



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Aspects cliniques et génétiques de
l'achondroplasie et l'hypochondroplasie au CHU
HASSAN II- FES**

Présenté par : TAHA MAROUANE

Encadré par : Pr GUISSI SANAE (FST Fès)

: Dr ABBASSI MERIAME (Lab. Central CHU-Fès)

Soutenu le : 5 JUILLET 2022

Devant le jury composé de :

- **Pr GUISSI SANAE**
- **Dr ABBASSI MERIAME**
- **Pr TLEMCANI RACHIDA**

Stage effectué au laboratoire central d'analyses médicales CHU-FES

Année universitaire 2021-2022



Dédicaces

A ma chère Mère

Mme ACHAHBAR Saida

A la plus tendre, la plus douce, la plus belle de toutes les mamans.

*Je ne trouverai jamais les mots pour décrire l'immense amour que je te
porte ni la profonde gratitude que j'éprouve envers toi.*

*Tes encouragements, tes conseils, ta confiance en moi depuis que tu m'as
mis au monde sont la torche qui illumine les sombres jours.*

*Ta force, ta détermination, ton courage m'ont toujours inspiré et sont les
piliers de mes principes .*

*Tu étais toujours à mes côtés, à donner sans compter, à sacrifier le tout
pour mon bien-être et mon éducation.*

*Je t'aime. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserve
et t'accorder santé, longue vie et bonheur ...*

A mon cher Père

Mr TAHA Mohamed

*A mon idole dans cette vie. Mon immense respect pour toi s'intensifie jour
après jour.*

*Tes sacrifices le long de mon existence, ta bienveillance et ton soutien
indéfectible ont fait de moi l'homme que je suis aujourd'hui.*

*Tu m'as appris à être responsable, à être honnête, à ne jamais baisser les
bras, et à être juste.*

J'espère avoir répondu aux espoirs que tu as fondé en moi.

*Puisse ton existence pleine de sagesse, d'amour me servir d'exemple dans
ma vie.*

*Mon amour éternel et ma gratitude absolue pour toi ne pourront pas être
exprimés par tous les mots qui puissent exister.*

Que dieu, tout puissant, te garde, te procure santé, bonheur et longue vie

A mon grand frère

Mr TAHA Issam

A nos souvenirs d'enfance, à tous ce que j'ai appris grâce à toi, à ton soutien inconditionné.

Ta présence dans ma vie, et ta bienveillance m'ont permis d'avoir la certitude que j'ai quelqu'un à mes côtés sur lequel je peux compter.

Merci à toi grand frère et à ton épouse et je vous souhaite tout le bonheur, et le succès dans votre vie personnelle et professionnelle.

A ma grande sœur

Mme TAHA Hanane

A celle qui a excellé à plusieurs niveaux, tu étais depuis toujours la sœur parfaite, la deuxième maman du fait de ta tendresse et de tes conseils, et ma première amie qui m'entendait et à laquelle je peux tout confier.

Tu n'as jamais hésité à m'aider ou à me soutenir, pour cela tu as toute ma gratitude et mon amour. Ce travail est dédié à toi Sister et à ton mari LAAJEB Mohamed et je vous souhaite tout le bonheur, et le succès dans votre vie personnelle et professionnelle.

A ma petite sœur

Mlle TAHA Wiame

A nos moments pleins de joie et de rires, à nos blagues, à notre complicité,

à notre sarcasme, je dédie ce travail.

Je te souhaite tout le bonheur, et le succès dans ta votre vie personnelle et

professionnelle.

Tu mérites tout ce qu'il y a de meilleur.



Remerciements

A Mon Professeur

Madame GUISSI Sanae

Nous sommes infiniment sensibles à l'insigne honneur que vous nous avez fait en acceptant d'être notre encadrante de ce travail.

Votre sérieux, votre rigueur de travail, ainsi que votre dévouement professionnel sans limites et vos qualités humaines sont pour nous un objet d'admiration et un exemple dans l'exercice de la profession.

Veillez accepter, cher professeur, l'expression de notre reconnaissance et de notre profonde estime.

A Mon Docteur

Madame ABASSI Meriame

Merci pour la qualité de votre encadrement, pour votre grande disponibilité, et pour votre aide dans la réalisation de ce travail. J'ai eu la chance et le grand plaisir de travailler sous votre direction, j'ai trouvé auprès de vous la conseillère et le guide qui m'a reçu en toute circonstance avec sympathie. Votre sérieux et votre rigueur de travail, votre dévouement, sincérité et amour pour ce métier ; vos qualités humaines et professionnelles nous servent d'exemple. Veuillez accepter, chère Docteur, mes sincères remerciements avec toute la reconnaissance et l'appréciation que je vous témoigne.

Je saisis cette occasion aussi pour remercier tous mes chers professeurs de la License de Sciences Biologiques Appliquées et Santé (SBAS) à la Faculté des Sciences et Techniques Fès (FST), pour les efforts qu'ils n'ont cessé de ménager pour une meilleure formation. J'adresse mes sincères salutations à notre professeur Monsieur HALOUTI Said pour ses précieux conseils durant toute l'année.

Je souhaite également remercier Madame le professeur Tlemçani Rachida qui m'a fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

Ainsi, je congratulate tout le service pour avoir facilité mon intégration dans cette équipe jeune, dynamique et sympathique. Je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont concouru à rendre mon passage au centre agréable sans oublier Pr. BOUGENOUCH Laila, Professeur à la Faculté de Médecine et Pharmacie de Fès et Trhanint Said, pour leur aide précieuse dans mon initiation à la biologie moléculaire.

Je remercie tous les amis pour leur coopération. Je remercie également l'équipe de génétique et l'équipe pédiatrique du Centre Hospitalier Hassan II (CHU) pour leur collaboration et leur participation effective à cette recherche

Sommaire

Remerciments

Dédicace

Sommaire

Liste d'abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Etablissement de stage

Introduction.....1

Revue bibliographique.....2

Chapitre I :Etude bibliographique

I. Achondroplasie

1. Définition.....2
2. Caractéristiques d'une maladie autosomique dominante.....3
3. Epidémiologie3
4. Historique3
5. Génétique et Physiopathologie4
6. Diagnostic Clinique et Paraclinique4
 - a. Période prénatale5
 - b. Période Postnatale5
7. Diagnostic Radiologique.....7
8. Evolution et traitement de la malaide8

II. Hypochondroplasie

1. Introduction.....9
2. Epidémiologie9
3. Génétique et Physiopathologie9
4. Diagnostique clinique10
5. .Diagnostique radiologique11
6. Traitement11

Chapitre II : Matériel et Méthodes

A. Matériel.....	12
B. Techniques utilisées	12
C. La technique de PCR.....	14
D. Electrophorèse des produits de PCR	15
E. Séquençage d'ADN	15

Chapitre III : Résultats et Discussion

I. Résultats

A. Données épidémiologiques.....	18
1-1) La répartition des patients selon le sexe	18
• Patients achondroplasie	
• Patients hypochondroplasie	
1-2) La répartition des patients selon l'âge.....	19
• Patients achondroplasie	
• Patients hypochondroplasie	
B. Données cliniques et biologiques.....	20
• Patients achondroplasie	
• Patients hypochondroplasie	
C. Résultat moléculaire	21
• Patients achondroplasie	
• Patients hypochondroplasie	

II. Discussion

1. Donnée épidémiologique.....	27
--------------------------------	----

<u>Conclusion</u>	29
-------------------------	----

<u>Référence</u>	30
------------------------	----

Liste des abréviations

ACH	: Achondroplasie
ADN	: Acide désoxyribonucléique
DS	: Déviations Standards
GH	: Hormone de croissance
HCH	: Hypochondroplasie
MI	: Membres inférieurs
RS	: Retard statural
RX	: Radiographie

Liste des figures :

Figure 1	Illustration de la transmission autosomique dominante.
Figure 2	L'achondroplasie chez les civilisations et cultures antiques.
Image 3	Image montrant une hyperlordose étirée.
Image 4	Image montrant un patient a) avec genu varum et un patient b) brachydactylie .
Image 5	Radiographie (Rx) du crâne montrant une condensation de la voûte crânienne.
Image 6	Radiographie (Rx) des membres inférieurs et supérieurs montrant l'aspect trapu et l'élargissement métaphysaire du fémur et de l'humérus .
Image 7	Écart anormal entre les 3 ^e et 4 ^e doigts (main « en trident ») et brièveté des petits os tubulaires et doigts .
Image 8	Macrocrânie, saillie des bosses frontales et ensellure nasale. La base du crâne est difficile à analyser sur les radiographies.
Image 9	Aspect trapu du radius et de l'ulna.
Figure 10	Le spectre d'absorption caractéristique d'ADN pur.
Figure 11	Séquenceur Applied Biosystems (Laboratoire de génétique médicale-CHUF).
Figure 12	Répartition des patients achondroplasie en fonction du sexe.
Figure 13	Répartition des patients hypochondroplasie en fonction du sexe.
Figure 14	Répartition des patients achondroplasie en fonction de l'âge.
Figure 15	Répartition des patients hypochondroplasie en fonction de l'âge.
Figure 16	Profil de l'électrophorèse obtenu après PCR de l'exon 11 pour quelques patients d'achondroplasie .
Figure 17	Chromatogramme de la séquence F d'un patient normal d'achondroplasie.
Figure 18	Chromatogramme de la séquence R d'un patient normal d'achondroplasie .
Figure 19	Chromatogramme de la séquence F d'un patient d'achondroplasie montrant la mutation c.1138 G>A .
Figure 20	Chromatogramme de la séquence R d'un patient d'achondroplasie présentant la mutation c.1138 G>A .
Figure 21	profil de l'électrophorèse obtenu après PCR de l'exon 13 pour quelques patient d'hypochondroplasie.
Figure 22	Chromatogramme de la séquence F d'un patient normal d'hypochondroplasie.
Figure 23	Chromatogramme de la séquence R d'un patient normal d'hypochondroplasie .

