnostiqués le pourcentage le plus élevé 8 patients (40%) était âgés entre 4 ans et 6 ans. Suivi par les deux autres tranches d'âge de 7ans à 9 ans et de 10 ans à 14 ans avec un pourcentage de 6 patients (30%) pour chaque tranche.

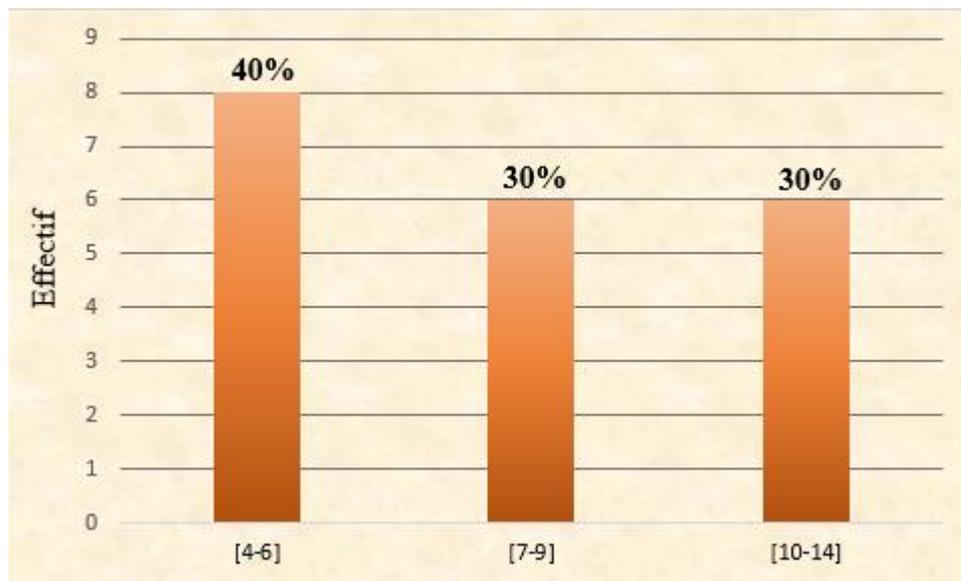


Figure.16: Répartition de l'échantillon étudiée selon l'âge.

I.3 Répartition des patients selon la consanguinité parentale

La figure 17 représente les patients inclus dans notre échantillon réparti selon la consanguinité des parents. La majorité des patients soit 18 patients (90%) sont issus d'un mariage consanguin.

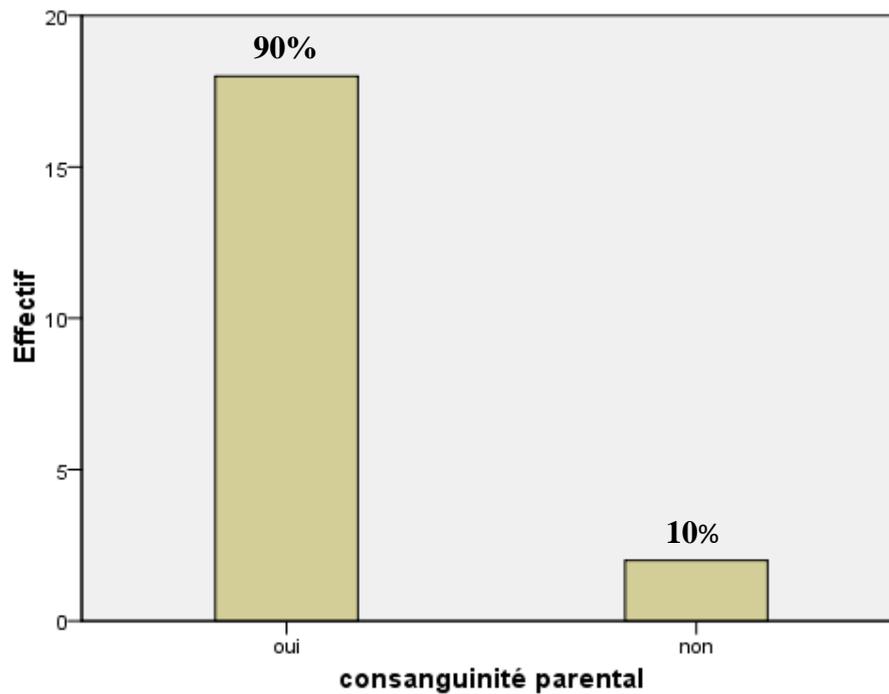


Figure.17: Répartition des patients selon la consanguinité parentale.

I.4 Répartition de l'échantillon selon le motif de consultation

Tous les patients inclus dans notre étude ont présenté une aplasie médullaire ; suivi par le retard staturo-pondéral (RSP) et la pancytopénie avec un nombre de 12 (60%) et 9 (45%) respectivement. Cependant le motif le moins répandu était le syndrome hémorragique avec seulement 3 patients (15%) ; il y'avait d'autre motifs de recrutement comme : le faciès chez 7 patients (35%) et la micropénis chez 5 patients (25%) (figure 18).

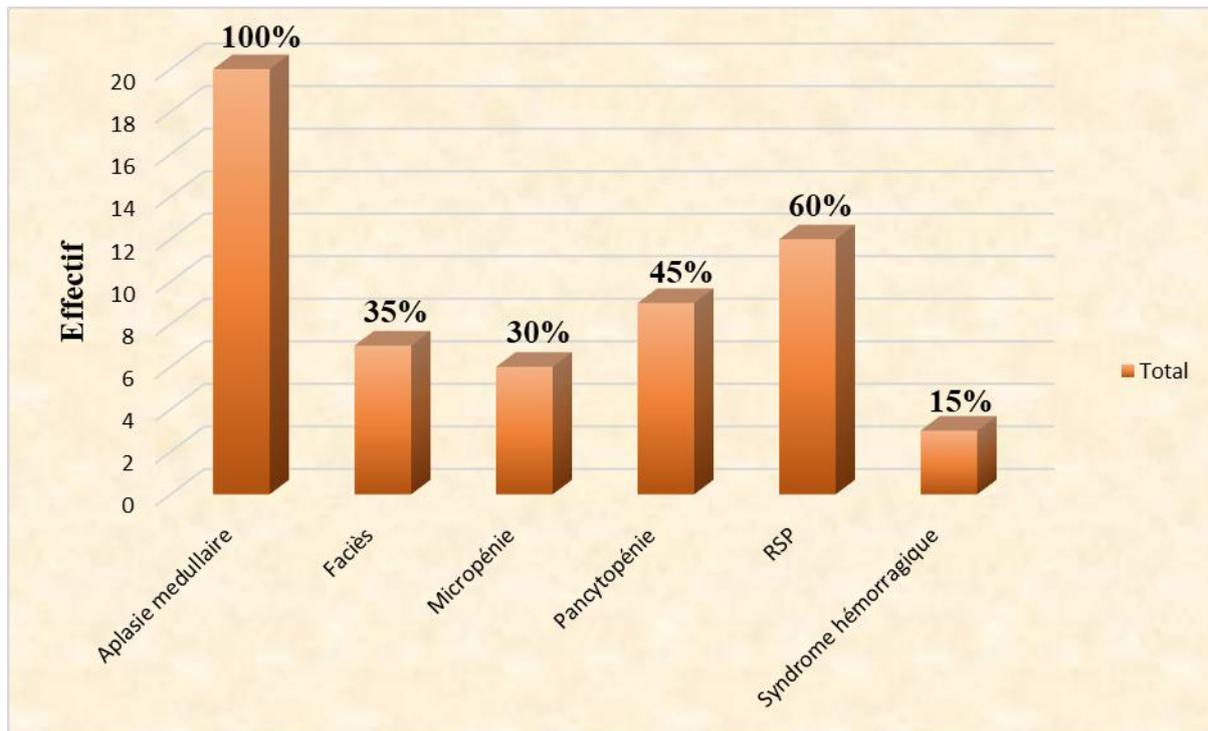


Figure 18: Répartition de l'échantillon selon le motif de consultation.

I.5 Répartition des patients selon les signes cliniques au cours de la maladie

Les signes cliniques chez les malades de l'anémie de Fanconi ont été caractérisées par un ensemble de malformations congénitales très variable (figure.19) ; cutané représenté par les taches café au lait chez 5 patients (soit 25%), urogénitales représenté par des testicules en position inguinale haute et rein en fer à cheval chez 2 patients (soit 10%) et 5 patients (soit 25%) respectivement. Les anomalies des pouces apparait chez 7 patients (35%) ; les oreilles décollées chez 3 patients (soit 15%), la microcéphalie 8 patients (soit 40%) et visage triangulaire chez 9 patients (soit 45%).

Les signes hématologiques caractérisées par une pancytopenie (baisse du taux des différentes cellules sanguines dans le sang) qu'on a trouvé que chez un seul patient (5%), une neutropénie (baisse des globules blancs) a été retrouvé chez 7 patients (35%) et la thrombopénie (chute des plaquettes) chez 3 patients (15%).

Les patients ont tendance à développer le syndrome tumoral qu'on a retrouvé chez 7 patients (35%) et une fièvre chez 2 patients (10%).

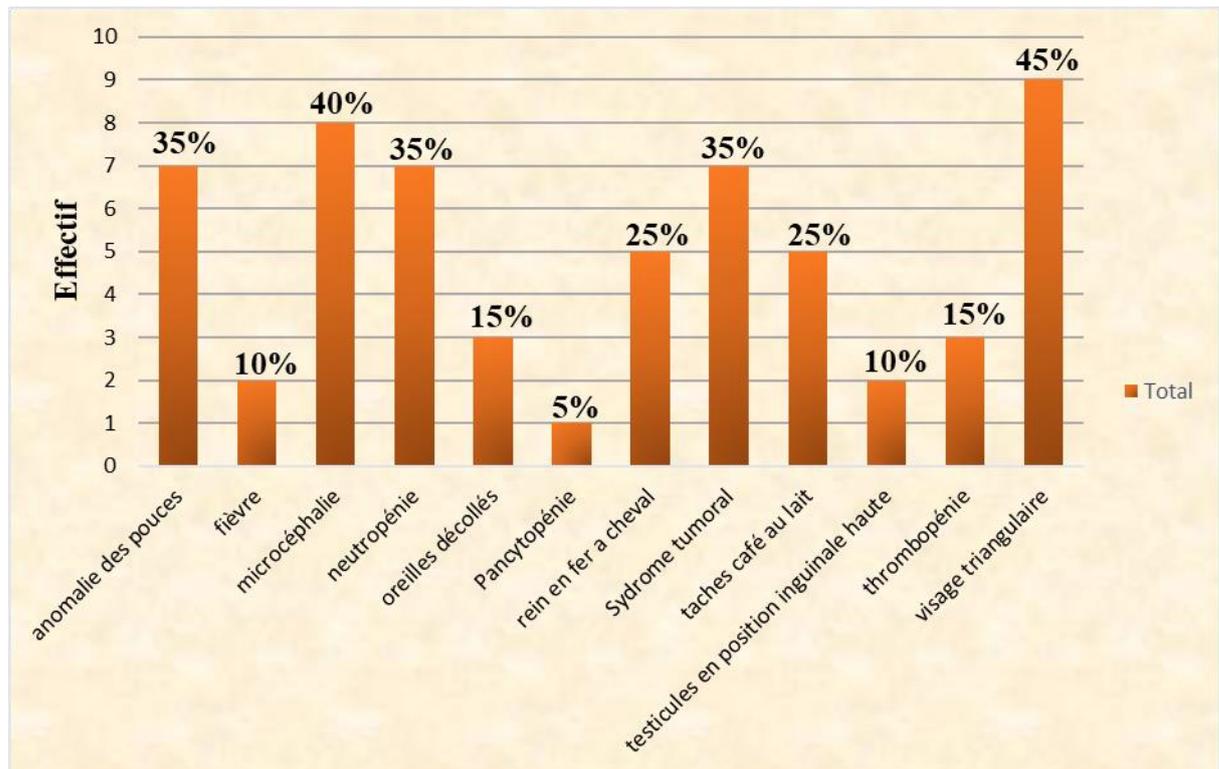


Figure.19: Répartition des patients selon les signes cliniques au cours de la maladie.

I.6 Répartition des patients selon les antécédant médicaux

Selon la figure 20 les patients inclus dans notre étude l'antécédent le plus commun chez nos patients était les infections répétées qu'on a trouvé chez 12 patients (60%), suivi par la cytopénie chez 10 patients (50%), plus rarement le syndrome myélodysplasique chez 5 patients (25%), ensuite les malformations cardiopulmonaires, la fièvre et la thrombopénie chez 3 patients (15%) et 1 patient (5%) respectivement.

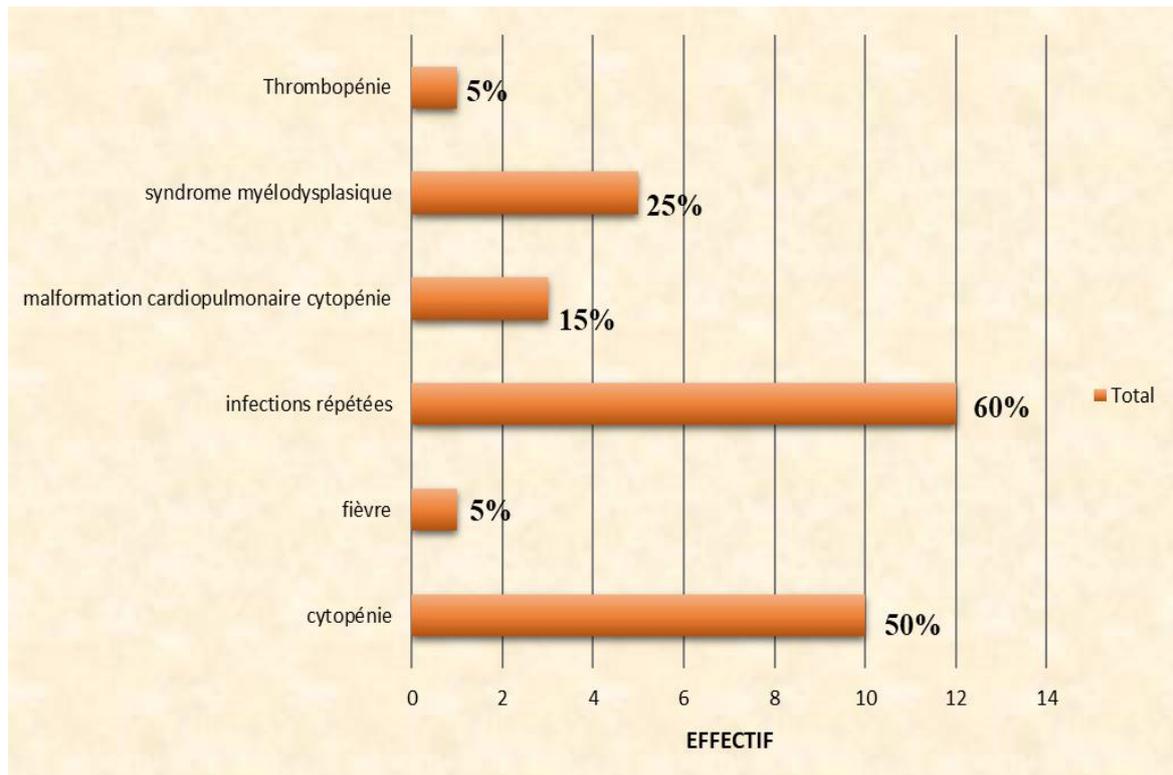


Figure.20: Répartition des patients selon leurs antécédents médicaux.

I.7 Répartition des patients selon les antécédents chirurgicaux

Dans notre étude, 9 patients soit (45%) n'avaient subi aucune intervention chirurgicale, 4 patients ont eu une ablation tumorale, 4 autres patients ont eu le pouce opéré (20%), les oreilles décollées opéré chez 2 patients (10%) ; et en dernier la splénectomie chez un seul patients (5%) (figure.21).