Figure 24	Chrommatogramme de la séquence F d'un patient d'hypochondroplasie montrant la mutation c.1620 C>A.
Figure 25	Chrommatogramme de la séquence R d'un patient d'hypochondroplasie montrant la mutation c.1620 C>A.

Liste des tableaux :

Tableau 1	Séquence utilisée pour l'amplification de l'exon 11 de gène <i>FGFR3</i>
Tableau 2	Séquence utilisée pour l'amplification de l'exon 13 de gène <i>FGFR3</i>
Tableau 3	Programme de thermocycleur de traitement par ExoSap IT
Tableau 4	Programme du thermocycleur de la réaction de séquence

Etablissement de stage :

Le Centre Hospitalier Universitaire Hassan II (CHU) constitue un établissement public destiné à servir une population de plus de 3 millions d'habitants des régions de Fès Boulemane, de Meknès-Tafilalet et de Taza-Al Hoceima-Taounate.

Le Laboratoire Central d'Analyses Médicales est situé au bâtiment J et conçu comme un pôle d'activité hospitalière comportant plusieurs spécialités d'analyses médicales :

- Anatomie pathologique ;
- Bactériologie-Immunoanalyses;
- Parasitologie ;
- Biochimie et pharmaco-toxicologie;
- Hématologie ;
- Génétique médicale et biologie moléculaire.

L'unité génétique médicale et d'oncogénétique, représente une première expérience dans un CHU au MAROC, elle est activement mise en place depuis sa création en Mars 2009.

L'unité de génétique médicale et d'oncogénétique est subdivisée en trois disciplines (cliniques, cytogénétique et moléculaire).

Elle assure des activités variées qui comprennent :

- Génétique clinique (activité clinique) :
 - Consultation de génétique (au centre du diagnostic)
 - Conseil génétique (au centre du diagnostic)
 - Consultation d'oncogénétique (au centre du diagnostic)
 - Avis du médecin généticien dans les services cliniques
 - Hôpital de jour (en coordination avec les services cliniques)
 - Génétique chromosomique (analyse des chromosomes)
 - Cytogénétique classique (caryotype)
 - Cytogénétique moléculaire (FISH : Hybridation In Situ en Fluorescence)
 - Génétique moléculaire (analyse des gènes)

Introduction

D'une manière générale, dans les cellules, l'[acide désoxyribonucléique](#) (ADN) est soumis continuellement à des activités métaboliques normales et à des facteurs environnementaux portant atteinte à son intégrité. C'est ainsi que ces cellules ont développé plusieurs systèmes pour faire face aux diverses agressions causées, dans le but de préserver l'intégrité de leur génome. L'absence de ces systèmes ou de leur mal fonctionnement sont à l'origine de plusieurs pathologies induites au niveau du patrimoine génétique.

Parmi ces pathologies, l'achondroplasie et l'hypochondroplasie sont des maladies osseuses causées par des anomalies chromosomiques. L'incidence de ces maladies est comprise entre 1 sur 25 000 [1]. Les enfants atteints de cette maladie s'appellent « Enfants de Nanisme » ou « Enfants de Micromélie ». En effet, ils se caractérisent par une petite taille disproportionnée et conditionnée par un certain nombre d'anomalies liées à des troubles respiratoires et une formation anormale du cartilage osseux.

Les loci d'achondroplasie et d'hypochondroplasie ont été cartographiés sur le chromosome 4p16.3 et se caractérisent par une affectation hétérozygote récurrente du récepteur 3 du facteur de croissance des fibroblastes (*FGFR3*) [5]. Tous les patients atteints d'achondroplasie montrent la même substitution d'acide aminé (une mutation de G380R vers 1138G>A et vers 1138G>C). La situation est la même pour les patients atteints d'hypochondroplasie (p. Lys650Asn et p. Asn650Glu).

Une meilleure compréhension du rôle de ce gène au cours de l'ossification endochondrale est essentielle pour aborder les causes de cette pathologie et le développement de nouveaux outils thérapeutiques.

En effet, c'est dans ce cadre que s'inscrit mon projet de fin d'études qui a pour but de mettre en évidence les mutations les plus courantes chez des patients marocains recrutés du service pédiatrique du centre hospitalier Hassan 2, en utilisant une approche moléculaire. Certains patients qui font l'objet de notre étude présentent les symptômes cliniques de la pathologie de l'achondroplasie et d'autres présentent les symptômes cliniques de l'hypochondroplasie.

CHAPITRE I: Etude bibliographique

I. ACHONDROPLASIE :

1. Définition :

L'achondroplasie est une maladie génétique osseuse humaine de la plaque de croissance et qui est l'image la plus courante du nanisme.

Il s'agit d'une altération héréditaire autosomique dominante ; cependant, 80% des nouveaux cas naissent de parents sains (cas sporadiques ou aussi mutation de Novo) et 20% sont d'une cause familiale (héréditaire), transmise par l'un des deux parents lui-même atteint. Un seul gène anormal hérité d'un parent est nécessaire pour être atteint de la maladie. Il faut signaler que l'achondroplasie homozygote est une condition létale [4].

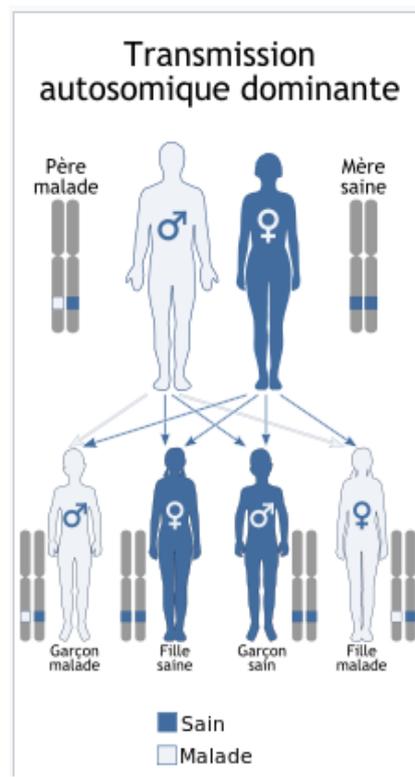


Figure 1 : Illustration de la transmission autosomique dominante

2. Caractéristiques d'une maladie génétique autosomique dominante :

- ❖ Tout sujet atteint a l'un de ses parents atteint.
- ❖ Tout sujet atteint à un risque de 1/2 de transmettre la maladie à chaque génération.
- ❖ Les sujets indemnes ne transmettent pas la maladie.
- ❖ La maladie atteint aussi bien les sujets mâles que les sujets femelles.
- ❖ Toutes les générations sont atteintes.

3. Epidémiologie :

L'achondroplasie est une affection génétique avec une prévalence estimée en moyenne à un enfant sur 25 000 naissances environ dans tout le monde [1]. Elle est relativement plus fréquente au MAGHREB et au Moyen-Orient où la ration de consanguinité est élevée et du fait que la maladie se transmet de façon autosomique dominante.

4. Historique :

L'issue "achondroplasie" a été utilisée par Jules Parrot en 1878, puis en 1900, il a décrit les principales caractéristiques de cette maladie chez les enfants et les adultes. Toutefois, cette affection était déjà connue auparavant, l'art égyptien, grec et romain en témoigne [2]. Il s'agit d'une anomalie de croissance humaine qui a le plus frappé l'imagination de l'homme depuis l'Antiquité avec la présence de Micromélie achondroplasique. Elle a été présente dans la légende Egyptienne sous la forme des dieux Ptah ou Abeilles, parmi les rétiaires romaines et dans les cours royales de Chine et d'Europe [3].



Figure 2 : L'achondroplasie chez les civilisation et cultures antiques [28].

5. Génétique et Physiopathologie :

L'achondroplasie est une maladie génétique osseuse humaine de la plaque de croissance et est la forme la plus courante de petite taille héréditaire disproportionnée.

Le locus d'achondroplasie a été cartographié sur le chromosome 4p16.3 en 1994 et se caractérise par une affectation hétérozygote récurrente du gène de *FGFR3* (Récepteur 3 du facteur de croissance des fibroblastes). Une meilleure compréhension du rôle de ce gène au cours de l'ossification endochondrale est essentielle pour aborder les causes de cette pathologie et le développement de nouveaux outils thérapeutiques.

Tous les patients atteints d'achondroplasie montrent la même substitution d'acide aminé (Une mutation de G380R vers 1138G>A et vers 1138G>C) dans le secteur transmembranaire des mutations *FGFR3*. [5]

La famille des récepteurs *FGF* (Facteur de croissance fibroblastique) comprend 4 récepteurs qui lient les différentes *FGF* avec différentes affinités et montrent un état important dans la distinction des cellules Mésenchymateuse et neuro-éctodermes.

Les 4 récepteurs partagent une organisation commune comprenant 3 domaines extracellulaires Ig-Like, un domaine hydrophobe transmembranaire et deux sous-domaines cytoplasmiques responsables de l'activité catalytiques (Tyrosine kinase).

Une mutation de G380R (vers 1138G>A et vers 1138G>C) du gène *FGFR3* aurait comme conséquence l'activation de ce récepteur et donc le signal de transduction qui initie l'association du récepteur à son ligand *FGF*. *FGFR3* étant un modérateur négatif du développement osseux, son activité excessive, conduit au freinage de la croissance des os longs et des vertèbres favorisant ainsi l'achondroplasie. [6]

D'autres pathologies peuvent être issues d'anomalies du gène *FGFR3* ; il s'agit de l'hypochondroplasie, le nanisme thanatophore; le syndrome SADDAN

6. Diagnostic Clinique et Paraclinique :

Le diagnostic de l'achondroplasie peut être posé suite à la présence des caractéristiques cliniques qui peuvent être distinctes. A la naissance, le diagnostic est associé à des signes radiologiques de la pathologie, et avant, durant la période prénatale, lors d'une échographie de routine du 3ème trimestre.

a) Période prénatale :

Lors de la grossesse, le diagnostic d'achondroplasie peut être décrit au troisième trimestre suite à l'observation de dysmorphies morphologiques caractéristiques à l'échographie, associées à un retard de croissance, à savoir un raccourcissement des membres (<3e percentile), un diamètre bipariétal accru (>95e percentile) et un pont nasal bas [7].