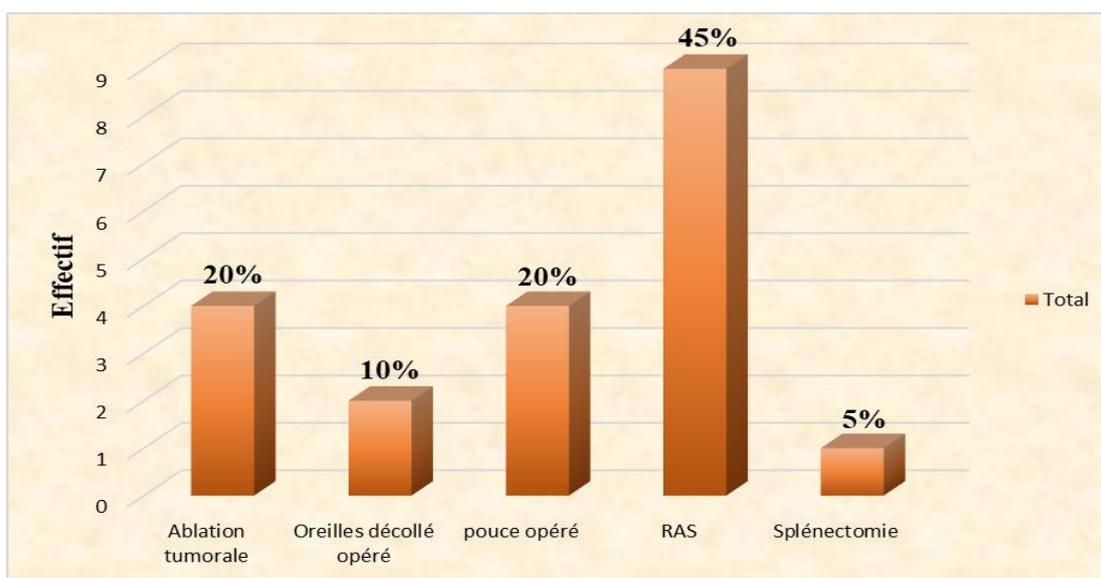


Figure.21: Répartition selon les antécédents chirurgicaux.

I.8 Répartition des patients selon les cas de décès

En analysant les cas de décès dans notre échantillon (figure.22) 3 patients (soit 15% des patients) ont évolué la maladie rapidement et été mort à un jeune âge par contre 17 patients (soit 85% des cas) sont encore en vie.

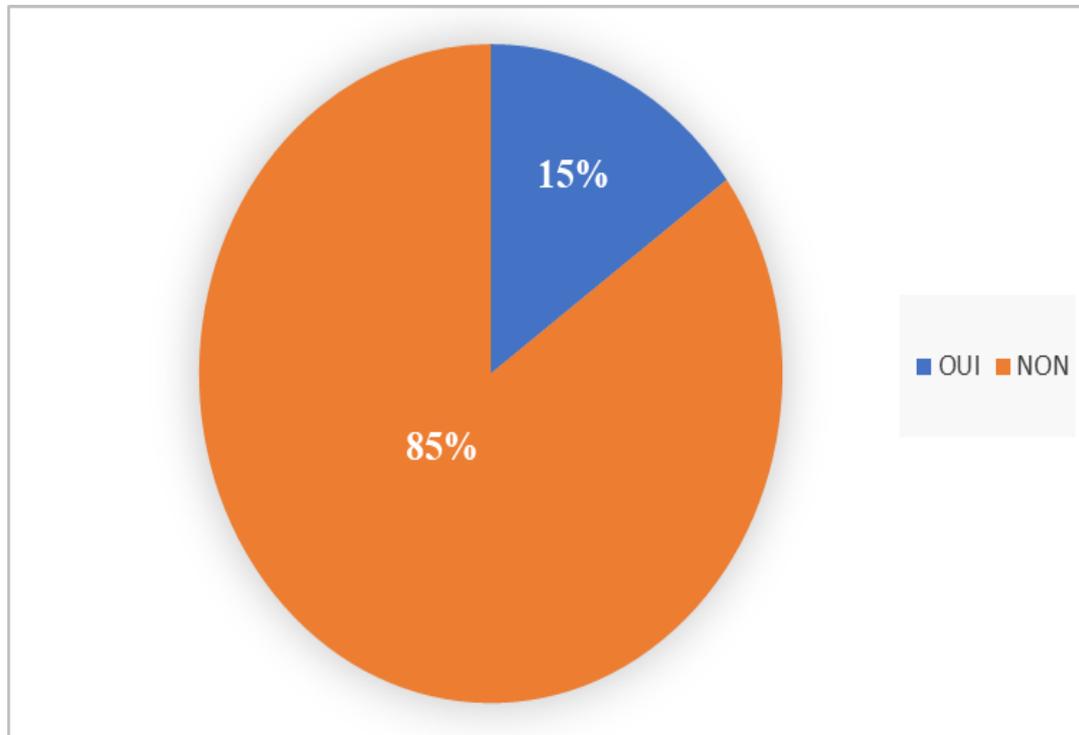


Figure.22: Répartition des patients selon les cas de décès.

II. Analyse bi variée des données cliniques de la population de l'étude

II.1 Age et durée de la maladie

Ces résultats montrent une relation hautement significative. Les patients d'AF présentent une aplasie médullaire qui se développent avec l'âge selon le tableau. Il existe une différence hautement significative $p < 0.001$.

Tableau. II: Association entre l'âge et la durée de la maladie.

	Moyenne	N	Ecart type	P
Âge	7.80	20	3.156	.000
Durée de l'AM (années)	2.80	20	1.609	

N; effectif

II.2 Sexe et évolution de la maladie

Les résultats sont présentés dans le tableau.III.

Ces résultats montrent qu'il y a une association hautement significative entre le sexe et l'évolution de la maladie ($P < 0.001$), les garçons semblent évoluer la maladie plus rapidement que les filles.

Tableau. III : Association entre le sexe et l'évolution de la maladie.

Sexe	Décès		Valeur de P
	Oui	Non	
Garçon	3	10	0,002
Fille	0	7	

II.3 Age et consanguinité

Nos résultats ont démontré qu'il n'y a pas une relation significative entre l'âge et la consanguinité ($P > 0,05$) ; les patients issus de mariage consanguin ont pratiquement la même moyenne d'âge 7,83 ans que ceux issus de mariage non consanguin avec une moyenne d'âge de 7,50 ans.

Tableau. IV : Relation entre l'âge et la consanguinité des malades d'AF.

	Consanguinité parentale	N	Moyenne (ans)	Écart type	P
Age	Oui	18	7.83	3.222	0.944
	Non	2	7.50	3.536	

N; effectif

II.4 Consanguinité et évolution de la maladie

Selon le tableau V, l'odds ratio = 0,125 < 1. Cela signifie qu'il n'existe pas de relation entre le risque de mortalité et de la consanguinité.

Tableau.V: Relation entre la consanguinité et l'évolution de la maladie.

			Décés		Total	Odds ratio
			oui	non		
consanguinité parental	oui	Effectif	2	16	18	0,125
		% dans consanguinité parental	11,1%	88,9%	100,0%	
	non	Effectif	1	1	2	
		% dans consanguinité parental	50,0%	50,0%	100,0%	
Total		Effectif	3	17	20	
		% dans consanguinité parental	15,0%	85,0%	100,0%	

II.5 Age et sexe

Le tableau VI montre qu'il n'y a pas une différence significative entre l'âge et le sexe des patients P=0,516 ce qui est supérieur à 0,05. Les deux sexes ont presque la même moyenne d'âge avec 7.77 ans chez les garçons et 7.86 chez les filles.

Tableau.VI: Relation entre l'âge et le sexe des patients.

	sexe	N	Moyenne	Ecart type	P
Age	Garçon	13	7.77	2.976	0.516
	Fille	7	7.86	3.716	

N; effectif

III. Caryotype

Parmi les 20 patients 6 ont fait leurs caryotypes au niveau du CRBT les résultats sont présenté dans la figure suivante. Chaque caryotype appartient à un patient (les prélèvements étaient traités par la mytomycin C).

Dans ces 6 profils on a trouvé que :

- Tous les patients avaient des cassures chromosomiques.
- Les tétrades ont été retrouvées chez 5 patients.
- Seulement un patient présentait le chromosome en anneau.