La constatation de signes anormaux lors de l'échographie de routine peut conduire à une imagerie intra-utérine. Les caractéristiques radiographiques anténatales de l'achondroplasie sont des os longs raccourcis avec des métaphyses larges, et une zone mince et radio transparente dans le fémur proximal et le toit acétabulaire horizontal [8].

b) Période Postnatale :

Certaines apparences permettent d'assimiler la maladie. Il s'agit de la Rhizomélie qui s'exprime par des inflammations touchants les membres et le cou en compagnon avec des détériorations importantes de l'état général, en plus d'une disproportion de membres supérieurs sur les membres inférieurs, la dysmorphie faciale, la macrocéphalie avec Front proéminent, l'hypoplasie de la part intermédiaire du visage, un thorax grand et étiré, et un retard d'acquisition psychomoteur globale [15].

Dans la petite enfance, la cyphose thoraco-lombaire est très courante, les articulations sont hyper-élastiques, et les mains larges et courtes. Un aplatissement de la moelle épinière au niveau du foramen magnum peut survenir dans la petite enfance et au début de l'enfance et provoquer une apnée centrale et un retard de développement. Un genu varum est fréquemment identifiable durant l'enfance. Il peut survenir aussi un faible danger d'hydrocéphalie avec grossissement de la pression veineuse intracrânienne [16].

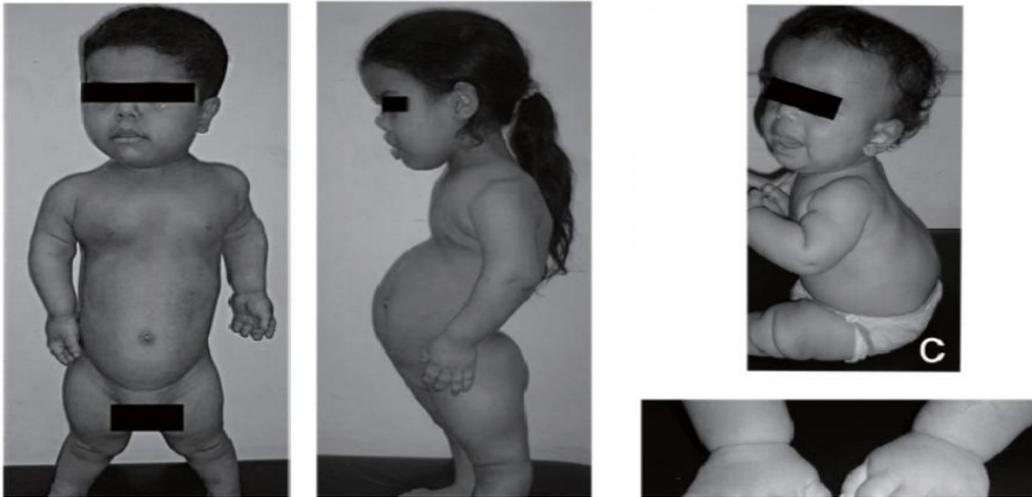


Image 3 : Image montrant une hyperlordose étirée [28].

A l'âge adulte, l'aspect est caractéristique avec une taille petite (les hommes atteignent en moyenne la taille de 1,31 m et les femmes 1,25 m). Cet âge peut aussi se caractériser par une brachydactylie, une hyperlordose, un genu varum, des malformations faciales qui sont observées par des bosses frontales, une hypoplasie de l'étage moyen et enfin une limitation de l'allongement. L'obésité peut aussi être observable. [9]



a) Genu Varum

b) Brachydactylie

Image 4 : Image montrant un patient a) avec genu varum et un patient b) brachydactylie [28].

7. Diagnostic Radiologique :

La confirmation du diagnostic de l'achondroplasie nécessite une évaluation radiographique. Bien que l'achondroplasie soit une dysplasie métaphysaire, les changements métaphysaires généralisés sont légers et non spécifique [10].

Les caractéristiques radiologiques utiles au diagnostic sont les suivantes [11] :

1. Les os « longs » sont courts et robustes.
2. Un acétabulum plat et horizontal.
3. Un rétrécissement marqué de l'encoche sacro-sciatique.
4. Une radioclarité fémorale proximale caractéristique.
5. Un rétrécissement de la distance inter-pédiculée de la colonne vertébrale caudale.
6. Des courtes phalanges proximales et moyennes.
7. Réduction de la hauteur du bassin.



Image 5 : Radiographie du crane montrant une condensation de la voûte crânienne [28].



Image 6 : Radiographie des membres inférieurs et supérieurs montrant l'aspect trapu et l'élargissement métaphysaire du fémur et de l'humérus [28].

8. Evolution et traitement de la maladie :

La plupart des personnes atteintes d'achondroplasie auront une espérance de vie normale. Toutefois, il existe un risque accru de décès prématurés [12] non seulement à des décès inattendus durant la petite enfance, mais aussi, semble-t-il, à des complications cardiovasculaires au milieu de la vie pleine d'exercice [13].

Dans l'ensemble, la durée de vie moyenne est inférieure d'environ 10 ans à celle de la population générale [12].

Actuellement, il n'existe pas de traitement pour l'achondroplasie.

Cependant, une prise en charge multidisciplinaire est recommandée dans les trois premières années de la vie du patient. Plusieurs spécialistes peuvent intervenir, dont un généticien, un médecin ORL, un orthopédiste, un pédiatre, un kinésithérapeute.

Plusieurs problèmes médicaux doivent être traités chez les personnes atteintes d'achondroplasie qui touchent les différents systèmes et organes. Cependant, il existe un problème majeur à explorer par le praticien et qui est la sténose du foramen occipital, qui peut être fatale durant l'enfance [14].

II) Hypochondroplasie :

1) Introduction :

L'hypochondroplasie est une ostéochondrodysplasie osseuse proche de l'achondroplasie mais certainement plus hétérogène cliniquement. Elle peut se présenter avec une symptomatologie subtile chez certains patients, ce qui rend son diagnostic difficile [22].

2) Epidémiologie :

Aucune étude visant à déterminer la prévalence de l'hypochondroplasie *FGFR3* et/ou non-*FGFR3* n'a été publiée. La détermination des cas est problématique car on pense que de nombreuses personnes touchées ne présentent aucun symptôme autre qu'une petite taille et ne demandent pas d'intervention médicale. Cependant, il est généralement admis que l'hypochondroplasie est une dysplasie squelettique relativement courante qui peut approcher la prévalence de l'achondroplasie (c'est-à-dire 1 sur 15 000 à 40 000 naissances vivantes). De plus, des cas simplex (individus affectés sans antécédents familiaux d'hypochondroplasie) ont été associés à un âge paternel avancé [21].

3) Génétique et Physiopathologie :

Le gène responsable de l'affection est le gène *FGFR3* (*récepteur 3 de facteur de croissance fibroblaste*), situé en 4p16.3 et qui s'étale sur 16,5 kb (19 exons). Contrairement à l'achondroplasie, une anomalie moléculaire unique n'est retrouvée que dans environ 50 à 70 % des cas ; il s'agit de la substitution d'une asparagine en lysine au codon 540 en relation avec une transversion C>A et C>G au nucléotide 1620 (domaine proximal tyrosine-kinase) [17].

La pénétrance est complète, c'est-à-dire qu'une seule copie mutée du gène conduit à la maladie dans 100 % des cas [17].

D'autres mutations ont également été décrites au même codon et dans la même région (p. Asn540Thr, p. Asn540Ser et p. Asn328Ile) et plus récemment des mutations au codon 650 (p. Lys650Asn et p. Asn650Glu) ont été rapportées. Toutefois, celles-ci ne représentent qu'un nombre limité de cas. Une étude récente portant sur l'analyse globale du gène *FGFR3* par séquençage des 18 exons codants a révélé de nouvelles anomalies moléculaires dans d'autres régions de la protéine que celle habituellement concernée (domaine transmembranaire et extra-membranaire notamment). Cette étude démontre par ailleurs que contrairement à l'achondroplasie, dans un nombre important de cas (25 % environ), aucune mutation n'a pu être identifiée, laissant toujours supposer l'implication d'un ou de plusieurs autres loci.

4. Diagnostic clinique :

Il se caractérise par une petite taille (avec une taille globalement inférieure de 2 à 3 écarts-types à la moyenne durant l'enfance) qui varie chez l'adulte entre 138 à 165 cm pour les hommes et entre 128cm à 151cm pour les femmes [18], une construction trapue, un raccourcissement des segments proximaux ou moyens des extrémités (respectivement rhizomélie ou mésomélie) et une limitation de l'extension du coude. Les mains et les pieds sont larges et courts avec brachydactylie, la laxité articulaire est généralisée et légère et la macrocéphalie au faciès est relativement normale [18].



Image 7: Écart anormal entre les 3° et 4° doigts (main « en trident ») et brièveté des petits os tubulaires des doigts [28].

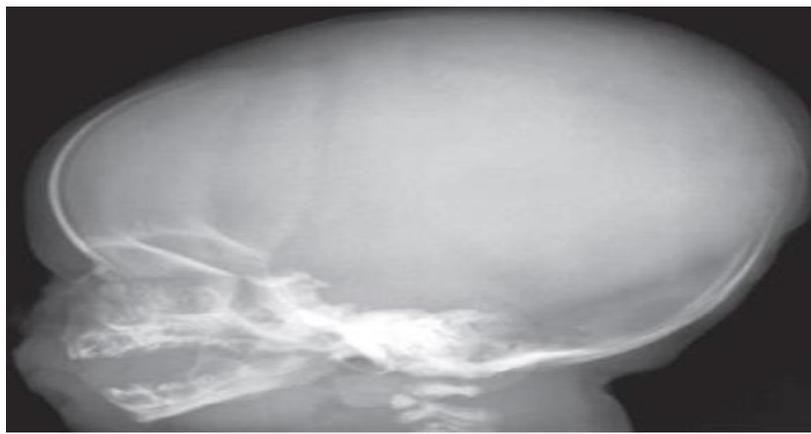


Image 8 : Macrocrânie, saillie des bosses frontales et ensellure nasale. La base du crâne est difficile à analyser sur les radiographies [28].