Les résultats sont présentés dans les figures 23 et 24 ; les images proviennent de tests de fragilité chromosomique par MMC des patients effectué au niveau du CRBt.

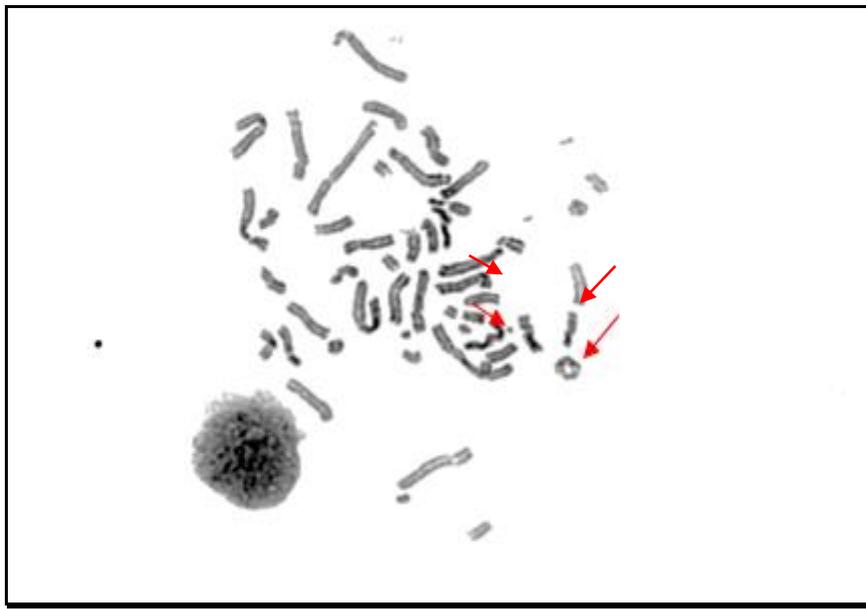


Figure.23 : Observation microscopique du caryotype d'un patient présentant des aberrations chromosomiques de types chromosome en anneau et des cassures chromosomiques.

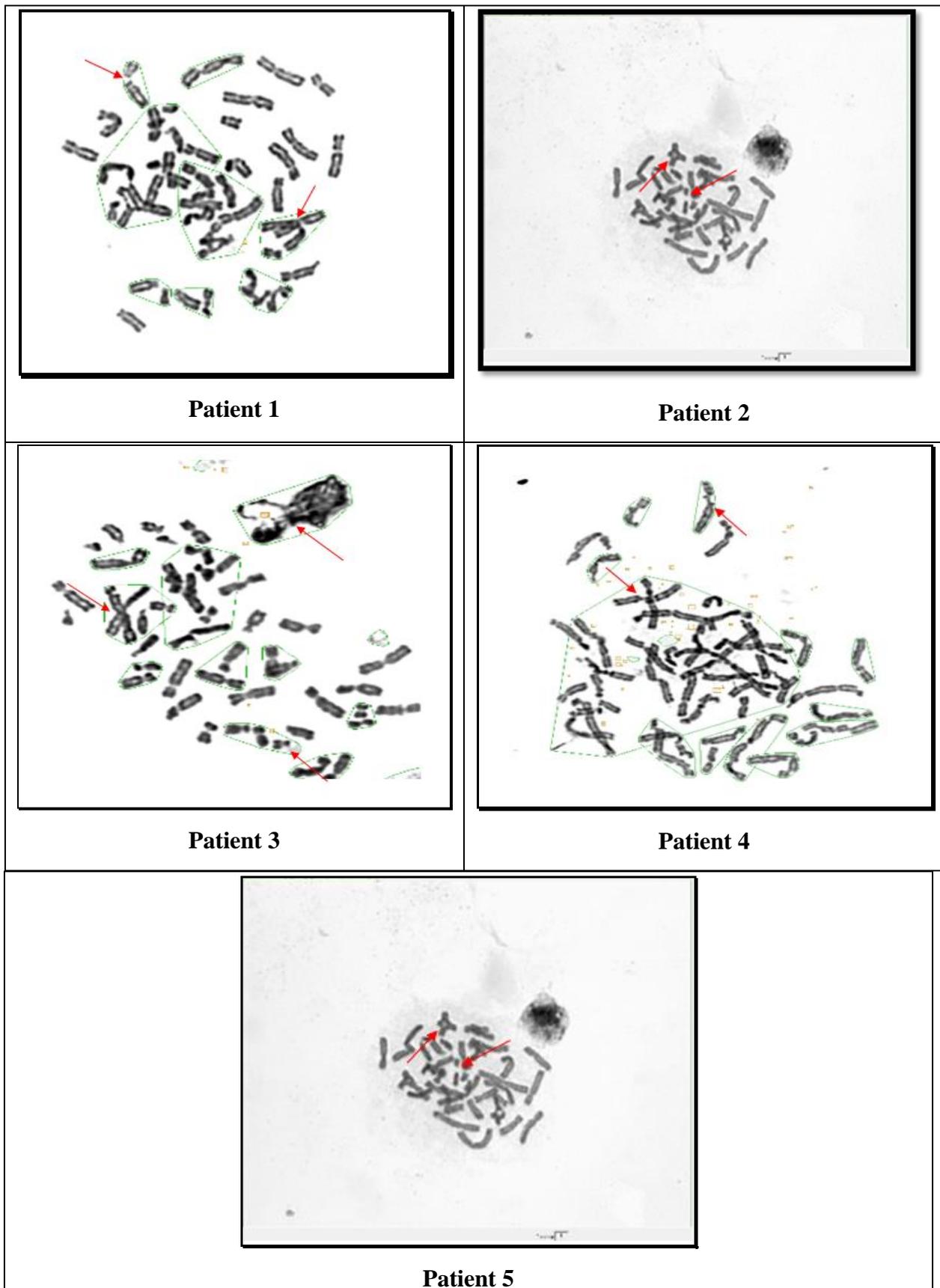


Figure.24 : Observations microscopiques du caryotype des patients présentant des cassures chromosomiques et des tétrades.

Chapitre IV

Discussion

Discussion

L'anémie de Fanconi est une maladie génétique récessive rare. Elle est caractérisée généralement par myélosuppression progressive associée à des malformations congénitales et un risque élevé de malignité elle est aussi caractérisée par une grande hétérogénéité clinique et phénotypique ; elle touche toutes les populations mais on la trouve d'une fréquence plus élevée chez les populations d'origine ashkénaze juive, les Hispaniques et les Afrikaners d'Afrique du Sud (Fuzier et al.,2015 ; Orphanet,2020).

Les objectifs de ce travail étaient de décrire le profil clinique chez une population de patients de l'Est Algérien et de montrer l'intérêt de l'analyse cytogénétique par dans le diagnostic de certitude de l'anémie de Fanconi.

Cette étude a été menée auprès de 20 patients présentant une anémie de Fanconi confirmée par une analyse cytogénétique de leurs caryotypes.

Au sein de notre population il y a une prédominance masculine 65% par rapport à 35% de filles ce qui donne un sexe ratio (M/F) égal à 1.86. Ce résultat est similaire aux études menées au Pakistan par Siddiqui et al., (2020) dont ils ont trouvé un pourcentage 61,5% de sexe masculin et 38,5% de filles et au Bengale occidental par Dutta et al., (2018) qui ont trouvé un pourcentage de 73.1% de sexe masculin et 26.98% du sexe féminin. En revanche Bouguenouche et al., (2017) ont trouvé une répartition équitable des sexes dans la population Marocaine. D'autres ont trouvé une prédominance féminine comme Borges et al., (2023) qui ont trouvé un pourcentage de 56.25% de sexe féminin dans la population Brésilienne. Il y a une légère prédilection des hommes plus que des femmes, mais globalement, 99 % des cas sont égaux dans les deux sexes. Dans notre étude on a trouvé une relation hautement significative entre le sexe et l'évolution de la maladie ($P=0.002$) et on a trouvé que les garçons évoluent la maladie plus rapidement que les filles, ce ci peut s'expliquer par le facteur génétique de la maladie au sein de la famille de la maladie. (Chowdhri et al.,2014)

Les patients inclus dans notre étude qui étaient d'un âge pédiatrique dont sa moyenne était de 7.80 ± 3.15 ans. Cette moyenne d'âge était proche de l'âge moyen à celle trouvée par Bouguenouche et al., (2017) au Maroc (7,2 ans) et de celle du Brésil qui a été retrouvée aux environs de 8 ans par Borges et al., (2023). Mais la moyenne d'âge de nos patients était plus élevée par rapport à celle retrouvée au Bengale occidental par Dutta et al., (2018) qui était 6 ans et elle est inférieure à la moyenne retrouvée par Siddiqui et al., (2020) qui était 10.6 ans au Pakistan. Il est conclu à partir de différentes études que l'âge moyen du diagnostic de l'AF est

de 7 ans. Elle est retardée jusqu'au moment où l'insuffisance médullaire s'installe. Cependant, le diagnostic prénatal conduit à un diagnostic précoce de la maladie, ce qui prévient d'avantages les complications grave (Bhandari et al., 2022). Ainsi on a retrouvé une relation hautement significative entre l'âge et la durée de l'AM avec un $P=0.000$; donc les patients AF développent une aplasie médullaire qui s'aggrave avec le temps.