5 Diagnostic radiologique :

Le diagnostic radiologique se caractérise par un raccourcissement des os longs avec une poussée métaphysaire légère (en particulier les fémurs et les tibias), un rétrécissement des distances interpédiculaires lombaires inférieures (ou défaut d'élargissement) et une brachydactyle légère à modérée [19].



Image 9 : Aspect trapu du radius et de l'ulna qui est relativement courte avec un processus styloïde long [28].

6 Traitement :

Le soutien de l'hypochondroplasie est pluridisciplinaire (chirurgie, physiothérapie, orthopédie, etc.) et défensive, et a pour but d'avoir les solutions et le traitement des complications. Actuellement, il n'y a pas de traitement adapté pour cette pathologie. Les essais sur les hormones de croissance (GH) montrent une réponse limitée, ce qui est normal, puisque cette altération est causée par une anomalie intrinsèque de la croissance osseuse. L'extension des membres, qui est un traitement débattu, est choisie par une petite minorité d'individus affectés [20].

CHAPITRE 2 : Matériel et Méthodes :

A. Matériel :

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire central de CHU HASSAN II de FES, unité de Génétique Médicale et d'Oncogénétique (UGMO) durant une période de 8 semaines allant du 25/04/2022 au 25/06/2022. Ce travail porte sur 96 patients.

B. Techniques utilisées :

La mutation du gène FGFR3 (de G380R vers 1138G>A et vers 1138G>C) au niveau l'exon 11 provoquant l'achondroplasie ainsi que celle provoquant l'hypochondroplasie au niveau de l'exon 13 (p. Lys650Asn et p. Asn650Glu) ont été recherchées par les techniques de biologie moléculaire qui suivent.

Prélèvement sanguin :

Les patients ont bénéficié d'un prélèvement de sang veineux stérile, réalisé dans des tubes contenant l'EDTA, destiné pour l'extraction d'ADN par kit ou par sel. Les tubes peuvent être conservés à +4°C ou à -20°C.

i. Extraction d'ADN :

Au niveau du laboratoire de Génétique Médicale et d'Oncogénétique, l'extraction de l'ADN se fait selon le KIT commercialisé (*invitrogen*).

Le système utilise la technologie de la membrane de silice pour l'isolation simple et rapide de l'ADN génomique sans phénol-chloroforme.

a. Protocole expérimental :

- Lyse des cellules avec la protéine kinase K et le tampon de lyse :

Dans un tube eppendorf de 1,5 ml, 200 µl de sang sont mélangés avec 20 µl de protéinase K et 20 µl de RNase. Le tube est vortexé pendant 15 secondes puis incubé 2 minutes à T° ambiante. 200 µl de pure link™ Genomic Lysis Binding Buffer sont ensuite ajoutés. Le tube est à nouveau vortexé pendant 15 secondes et incubé 10 minutes dans le bain marie à 55°C. 200 µl d'éthanol absolu sont finalement ajoutés et le tube est vortexé pendant 5 secondes.

➤ Adsorption de l'ADN :

Le mélange est placé dans la colonne Pure Link™ et centrifugé 1 minute à 8000 rpm.

La colonne est ensuite mise dans un tube collecteur de 2 ml (fournit par le kit) et le tube contenant le filtrat est jeté.

➤ Elimination des contaminants résiduels :

400µl de tampon Wash Buffer 1 sont ajoutés et le tube est centrifugé 1 minute à 8000 rpm. La colonne est ensuite mise dans un tube collecteur de 2 ml (fournit par le kit) et le tube contenant le filtrat est jeté. 400µl de tampon Wash Buffer 2 sont ajoutés et le tube est centrifugé 3 minutes à 14000 rpm. La colonne est placée dans un tube eppendorf de 1,5ml et 70µl de tampon pure Link™ Genomic Elution Buffer sont ajoutés. Une incubation de 1 à 5 minutes à T° ambiante est ensuite réalisée suivie d'une centrifugation pendant 1 minute à 8000 rpm. L'ADN extrait peut être conservé à +4°C ou à -20°C

❖ Dosage d'ADN :

En biologie moléculaire, il est nécessaire d'analyser la pureté des acides nucléiques après leur purification. La méthode la plus répandue pour déterminer la concentration et la pureté de l'ADN est la spectrométrie qui détermine l'absorbance des AN à 260 nm. La pureté approximative des préparations d'ADN double brin peut être estimée par la détermination du rapport d'absorption à 260 et 280 nm (A_{260}/A_{280}). Un ADN est considéré pur lorsqu'il présente un rapport A_{260}/A_{280} compris entre 1,8 et 2.

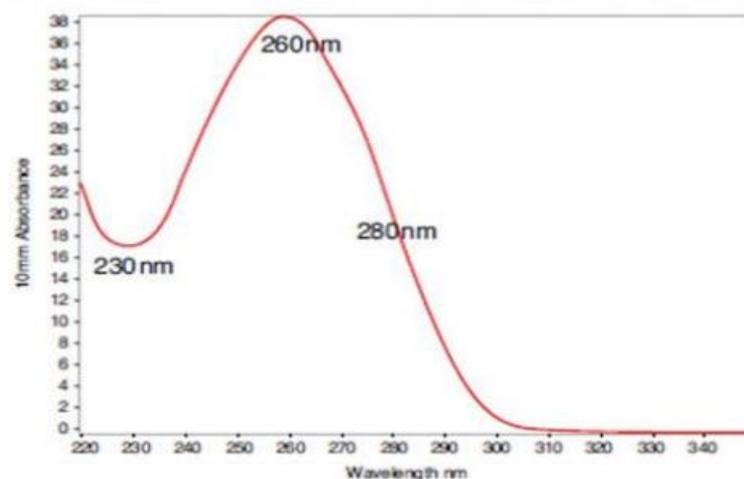


Figure 10 : Spectre d'absorption caractéristique d'un ADN pur

C. La technique PCR :

La réaction PCR (Polymerase Chain Reaction) permet d'amplifier *in vitro* une région spécifique d'un acide nucléique donné afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier. Pour se faire, une série de réactions permettant la réplication d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle. Ainsi, au cours de la réaction PCR, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle. Pour avoir la réplication d'un ADN double brin, il faut agir en trois étapes :

1. Dénaturation de l'ADN pour obtenir des matrices simple brin.
2. Hybridation des amorces spécifiques.
3. Réalisation de la réaction de polymérisation du brin complémentaire par l'enzyme polymérase (élongation). A la fin de chaque cycle, les produits sont sous forme d'ADN double brin.

a. Protocole expérimental :

La réaction PCR a été effectuée et optimisée pour le gène cible dans un volume final de 25µl pour le mélange réactionnel :

Dans chaque tube eppendorf, 10µl de solution Green Taq est mélangé avec 12µl d'eau (water nuclease free). 1µl pour chaque amorce F et R de concentration 10µM, et 1µl d'ADN de concentration 100 ng/µl est finalement ajouté.

Enfin, le mélange est déposé au niveau d'un thermocycleur (Applied Biosystem) selon un programme déterminé.

L'amplification a été effectuée en 35 cycles qui sont précédés par une étape de dénaturation initiale pendant 3 min à 95°C. Chaque cycle de PCR est constitué de 3 étapes : une dénaturation de l'ADN à 95°C pendant 30s, puis une hybridation des amorces de l'achondroplasie à 64°C durant 30s et pour les amorces de l'hypochondroplasie à 62°C durant 30s, et finalement une élongation grâce à l'action d'une Taq polymérase à 72°C pendant 10min.

L'amorce sens et anti-sens utilisées pour l'amplification de l'exon 11 (Achondroplasie) et l'exon 13 (Hypochondroplasie) sont représentées dans les tableaux suivants :

Tableau 1 : Séquence utilisée pour l'amplification de l'exon 11 de gène *FGFR3*

Exon	11
Amorce sens	5'-AGGAGCTGGTGGAGGCTGA-3'
Amorce anti-sens	5'-GGAGATCTTGTGCACGGTGG-3'
La taille de gène	165 pb

Tableau 2 : Séquence utilisée pour l'amplification de l'exon 13 de gène *FGFR3*

Exon	13
Amorce sens	5'-ACTGACAAGGACCTGTCGGACC-3'
Amorce anti-sens	5'-TTGCAGGTGTCGAAGGAGTAGTC-3'
La taille de gène	295 pb

D. Electrophorèse des produits de PCR :

Une électrophorèse est nécessaire pour le contrôle de la taille des fragments amplifiés par PCR et la détection d'une éventuelle contamination de l'ADN (grâce au témoin négatif).

Les produits PCR sont contrôlés sur gel d'agarose 2 %. Pour cela, 2 g de poudre d'agarose et 100 ml de TBE (Tris-borate-EDTA) à 1X, sont portés à ébullition, puis 4µl de BET (Bromure d'éthidium 10 mg/ml) qui est un agent révélateur par sa fluorescence sous U.V et qui s'intercale entre les bases sont ajoutées.

Le gel est coulé dans le moule où est installé un peigne qui sera retiré après refroidissement du gel, laissant à sa place des puits où sera déposé l'ADN.

Après refroidissement, le moule est placé dans la cuve remplie avec le tampon de migration. Dans chaque puits, 7µl du produit PCR sont déposés et la migration est lancée à 120V pendant 20min. Finalement, les bandes d'ADN fluorescentes sont visualisées sous UV.

E. Séquençage d'ADN :

✓ Principe :

Le séquençage de l'ADN est une technique qui permet de lire l'enchaînement des nucléotides (ou bases) d'un fragment d'ADN, et il nous permet de détecter les différentes mutations à l'intérieur des différents gènes.