Nous avons trouvé dans notre étude un pourcentage assez important de consanguinité 90% (soit 18 sur 20 cas) ; ce dernier est proche du pourcentage de consanguinité qui a été rapportée chez 93% des patients arabes du Moyen-Orient par Steinberg-Shemer et al., (2020) et en Tunisie par Talmoudi et al., (2013) et proche de celui retrouvé par Siddiqui et al., (2020) au Pakistan 94.2%. D'autre part ce pourcentage est supérieure de celui retrouvé en Tunisie par Hadiji Mseddi et al., (2012) qui était 86% et de Dutta et al., (2018) à Bengladesh qui était 66.66% et de l'étude en Inde réalisé par Korgaonkar et al., (2010) qui été 34.4%. Il semble que la consanguinité soit un facteur important dans la prédisposition à la maladie et qu'elle puisse augmenter sa prévalence dans la population. (Borges et al., 2023). Une étude menée en Jordanie a rapporté que le taux élevé de consanguinité parentale semble entraîner une augmentation de 32 % de la proportion de troubles autosomiques récessifs (Siddiqui et al., 2020)

Tous nos patients ont une aplasie médullaire accompagnée des caractéristiques cliniques qui varient d'un patient à l'autre : la neutropénie a été retrouvé chez 35% de notre population d'étude. Ce pourcentage est plus élevé à celui retrouvé dans la population marocaine à Rabat par Doubaj et al., (2021) 22% patients, par contre il était inférieure au pourcentage déjà trouvé dans l'étude de Bouguenouche et al., (2017) qui était 66,7% à Fès.

La microcéphalie été observer chez 40% des patients qui est un pourcentage plus élevé à celui retrouvé en Brésil par Moreno et al., (2021) qui était 27.28%. D'autre part ce pourcentage est inférieur à 60% retrouvé par Bouguenouche et al., (2017) au Maroc, et inférieur à 71% retrouvé par Hadiji Mseddi et al., (2012) en Tunisie.

Les anomalies des pouces ont été retrouvées chez 35% de nos patients ; qui est supérieure à celui de Chowdhry et al. (2014) en Inde qui était 1.07%, et inférieure aux pourcentage trouvé dans les études antérieures comme celui de Doubaj et al., (2021) au Maroc qui était 40% et Bouguenouche et al., (2017) 50% et Borges et al., (2023) 60% retrouvé en Brésil.

Les tache café au lait ainsi ont été retrouvé chez (25%) qui est un pourcentage supérieure à celui de l'étude indienne par Chowdhry et al. (2014) qui a été retrouvé 7.06%. Cependant ce pourcentage est inférieur à celui retrouvé par Zen et al. (2011) trouvé en sud de brésil qui était 43 % ; et de Steinberg-Shemer et al., (2020) qui était 52.3% au Moyen-Orient et celui de Boreges et al., (2023) en Brésil dont ils ont trouvé 62,5% des patients et de Dutta et al., (2018) qui ont trouvé 75% à Bengladesh.

Les anomalies rénales dans notre échantillon été observé chez 25% des patients qui est semblable à celui retrouvé à Bengladesh par Dutta et al., (2018) 28% et supérieure à 2.47% retrouvé par Chowdhry et al. (2014) en Inde. Cependant il est inférieure à 34% retrouvé en Italie par Risitano et al., (2016), et du pourcentage 39.6% retrouvé par Steinberg-Shemer et al., (2020).

Le syndrome myélodysplasique 25% de nos cas qui est proche du pourcentage retrouvé par Steinberg-Shemer et al., (2020) (30%). Ce pourcentage est supérieure à et 12.3% retrouvé par Farkas et al., (2023) ; mais inférieur à celui de Borges et al., (2023) qui était 80% .

Le retard staturopondéral a été observé chez 60% des cas, ce pourcentage est proche de 57% trouvé par Steinberg-Shemer et al., (2020) suit à son étude réalisé sur les arabes et les juifs. Notre pourcentage est plus élevé que 28% retrouvé en Brésil par Moreno et al., (2021) et 50% retrouvé en Brésil dans Pernambuco par Borges et al., (2023). En Tunisie Hadiji Mseddi et al., (2012) ont trouvé un pourcentage plus élevé que le notre estimé à 71%. Plus de 60 % des personnes atteintes d'AF peuvent présenter une petite taille à cause d'un déficit en hormone de croissance, d'une hypothyroïdie ou d'anomalies du glucose ou de l'insuline en raison des anomalies endocrinologiques (Moreno et al., 2021).

En ce qui concerne les antécédents médicaux, nous avons trouvé que les plus en commun sont les infections répétée remarqué chez 60% de patients qui est un pourcentage plus élevé de celle retrouvé par Zen et al., (2011) (42%) en Brésil, ces infections fréquentes sont dues à la cytopénie qui était aussi un antécédent fréquent qui se manifestait chez 50% de notre population d'étude. Les cytopénies apparaissent en moyenne vers l'âge de 7 ans et plus de 90 % des patients l'évoluent vers une aplasie médullaire avant l'âge de 20 ans (Leblanc et Soulier. 2009) cette cytopénie se traduit par un faible nombre de globules blancs (neutropénie) et problèmes de coagulation dus à un faible nombre de plaquettes (thrombocytopenie) qui cause les infections récurrentes (MedlinePlus.2012).

L'évolution de la maladie n'était pas trop rapide selon le taux de mortalité dans notre population qui était bas (15%) par rapport à 60% de mortalité dévoilé par Chowdhry et al.,

(2014) en Inde et 48% ont été reporté par Risitano et al., (2016) en Italie. L'anémie de Fanconi peut entraîner des complications grave, notamment des infections, AM et des cancers ; s'ils ne sont pas traités l'AF peut devenir mortelle.

Parmi les 20 patient 6 ont fait leurs caryotypes au niveau du CRBt ; par un test de cytogénétique avec MMC qui a donné les 6 profils qui représentent l'instabilité chromosomique dans notre cohorte.

Dans notre étude les cassures chromosomiques ont été observées chez les 6 patients de l'étude, 5 sur 6 cas ont présenté des tétrades chromosomiques associés aux cassures. Ces résultats sont similaire à l'étude réalisé en Inde par Korgaonkar et al., (2010) ou ils ont trouvé des cassures de chromatides ainsi que des tétrades chromosomique et c'est similaire aussi à celle du Brésil réalisé par Moreno et al., (2021) et de celui de Doubaj et al., (2021) au Maroc qui ont trouvé les mêmes aberrations. Un seul cas sur 6 patients de l'étude avait un chromosome en anneau, ce résultats est similaire à celui retrouvé par Moreno et al., (2021) au Brésil ou ils ont trouvé un chromosome en anneau. Ces événements peuvent être expliqués par la fragilité télomérique. On peut considérer les cassures Chromosomiques comme une caractéristique clé des malades de l'AF car leurs cellules ont souvent des taux de cassures chromosomiques plus élevés que les cellules normales (Auerbach, 2009). D'autres anomalies chromosomiques ont été rapportées comme c'est le cas dans une étude Tunisienne ou le caryotype des patients atteints de l'AF a permis de conforter le diagnostic de transformation de la maladie en leucémie aigue, en montrant des anomalies caractéristiques comme l'inversion pericentrique du chromosome 7 et hyperploidie (M Frikha et al., 2015).

Plusieurs causes de dysfonctionnement des télomères dans l'AF ont été proposées, telles que des ruptures spontanées de la séquence des télomères, un raccourcissement résultant de la réplication, des ruptures cumulatives dérivées d'une réparation anormale de l'ADN et des réponses compromises au stress oxydatif (Merfort et al., 2022).

L'investigation des cassures chromosomiques est essentielle chez les patients atteints d'AF pour une meilleure prise en charge de la maladie ; plus il existe des aberrations chromosomiques plus le risque de malignité augmente à cause des remaniements génétique causé par ces aberrations. Donc il s'impose l'importance de diagnostic précoce de la maladie afin d'augmenter l'espérance de vie (Korgaonkar et al., 2010).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

L'anémie de Fanconi (AF) est une maladie hématologique héréditaire rare due à un défaut de la voie de réparation de l'ADN entraînant des anomalies congénitales et une forte susceptibilité à développer des cancers.

Les objectifs de ce travail étaient de décrire le profil clinique des patients atteints de l'anémie de Fanconi et de montrer l'intérêt de l'analyse cytogénétique par l'observation de nombre de cassures chromosomiques spontanées dans le diagnostic de certitude de l'anémie de Fanconi chez des patients de l'Est Algérien.

Nous avons pu répondre à nos objectifs en décrivant le profil clinique de nos patients et en soulignant l'importance des études cytogénétiques chez ces patients, visant à l'identification précoce d'éventuels signes d'aggravation ou de progression de la maladie vers un SMD ou un cancer.

Dans notre cohorte une prédominance masculine a été observée avec un pourcentage de 65%. Cela peut être due aux facteurs de risque génétique (transmission liée à l'X lors de la mutation du gène FANCB), tout cela peut être due à une prédominance masculine existante dans l'Est Algérien. L'âge moyen était d'environ 7.80 ± 3.15 ans, car l'âge moyen de l'apparition de l'insuffisance médullaire est autour de 7.5 ans et 8 ans. Les signes de la maladie les plus fréquents étaient le visage triangulaire (45%), la microcéphalie (40%), les anomalies du pouce (35%), la neutropénie (35%), et le syndrome tumoral (35%). La moyenne de la durée de l'AM était estimée à 2.8 ans.

Ainsi on a trouvé une différence hautement significative entre l'âge et la durée de l'AM ($P \leq 0.001$) et entre le sexe et l'évolution de la maladie ($P \leq 0.001$).

Sur les 6 cas qu'on a faits leurs caryotypes au niveau du CRBt les 6 patients ont des cassures chromosomiques 5 patients ont des tétrades et un seul cas qui a le chromosome en anneau.

Le profil clinique et cytogénétique que nous avons trouvé nous semble proche de celui retrouvé dans les pays ayant entamé une étude clinique et cytogénétique de l'AF, probablement à cause de la similarité des manifestations cliniques associées à l'AF causées par les aberrations des gènes 22 FANC connus.

Dans l'AF, La transmission de mutations génétiques pour les maladies est l'une des plus grandes craintes des parents. La prévention de l'hérédité d'un trouble aussi dévastateur est un grand défi. Le diagnostic tardif de l'anémie de Fanconi est une menace sérieuse pour les patients et leurs familles. Les couples à haut risque doivent bénéficier d'un conseil génétique approprié car le risque de récurrence de l'anémie de Fanconi est de 25 %. Un diagnostic précoce avec une prise en charge appropriée peut aider les familles concernées à trouver un donneur compatible pour une greffe de moelle osseuse. Il est nécessaire de faire prendre conscience de ces problèmes négligés afin d'éviter aux familles le fardeau social et les traumatismes mentaux (Siddiqui et al., 2020).

Il est important que d'autres études soient réalisées sur une cohorte nationale plus large de Fanconi et de pouvoir réaliser une étude moléculaire afin de retrouver le gène d'intérêt qui est responsable d'un phénotype dans notre population. Il sera également intéressant de pouvoir établir des corrélations entre le génotype et le phénotype des patients porteurs de la maladie.

Il est possible que des mutations spécifiques, par opposition au gène affecté ou au type de mutation, soient mieux corrélées avec le phénotype. Cependant, même pour une mutation spécifique, il existe une sévérité phénotypique variable entre les différentes ethnies et entre les frères et sœurs, même les jumeaux, suggérant un rôle pour les modificateurs génétiques ou épigénétiques et/ou les facteurs environnementaux.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Auerbach, Arleen D. 2009.** « Fanconi Anemia and Its Diagnosis ». *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 668 (1-2): 4-10.
2. **Bachy, Emmanuel, Jean Lemoine, et Roch Houot. 2021.** *Hématologie: hématologie adulte et pédiatrique, onco-hématologie. 9e éd. ECNI, les référentiels. Paris: Ellipses.*
3. **Ben Haj Ali, Abir, Ahlem Amouri, Marwa Sayeb, Saloua Makni, Wajih Hammami, Chokri Naouali, Hamza Dallali, et al. 2019.** « Cytogenetic and Molecular Diagnosis of Fanconi Anemia Revealed Two Hidden Phenotypes: Disorder of Sex Development and Cerebro-oculo-facio-skeletal Syndrome ». *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 7 (7).
4. **Ben Haj Ali, Abir, Olfa Messaoud, Sahar Elouej, Faten Talmoudi, Wiem Ayed, Fethi Mellouli, Monia Ouederni, et al. 2021.** « FANCA Gene Mutations in North African Fanconi Anemia Patients ». *Frontiers in Genetics* 12.
5. **Bhandari, Jenish, Pawan K. Thada, et Yana Puckett. 2022.** « Fanconi Anemia ». *StatPearls - NCBI Bookshelf.*
6. **Borges, Maria Luiza Rocha da Rosa, João Lucas Cruz Souza, Luiz Henrique Rodrigues, Maria Teresa Marquim Nogueira Cornélio, Ana Claudia dos Anjos, Neide Santos, et Terezinha de Jesus Marques Salles. 2023.** « Clinical and Cytogenetic Profile of Fanconi Anemia Diagnosed after Implementation of Mitomycin C Cytogenetic Test in the State of Pernambuco, Brazil ». *Hematology, Transfusion and Cell Therapy.*
7. **Bouguenouch, Laila, Imane Samri, Meryem Abbassi, Hasna Hamdaoui, Ihssane El Otmani, Hanane Sayel, Said Trhanint, et al. 2017.** « Anémie de Fanconi Au CHU Hassan II Fès: À Propos de 6 Observations ». *Pan African Medical Journal* 28.
8. **Bueren, Juan A., Susana Navarro, Wei Wang, Rebeca Sanchez-Dominguez, Eva Merino, Jose C Segovia, Anne Galy, et al. 2018.** « Advances in the Gene Therapy of Patients with Fanconi Anemia ». *Blood* 132 (Supplement 1): 1022-1022.
9. **Ceccaldi, Raphael, Prabha Sarangi, et Alan D. D'Andrea. 2016.** « The Fanconi Anaemia Pathway: New Players and New Functions ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 17 (6): 337-49.
10. **Chaudhury, Indrajit, Archana Sareen, Maya Raghunandan, et Alexandra Sobeck. 2013.** « FANCD2 Regulates BLM Complex Functions Independently of FANCI to Promote Replication Fork Recovery ». *Nucleic Acids Research* 41 (13): 6444-59.
11. **Che, Raymond, Jun Zhang, Manoj Nepal, Bing Han, et Peiwen Fei. 2018.** « Multifaceted Fanconi Anemia Signaling ». *Trends in Genetics* 34 (3): 171-83.
12. **Chowdhry, Mohit, Raj Nath Makroo, Priyanka Srivastava, Manoj Kumar, Sonika Sharma, Preeti Bhadauria, et Amita Mahajan. 2014.** « Clinicohematological Correlation and Chromosomal Breakage Analysis in Suspected Fanconi Anemia Patients of India ». *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology* 35 (01): 21-25.
13. **Dan, Chenchen, Hongjing Pei, Buzhe Zhang, Xuan Zheng, Dongmei Ran, et Changzheng Du. 2021.** « Fanconi Anemia Pathway and Its Relationship with Cancer ». *Genome Instability & Disease* 2 (3): 175-83.