Notre objectif est de réaliser le séquençage des exons 11 et 13 du gène *FGFR3* pour détecter les différentes mutations présentes.

✓ Protocole :

1^{ère} étape : réaction d'Exosap-IT

Dans chaque tube, 5,5 µl du produit PCR sont mélangés avec 2,5 µl d'Exosap-IT qui joue le rôle de nettoyage enzymatique en hydrolysant les amorces en excès et les nucléotides restants en une seule étape. Ensuite, les tubes sont placés dans le thermocycleur.

Tableau 3 : Programme de thermocycleur de traitement par ExoSap IT

Paramètres	Etapas	
	1 cycle	
	Digestion	Inactivation de l'ExoSAP-IT
Température	37°C	80°C
Durée	5min	1 min

2^{ème} étape : réaction de séquence par BigDye™ Terminator v3.1

Après avoir récupéré les tubes du thermocycleur, un mix composé de 4 µl de produit PCR purifiés, 1 µl des amorces F et R, 4 µl de l'eau et 1 µl du BigDye (qui contient de taq polymérase, des dNTP, des ddNTP marqués, du tampon, du magnésium).

Ensuite, 25 cycles d'amplification ont été réalisés dans le thermocycleur sous des conditions spécifiques à la réaction de séquençage.

Tableau 4 : Programme du thermocycleur de la réaction séquence

	Etapas		
	Dénaturation	Hybridation	Polymérisation
Température	95°C	50°C	60°C
Durée	10 s	5 s	4 min

3^{ème} étape : purification des produits de la réaction de séquence par X Terminator

La purification des produits de la réaction de séquence se fait par l'addition de 10 µl d'XTerminator et 45 µl de SAM afin de purifier les extraits non-amplifiés. Les tubes sont vortexés à 2000 rpm pendant 30 min, et ensuite centrifugés pendant 3 min à 15000 rpm.

4^{ème} étape : détermination de la séquence

Le surnageant de chaque tube est déposé dans les puits de la plaque du séquenceur. Après, la plaque de réaction est placée dans l'analyseur génétique qui permet l'analyse des fragments par électrophorèse capillaire.



Figure 11 : Séquenceur Applied Biosystems (Laboratoire de génétique médicale-CHU Fès)

✓ Les outils de bio-informatique :

○ Logiciel BLAST (nucléotide BLAST)

Le logiciel blast permet de comparer une séquence nucléique dite requête à une banque de séquences nucléiques sur les 2 brins, c'est-à-dire la séquence étudiée (brin +) et son complémentaire inversé (brin -).

○ Logiciel NCBI (CCDS database)

Ce logiciel permet de localiser la mutation au niveau de la partie codante du gène étudié et éventuellement de connaître l'acide aminé touché par la mutation sur la séquence protéique correspondante.

○ Logiciel NCBI (CCDS variation viewer)

Dès que la mutation est localisée, ce logiciel nous permet d'évaluer l'impact clinique de celle-ci (pathogénique ou pas), son origine (germinale ou somatique), son positionnement sur le génome entier et si elle a déjà été rapportée par d'autres auteurs.

Chapitre 3 : Résultats et Discussion :

Il s'agit d'une étude rétrospective, réalisée sur une série de 43 patients marocains présentant les symptômes cliniques de la pathologie de l'Achondroplasie et de 53 patients marocains montrant des signes cliniques de l'Hypochondroplasie.

I. Résultats :

A. Données épidémiologiques :

1-1) La répartition des patients selon le sexe :

- Patients achondroplasie :

Les patients étudiés présentent un sexe ratio H/F de 0,79 avec 19 hommes (44%) pour 24 femmes (56%) (Figure 12).

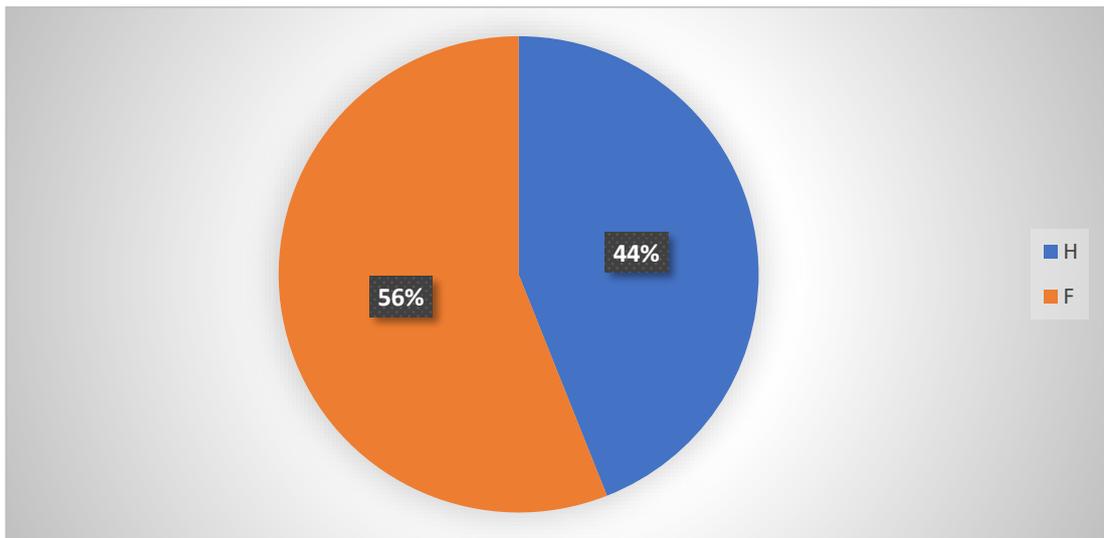


Figure 12 : Répartition des patients achondroplasie en fonction du sexe

- Patients hypochondroplasie :

Les patients étudiés présentent un sexe ratio H/F de 0,77 avec 23 hommes (43%) pour 30 femmes (57%) (Figure 13).

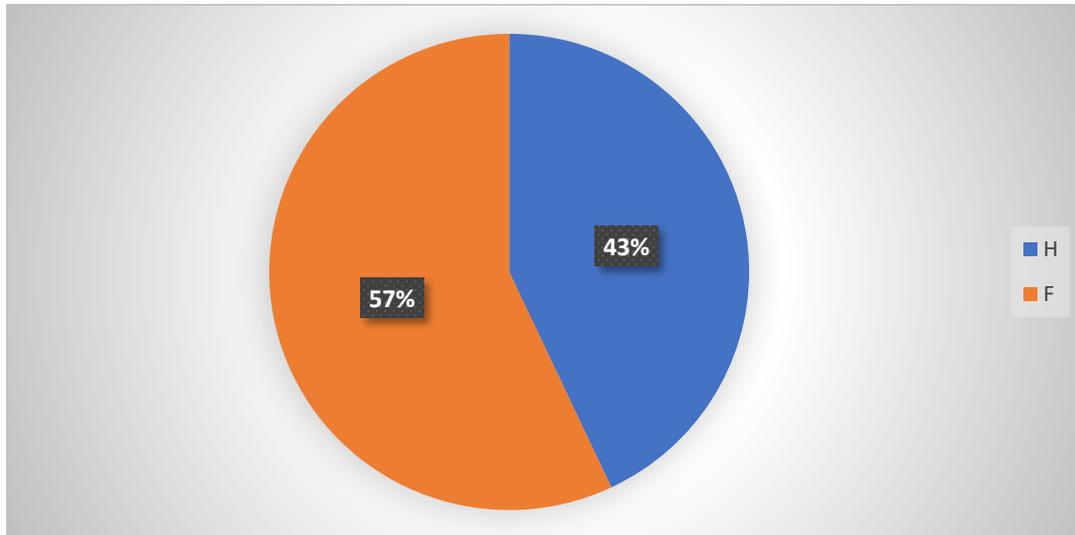


Figure 13 : Répartition des patients hypochondroplasie en fonction du sexe

1-2) La répartition des patients selon l'âge :

- Patients achondroplasie :

L'âge moyen des patients était de 3 ans avec des extrêmes allant de 6 mois à 17 ans. La majorité des patients (82.5%) avait un âge inférieur à 10 ans.

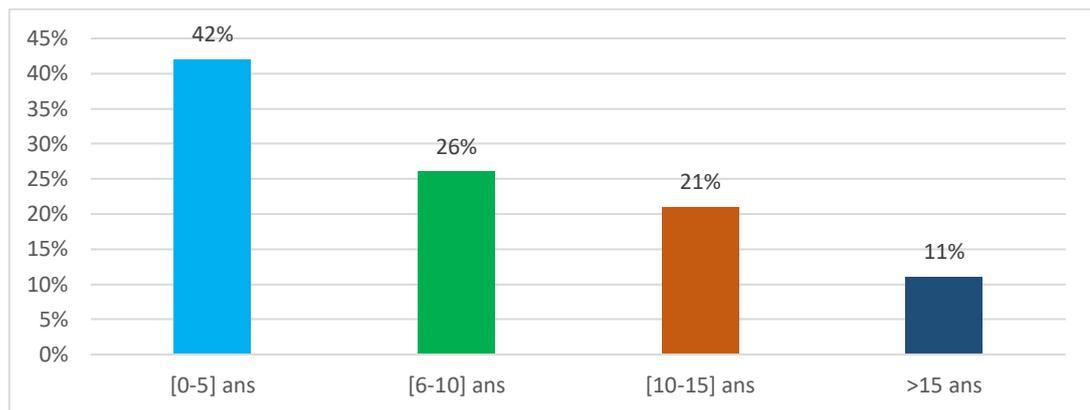


Figure 14 : Répartition des patients achondroplasie en fonction de l'âge.

- Patient hypochondroplasie :

L'âge moyen des patients était de 3 ans avec des extrêmes allant de 5 mois à 17 ans. La majorité des patients (78.4%) avait un âge inférieur à 10 ans.

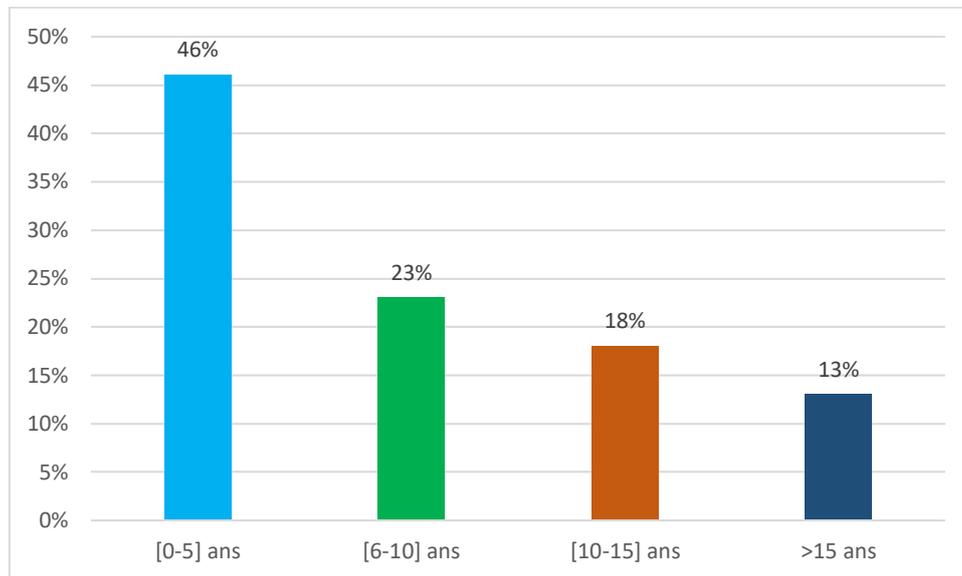


Figure 15 : Répartition des patients hypochondroplasie en fonction de l'âge.

B. Données cliniques et biologiques :

- Achondroplasie :

Cette étude comporte une série de 43 patients *FGFR3* issus de 34 familles. La consanguinité a été enregistrée chez 65.1% (28/43) des patients. Parmi eux, 70.4% étaient de premier degré et 29,6% de second degré.

Les symptômes d'ACH ont débuté à l'âge moyen de 3 mois accompagnés d'une petite taille (retard staturo-pondérale) avec un pourcentage de 62.7% (27/43), d'une cyphose avec un pourcentage de 16.2 % (7/43) et d'une dysmorphie faciale avec un pourcentage de 11.6% (5/43) qui font suspecter un diagnostic d'achondroplasie.

Le bilan radiologique montre une cyphose vertébrale et des membres courts ainsi qu'une compression de la moelle et du bulbe. L'IRM confirme la présence du raccourcissement du foramen occipital et médullaire estimé à 3.1 mm, alors que sous la jonction bulbo-médullaire, le cordon mesure 56 mm de diamètre du côté antéro-postérieur.

Concernant les enfants de moins d'un an, ils vont déployer une cyphose thoraco-lombaire qui est fréquemment réversible, mais qui peut continuer dans 15-18% des cas à l'âge adulte. En plus, il existe des patients avec d'autres symptômes cliniques tel que la rhizolémie avec un pourcentage de 7% (3/43), des articulations hyperextensibles avec un pourcentage de 2.5% (1/43) et l'apparition d'une apnée centrale qui est une compression de la moelle épinière au niveau du foramen magnum qui peut apparaître pendant l'enfance et au début de l'enfance accompagnée d'un retard d'acquisition psychomoteur.

- Hypochondroplasie :

Dans ce travail, nous étudions une série de 53 patients *FGFR3* issus de 31 familles. La consanguinité a été enregistrée dans 63.1% (33/53) des patients. Parmi eux, 68.2% étaient de premier degré et 31,8% de second degré.

Les symptômes d'HCH ont débuté à l'âge moyen de 3 mois accompagnés d'une petite taille (retard staturo-pondérale) avec un pourcentage de 64.1% (34/53), d'un raccourcissement des segments des parties proximales avec un pourcentage de 15.1 % (8/53), et avec des pieds et des mains courtes avec un pourcentage de 11.3% (6/53) qui sont des signes cliniques d'hypochondroplasie. Le bilan radiologique montre un raccourcissement des os longs avec un pourcentage de 7.5% (4/53) et une brachydactylie légère avec un pourcentage de 2% (1/53).

C. Résultats de l'étude moléculaire :

- Les patients d'achondroplasie :

Dans le cadre de ce travail, les mutations les plus fréquentes ont été recherchées à travers l'amplification de l'exon 11 du gène *FGFR3* par la technique « PCR-séquençage », ceci après l'extraction d'ADN par le KIT commercialisé « DreamTaq Green PCR Master Mix ». Ensuite, la qualité des produits PCR est confirmée par migration des produits sur gel d'agarose, en présence d'un témoin négatif. La visualisation des fragments d'ADN est ensuite réalisée après exposition du gel à la lumière ultra-violette.

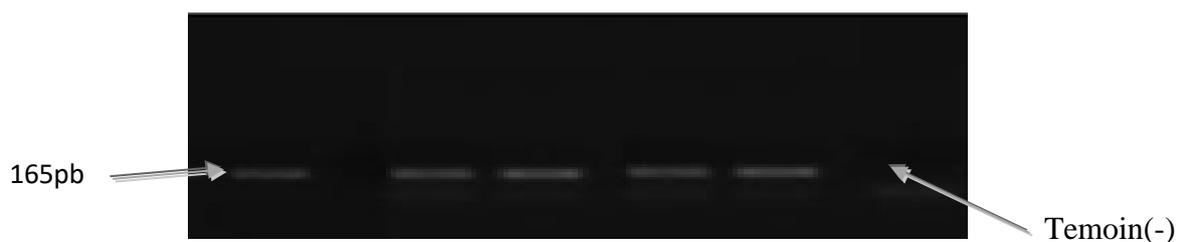


Figure 16 : profil de l'électrophorèse obtenu après PCR de l'exon 11 pour quelques patients achondroplasie

Le résultat illustré dans le profil électrophorétique de l'exon 11 du gène *FGFR3* montre que les produits PCR amplifiés, dans le but d'être séquencés, ne contiennent pas de contaminants. Ceci est confirmé par le témoin négatif qui ne montre aucune bande au niveau du gel. (Fig.16). L'obtention d'un produit PCR de bonne qualité nous a permis d'entamer la réaction de séquençage.

1. Résultat de séquençage de l'exon 11:

Le séquençage de l'exon 11 du gène *FGFR3* a été réalisé chez les 43 patients, pour détecter la présence ou l'absence des éventuelles mutations affectant le gène FGF.

Après l'obtention de la séquence du gène *FGFR3*, une analyse bioinformatique des séquences est réalisée par le Logiciel « Blast » pour l'identification des analogies entre la séquence requête et la séquence de la banque de données. Les résultats ont montré la présence d'une mutation chez 8 patients, alors que 35 patients ne montrent aucune mutation.

Chez les 8 patients, la présence d'une mutation de substitution commune d'un nucléotide G en A touchant l'exon 11 du gène *FGFR3* (c.1138 G>A) a été trouvée.

- Séquence normale : Le chromatogramme montre la présence de nucléotide normal G à la position 380 .

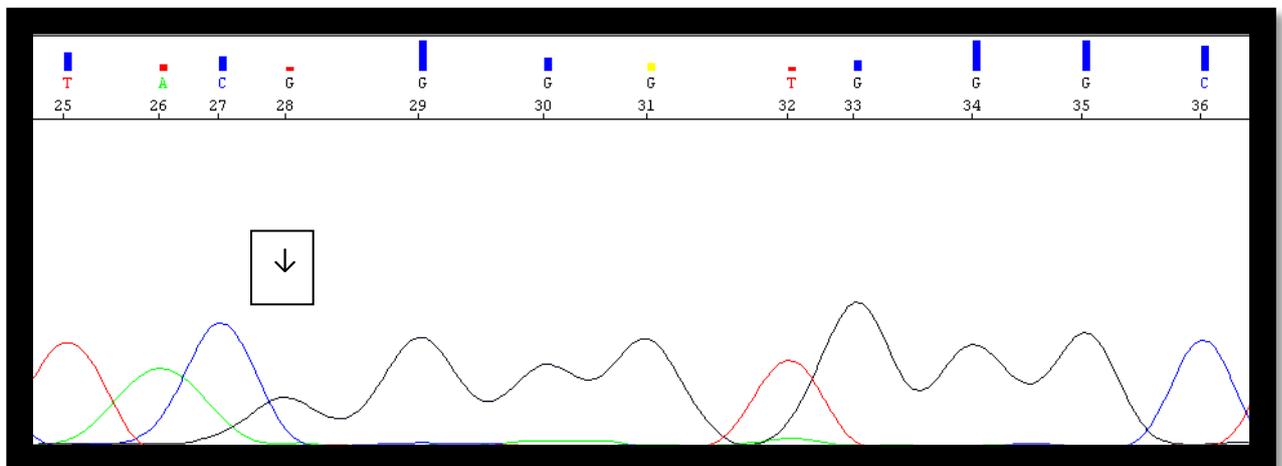


Figure 17 : Chromatogramme de la séquence F d'un patient normal d'achondroplasie.

Le chromatogramme montre la présence de nucléotide normal C à la position 380 .

Le chromatogramme montre la présence de nucléotide normal C à la position 380 .