14. **Datta, Arindam, et Robert M. Brosh Jr. 2019.** « Holding All the Cards—How Fanconi Anemia Proteins Deal with Replication Stress and Preserve Genomic Stability ». *Genes* 10 (2): 170.
15. **Dimassi, S., M. Tilla, et D. Sanlaville. 2017.** « Anomalies chromosomiques ». *Journal de Pédiatrie et de Puériculture* 30 (5-6): 249-70.
16. **Doubaj, Yassamine, Abdelali Zrhidri, Siham Chafai Elalaoui, Jaber Lyahyai, Youssef El Kadiri, Nadia Elkassimi, Aziza Sbiti, Maria El Kababri, Hessissen Laila, et Abdelaziz Sefiani. 2021.** « Clinical, Cytogenetic and Molecular Findings in Nine Moroccan Patients with Fanconi Anemia ». *Pan African Medical Journal* 39.
17. **Dufour, Carlo, et Filomena Pierri. 2022.** « Modern Management of Fanconi Anemia ». *Hematology* 2022 (1): 649-57.
18. **Dutta, Atreyee, Rajib De, Tuphan Kanti Dolai, Pritha Pal, Shanoli Ghosh, Pradip Kumar Mitra, et Ajanta Halder. 2018.** « Incidence of Fanconi Anaemia in Phenotypically Normal Aplastic Anaemia Patients in West Bengal ». *Hematology* 23 (7): 405-12.
19. **Ebens, Christen L., Margaret L. MacMillan, et John E. Wagner. 2017.** « Hematopoietic cell transplantation in Fanconi anemia: current evidence, challenges and recommendations ». *Expert Review of Hematology* 10 (1): 81-97.
20. **Farkas, Gyöngyi, Gábor Székely, Veronika Goda, Krisztián M. Kállay, Zsuzsa S. Kocsis, Katalin Szakszon, Gábor Benyó, et al. 2023.** « Chromosomal Breakage Tests in the Differential Diagnosis of Fanconi Anemia and Aplastic Anemia ». *European Journal of Haematology*, mai, ejh.13990.
21. **Hadiji Mseddi, S., L. Kammoun, H. Bellaaj, Y. Ben Youssef, L. Aissaoui, L. Torjemane, F. Telmoudi, et al. 2012.** « Création et rapport du registre tunisien de l'anémie de Fanconi (TFAR) ». *Archives de Pédiatrie* 19 (5): 467-75.
22. **Halfon-Domenech, Carine. 2017.** « Origine embryonnaire des manifestations hématologiques de l'Anémie de Fanconi ». Thèse de doctorat de Biologie cellulaire et biologie de développement. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.
23. **Kim, Sunshin, Soo Kyung Hwang, Mihee Lee, Heejin Kwak, Kook Son, Jiha Yang, Sung Hak Kim, et Chang-Hun Lee. 2013.** « Fanconi Anemia Complementation Group A (FANCA) Localizes to Centrosomes and Functions in the Maintenance of Centrosome Integrity ». *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 45 (9): 1953-61.
24. **Korgaonkar, Seema, Kanjaksha Ghosh, et Babu Rao Vundinti. 2010.** « Clinical, Genetic and Cytogenetic Study of Fanconi Anemia in an Indian Population ». *Hematology* 15 (1): 58-62.
25. **Lobitz, Stephan, et Eunike Velleuer. 2006.** « Guido Fanconi (1892–1979): A Jack of All Trades ». *Nature Reviews Cancer* 6 (11): 893-98.
26. **Magron, Audrey. 2015.** « Implication de la voie de signalisation de Fanconi dans la régulation du cycle cellulaire via stathmine, un nouveau partenaire de FANCC ». Thèse de doctorat en biologie cellulaire et moléculaire. Université Laval.

27. **Manus, Jean-Marie. 2020.** « Anémie de Fanconi : vecteurs viraux pour essai de thérapie génique ». *Revue Francophone des Laboratoires* 2020 (518): 10.
28. **Merfort, Lismeri Wuicik, Mateus de Oliveira Lisboa, Luciane Regina Cavalli, et Carmem Maria Sales Bonfim. 2022.** « Cytogenetics in Fanconi Anemia: The Importance of Follow-Up and the Search for New Biomarkers of Genomic Instability ». *International Journal of Molecular Sciences* 23 (22): 14119.
29. **Milletti, Giacomo, Luisa Strocchio, Daria Pagliara, Katia Girardi, Roberto Carta, Angela Mastronuzzi, Franco Locatelli, et Francesca Nazio. 2020.** « Canonical and Noncanonical Roles of Fanconi Anemia Proteins: Implications in Cancer Predisposition ». *Cancers* 12 (9): 2684.
30. **Monachon, Céline. 2016.** « L'anémie de Fanconi en odontologie: revue de la littérature ». Thèse de doctorat en chirurgie dentaire. Université d'Auvergne Clermont-Ferrand I.
31. **Moreno, Olga María, Angela Camila Paredes, Fernando Suarez-Obando, et Adriana Rojas. 2021.** « An Update on Fanconi Anemia: Clinical, Cytogenetic and Molecular Approaches (Review) ». *Biomedical Reports* 15 (3): 74.
32. **Mori, Minako, Asuka Hira, Kenichi Yoshida, Hideki Muramatsu, Yusuke Okuno, Yuichi Shiraishi, Michiko Anmae, et al. 2019.** « Pathogenic Mutations Identified by a Multimodality Approach in 117 Japanese Fanconi Anemia Patients ». *Haematologica* 104 (10): 1962-73.
33. **Nakanishi, Akira, Xiangzi Han, Hiroko Saito, Keiko Taguchi, Yoshiyasu Ohta, Shinobu Imajoh-Ohmi, et Yoshio Miki. 2007.** « Interference with BRCA2, Which Localizes to the Centrosome during S and Early M Phase, Leads to Abnormal Nuclear Division ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 355 (1): 34-40.
34. **Nalepa, Grzegorz, et D. Wade Clapp. 2018.** « Fanconi Anaemia and Cancer: An Intricate Relationship ». *Nature Reviews Cancer* 18 (3): 168-85.
35. **Nalepa, Grzegorz, Rikki Enzor, Zejin Sun, Christophe Marchal, Su-Jung Park, Yanzhu Yang, Laura Tedeschi, Stephanie Kelich, Helmut Hanenberg, et D. Wade Clapp. 2013.** « Fanconi Anemia Signaling Network Regulates the Spindle Assembly Checkpoint ». *Journal of Clinical Investigation* 123 (9): 3839-47.
36. **Niedernhofer, Laura J., Astrid S. Lalai, et Jan H.J. Hoeijmakers. 2005.** « Fanconi Anemia (Cross)Linked to DNA Repair ». *Cell* 123 (7): 1191-98.
37. **Niraj, Joshi, Anniina Färkkilä, et Alan D. D'Andrea. 2019.** « The Fanconi Anemia Pathway in Cancer ». *Annual Review of Cancer Biology* 3 (1): 457-78.
38. **Oppezzo, Alessia. 2021.** « Caractérisation Cellulaire et Moléculaire des Anomalies Des Cellules Souches Hématopoïétiques et de Leur Niche Dans l'anémie de Fanconi ». Thèse de doctorat en médecine. Faculté de médecine de Paris. Thèse ° 582.
39. **Parikh, Shefali, et Monica Bessler. 2012.** « Recent Insights into Inherited Bone Marrow Failure Syndromes ». *Current Opinion in Pediatrics* 24 (1): 23-32.