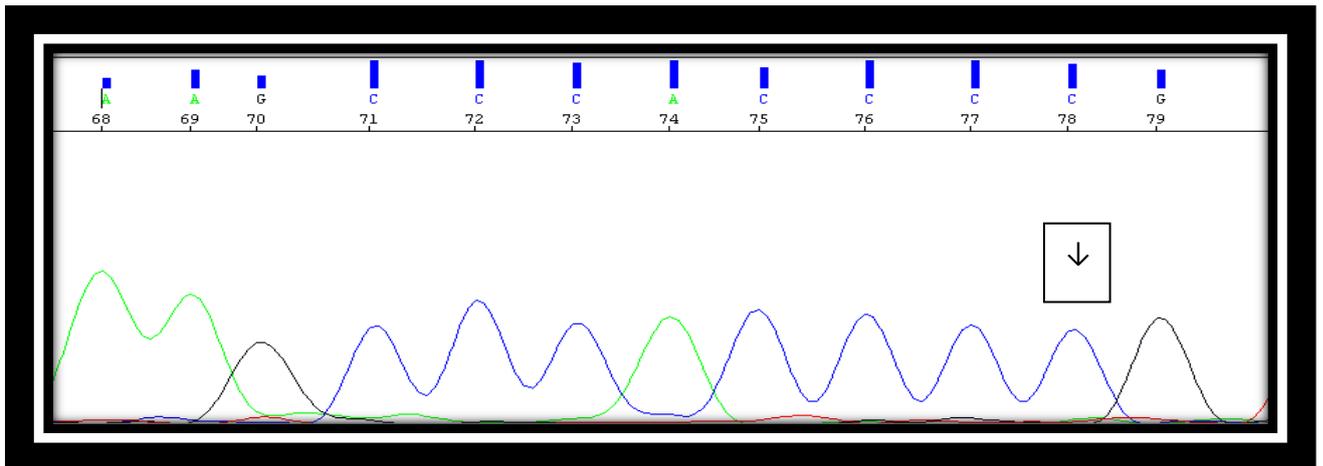


Figure 18 : Chrommatogramme de la séquence R d'un patient normal d'achondroplasie .

➤ Mutation c.1138 G>A (G380R) HETEROZYGOTE

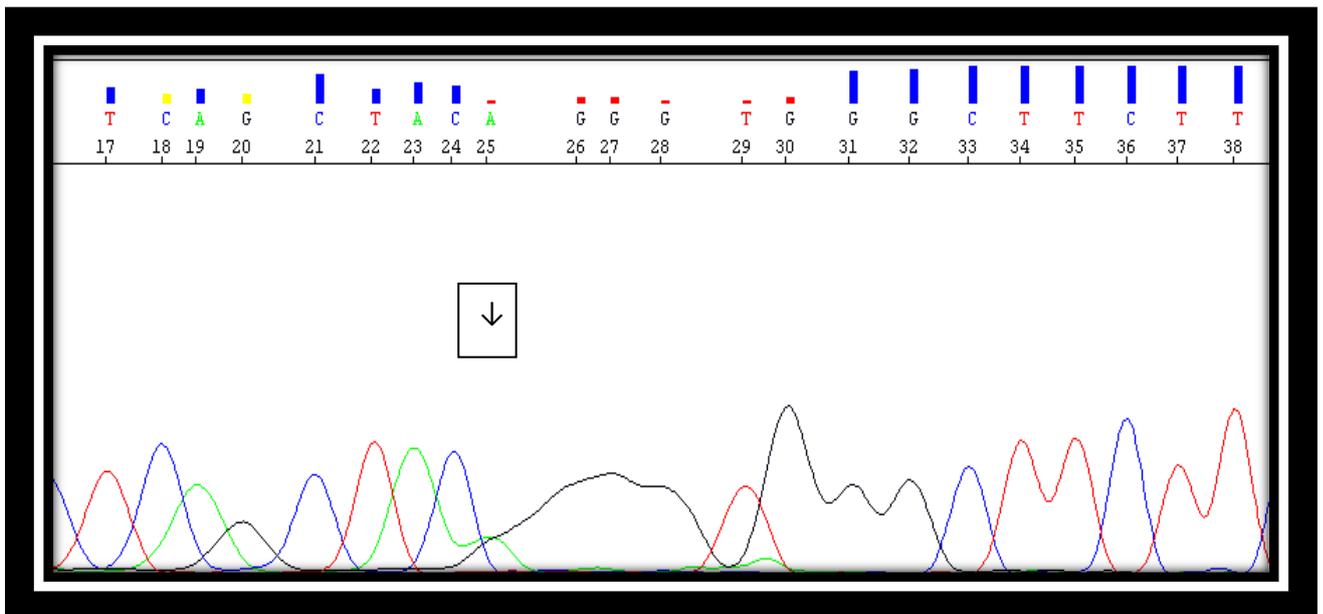


Figure 19 : Chrommatogramme de la séquence F d'un patient d'achondroplasie montrant une mutation c.1138 G>A

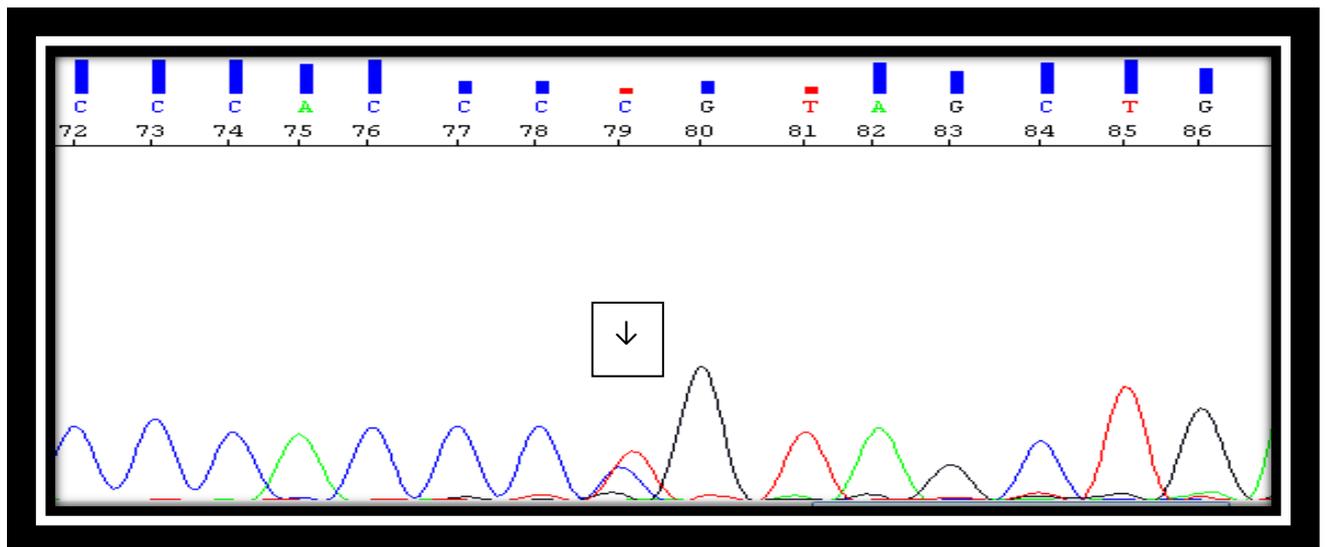


Figure 20 : Chrommatogramme de la séquence R d'un patient d'achondrplasie montrant une mutation c.1138 G>A

Le chromatogramme de la figure 19 montre la présence d'une mutation de nucleotide normal G par A à la position 380 .

- Les patients d'hypochondroplasie :

Dans le cadre de ce travail, les mutations les plus fréquentes ont été recherchées à travers l'amplification de l'exon 13 du gène *FGFR3* par la technique « PCR-séquençage » Ceci, après l'extraction d'ADN par le KIT commercialisé « DreamTaq Green PCR Master Mix ». Ensuite, la qualité des produits PCR est confirmée par migration des produits sur gel d'agarose, en présence d'un témoin négatif. La visualisation des fragments d'ADN est ensuite réalisée après exposition du gel à la lumière ultra-violette.

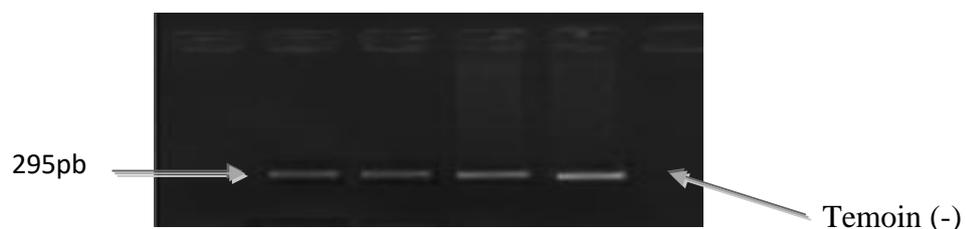


Figure 21 : profil de l'électrophorèse obtenu après PCR de l'exon 13 pour quelques patients hypochondroplasie

Le résultat illustré dans le profil électrophorétique de l'exon 13 du gène *FGFR3* montre que les produits PCR amplifiés, dans le but d'être séquencés, ne contiennent pas de contaminants, ceci est confirmé par le témoin négatif qui ne montre aucune bande au niveau du gel. (Fig.21). L'obtention d'un produit PCR de bonne qualité nous a permis d'entamer la réaction de séquençage.

Résultat de séquençage de l'exon 13:

Le séquençage de l'exon 13 du gène *FGFR3* a été réalisé chez les 53 patients, pour détecter la présence ou l'absence des éventuelles mutations affectant le gène FGF.

Après l'obtention de la séquence du gène *FGFR3*, une analyse bioinformatique des séquences par le Logiciel BLAST a été réalisée. Les résultats ont montré la présence d'une mutation chez 4 patients sur les 49 patients testés.

Chez les 4 patients, une mutation de substitution commune du nucléotide C en A touchant l'exon 13 du gène *FGFR3* a été trouvée.