40. **Petryk, Anna, Roopa Kanakatti Shankar, Neelam Giri, Anthony N. Hollenberg, Meilan M. Rutter, Brandon Nathan, Maya Lodish, Blanche P. Alter, Constantine A. Stratakis, et Susan R. Rose. 2015.** « Endocrine Disorders in Fanconi Anemia: Recommendations for Screening and Treatment ». *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 100 (3): 803-11.
41. **Rageul, Julie, et Hyungjin Kim. 2020.** « Fanconi Anemia and the Underlying Causes of Genomic Instability ». *Environmental and Molecular Mutagenesis* 61 (7): 693-708.
42. **Risitano, Antonio M., Serena Marotta, Rita Calzone, Francesco Grimaldi, Adriana Zatterale, et RIAF Contributors. 2016.** « Twenty Years of the Italian Fanconi Anemia Registry: Where We Stand and What Remains to Be Learned ». *Haematologica* 101 (3): 319-27.
43. **Saintigny, Yannick, Pascale Bertrand, et Bernard S. Lopez. 2005.** « Rôle direct de p53 dans la recombinaison homologue ». *médecine/sciences* 21 (1): 43-48.
44. **Schindler, Detlev, et Holger Hoehn, éd. 2007.** *Fanconi anemia: a paradigmatic disease for the understanding of cancer and aging. Monographs in human genetics, v. 15.* Basel ; New York: Karger.
45. **Sharma, Preksha, Neha Sharma, et Dhruva Sharma. 2022.** « A Narrative Review on Fanconi Anemia: Genetic and Diagnostic Considerations ». *Global Medical Genetics* 09 (03): 237-41.
46. **Siddiqui, Fakeha, Saqib Ansari, Akbar Agha, Nadeem Nusrat, Saima Munzir, Saira Shan, Anny Hanifa, et al. 2020.** « Chromosomal Breakage in Fanconi Anemia and Consanguineous Marriages: A Social Dilemma for Developing Countries ». *Cureus*, septembre.
47. **Steinberg-Shemer, Orna, Tracie A. Goldberg, Joanne Yacobovich, Carina Levin, Ariel Koren, Shoshana Revel-Vilk, Tal Ben-Ami, et al. 2020.** « Characterization and Genotype-Phenotype Correlation of Patients with Fanconi Anemia in a Multi-Ethnic Population ». *Haematologica* 105 (7): 1825-34.
48. **Stone, Michael P., Young-Jin Cho, Hai Huang, Hye-Young Kim, Ivan D. Kozekov, Albena Kozekova, Hao Wang, et al. 2008.** « Interstrand DNA Cross-Links Induced by α,β -Unsaturated Aldehydes Derived from Lipid Peroxidation and Environmental Sources ». *Accounts of Chemical Research* 41 (7): 793-804.
49. **Takaoka, Miho, Hiroko Saito, Katsuya Takenaka, Yoshio Miki, et Akira Nakanishi. 2014.** « BRCA2 Phosphorylated by PLK1 Moves to the Midbody to Regulate Cytokinesis Mediated by Nonmuscle Myosin IIC ». *Cancer Research* 74 (5): 1518-28.
50. **Talmoudi, Faten, Olfa Kilani, Wiem Ayed, Nizar Ben Halim, Fethi Mellouli, Lamia Torjmane, Lamia Aissaoui, et al. 2013.** « Differentiation of Fanconi Anemia and Aplastic Anemia Using Mitomycin C Test in Tunisia ». *Comptes Rendus Biologies* 336 (1): 29-33.
51. **Wang, Lily C, et Jean Gautier. 2010.** « The Fanconi Anemia Pathway and ICL Repair: Implications for Cancer Therapy ». *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 45 (5): 424-39.

52. **Zen, Paulo Ricardo G, Felipe Nora De Moraes, Rafael Fabiano M Rosa, Carla Graziadio, et Giorgio Adriano Paskulin. 2011.** « Características clínicas de pacientes com anemia de Fanconi ». Revista Paulista de Pediatria 29 (3): 392-99.

Webographie:

1. AFM Téléthon,(2019) Transmission génétique autosomique dominante. Disponible sur le site :<https://www.afm-telethon.fr/fr/vivre-avec-la-maladie/je-m-informe-sur-les-maladies/comprendre-les-maladies-genetiques/transmission>. (Consulté le 1/05/2023).
2. AFMF (Association francophone des malades de Fanconi), (2019) la maladie de fanconi qu'est ce que c'est? Disponible sur le site : <https://www.fanconi.com/la-maladie-de-fanconi/quest-ce-que-cest/>. (Consulté le 23/03/2023)
3. Cincinnati children's, (2021). Fanconi anemia, symptoms, diagnosis, and treatment. Disponible sur le site: <https://www.cincinnatichildrens.org/health/f/fanconi-anemia> (Consulté le 27/04/2023).
4. Fanconi Anemia Research Fund, (2020) Gene therapy Disponible sur le site: <https://www.fanconi.org/explore/gene-therapy>. (Consulté le 03/05/2013).
5. NORD, (2020) Fanconi Anemia - Symptoms, Causes, Treatment. Disponible sur le site: <https://rarediseases.org/rare-diseases/fanconi-anemia/>. (Consulté le 12/03/2023).
6. MedlinePlus Genetics, (2012) Fanconi Anemia. Disponible sur le site: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/fanconi-anemia/>. (Consulté le 4/05/2023).
7. Orphanet, (2020). Maladie de Fanconi. Disponible sur le site https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=84&lng=FR. (Consulté le 4/03/2023).

Etude clinique et cytogénétique de l'anémie de Fanconi**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Physiologie cellulaire et physiopathologie**

Contexte et objectif : L'anémie de Fanconi (AF) est une maladie très rare caractérisée par une insuffisance médullaire, des malformations congénitales et prédisposition au cancer. La fragilité chromosomique induite par des agents induisant la réticulation interbrin (ICL) de l'ADN tels que DEB ou MMC est le test de référence pour le diagnostic de l'AF. Les objectifs de ce travail étaient de décrire le profil clinique des patients atteints de l'anémie de Fanconi et de montrer l'intérêt de l'analyse cytogénétique par l'observation de nombre de cassures chromosomiques spontanées dans le diagnostic de certitude de l'anémie de Fanconi chez des patients de l'Est Algérien.

Méthodes : Vingt patients de l'Est algérien souffrant d'AF ont été inclus dans cette étude dont 6 patients ont été recrutés au laboratoire de diagnostic génétique au Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBt) ou ils ont subi une analyse cytogénétique ; leurs échantillons de sang total ont été testés par les tests de rupture chromosomique avec MMC.

Résultats : Tout les patients atteints de l'anémie de Fanconi présentaient cliniquement un une aplasie médullaire avec une moyenne d'âge de 7.80 ans \pm 3.15. La prépondérance masculine s'est avérée plus élevée (65%) par rapport aux femmes (35%). La consanguinité parentale a été observée chez 18 patients AF (90%). Les signes cliniques sont apparus dans des proportions variables ; le visage triangulaire (45%), la microcéphalie (40%), neutropénie le syndrome tumoral et les anomalies du pouce (35%), les taches café au lait et le rein fer à cheval (25%), oreilles décollé et thrombopénie (15%) et la pancytopénie (5%). Les patients recrutés avaient des antécédents médicaux divers dont les plus en communs ce sont les infections répétés (60%) et la cytopénie (50%). Le taux de mortalité dans cette étude est estimé de 15%. Nos résultats montrés une relation hautement significative entre l'âge et la durée de l'aplasie médullaire et entre le sexe et l'évolution de la maladie ($P < 0.005$).

L'étude cytogénétique a révélée chez 6 patients taux élevé d'aberrations chromosomiques (cassures chromosomique 6 patients, des tétrades 5 patients, et un chromosome en anneau 1 patient).

Conclusion : Cette étude illustre l'utilité des tests cytogénétiques pour le diagnostic des patients AF ainsi que l'importance de l'évaluation clinique détaillé dans la reconnaissance précoce de l'AF afin d'avoir une meilleure prise en charge et augmenter leur chance de vie.

Mots-clefs Anémie de Fanconi, Mitomycine C, Cytogénétique, Est Algérien.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de cytogénétique. (Centre de recherche en biotechnologie CRBt).

Présidente : ROUABAH. L (Professeur-UFM Constantine 1).

Encadrante 1: DALICHAUCHE. I (MCB –UFM Constantine 1).

Encadrante 2 : SELLAM. F (MCB - Centre de Recherche National en Biotechnologie).

Examinatrice : DAHMANI Dahbia Ines (MCA - UFM Constantine 1).