Séquence normale

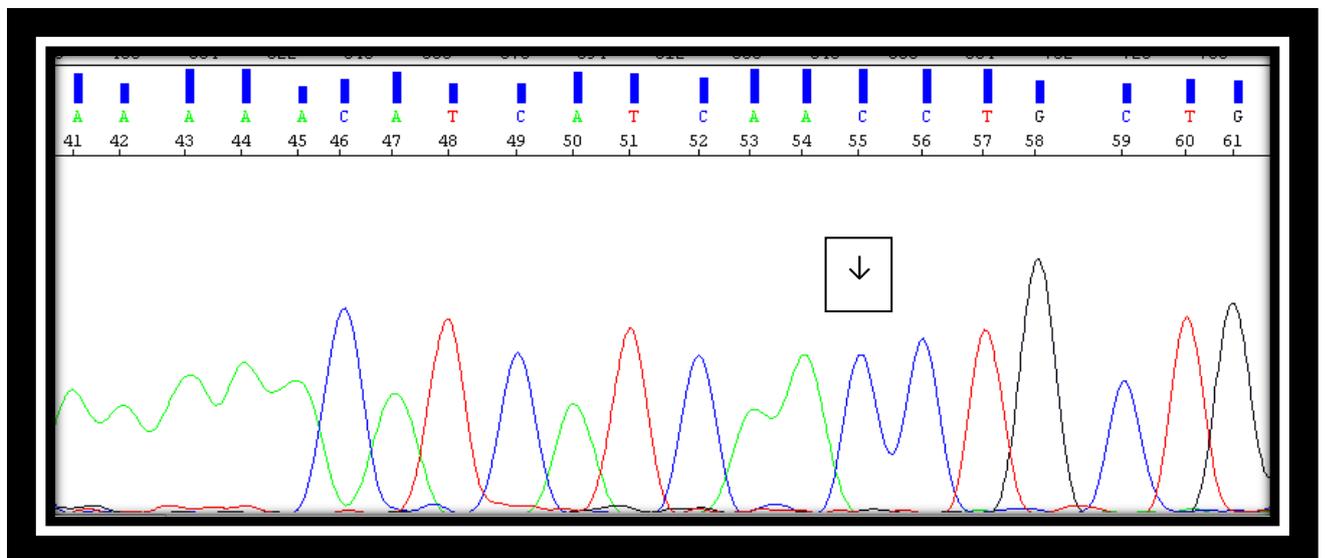


Figure 22 : Chromatogramme de la séquence F d'un patient normal d'hypochondroplasie.

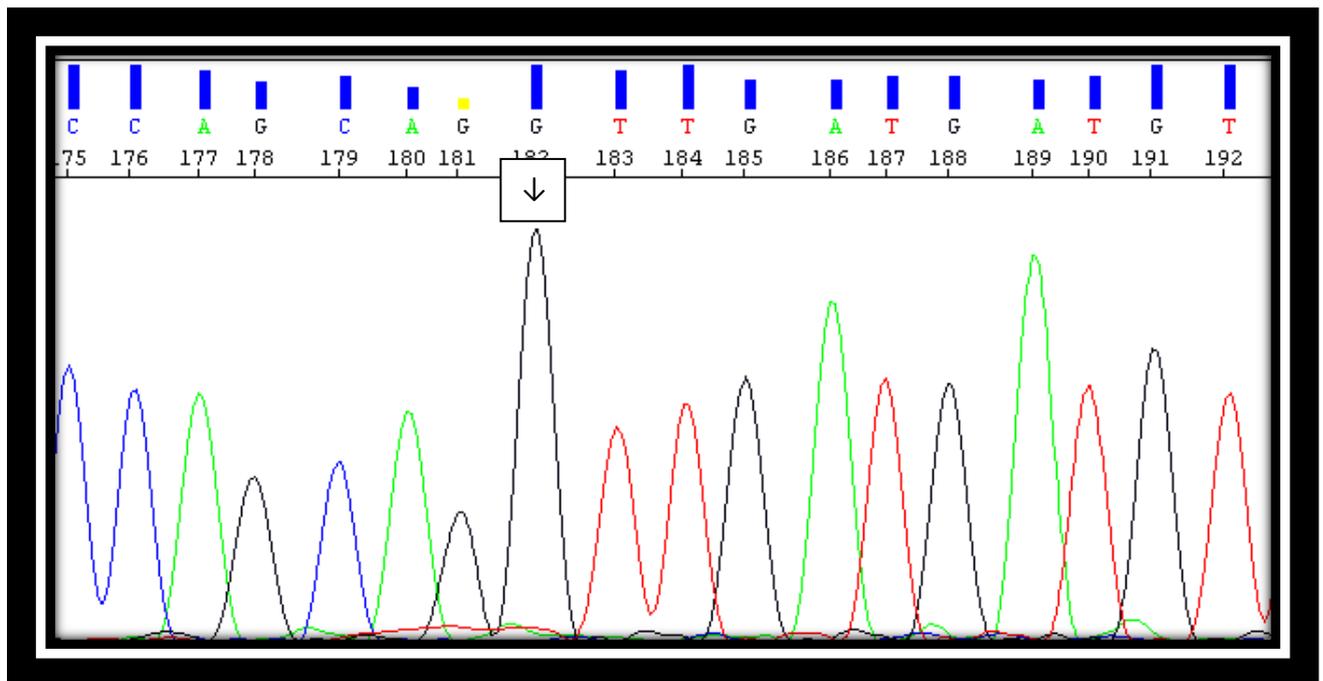


Figure 23 : Chromatogramme de la séquence R d'un patient normal d'hypochondroplasié .

Les chromatogrammes montrent la présence d'un profil normal .

➤ Mutation c.1620 C>A (N540K) HETEROZYGOTE

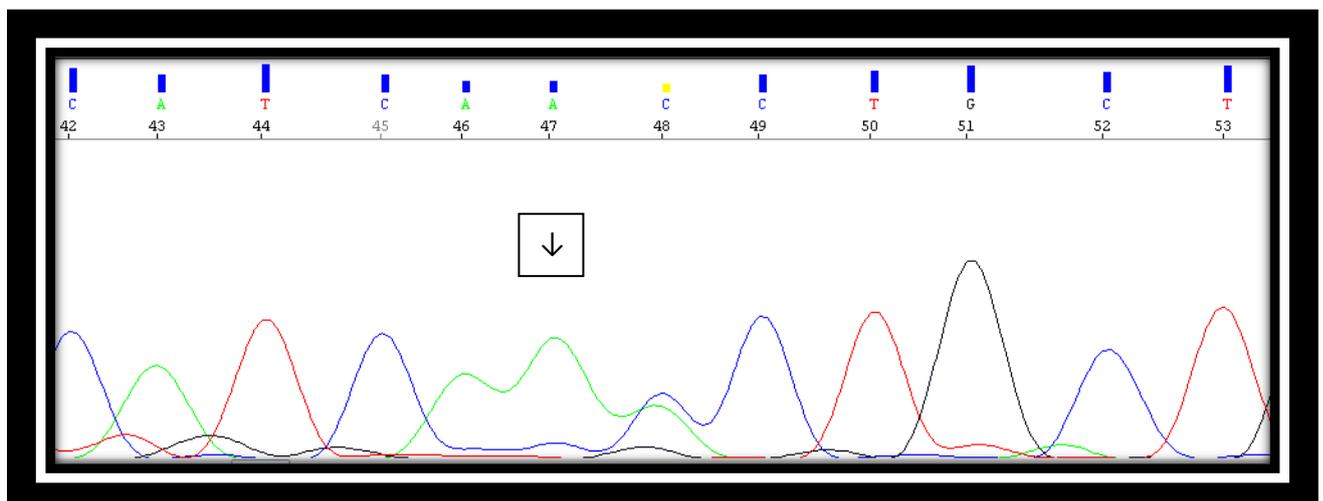


Figure 24 : Chromatogramme de la séquence F d'un patient d'hypochondroplasié montrant la mutation c.1620 C>A

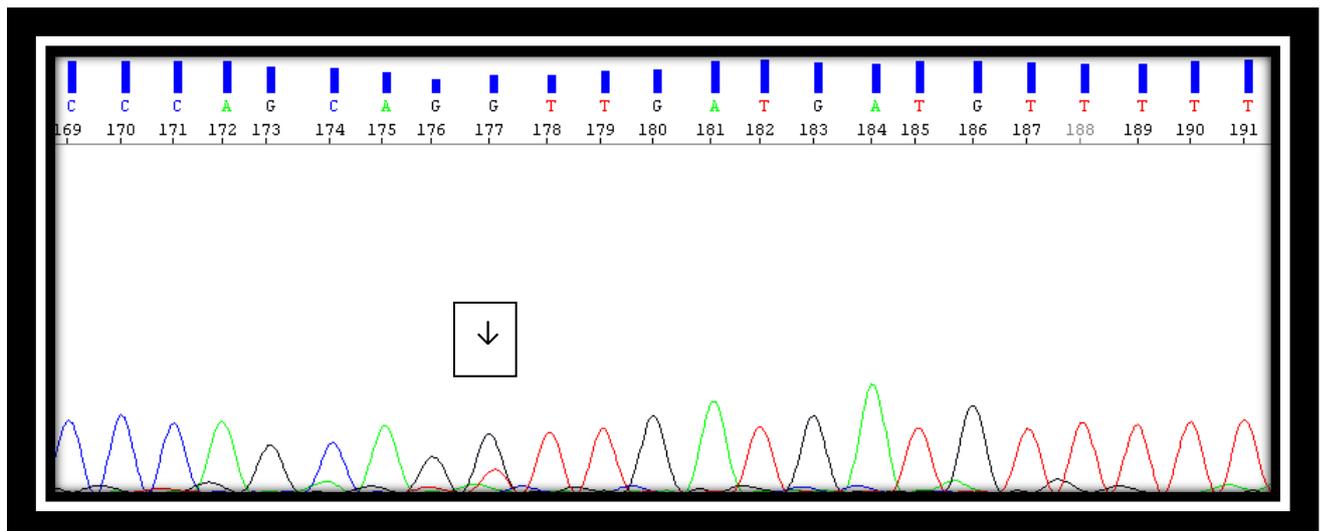


Figure 25 : Chrommatogramme de la séquence R d'un patient d'hypochondrplasia montrant la mutation c.1620 C>A

Les chromatogrammes montre la présence d'une mutation c.1620 C>A à la position 540.

Discussion :

Dans notre étude, le domaine transmembranaire du gène FGFR3 chez 43 patients marocains atteints d'achondroplasie et le premier domaine tyrosine kinase du même gène chez un patient atteint d'hypochondroplasie ont été étudiés. Parmi les 43 patients atteints d'achondroplasie analysés, 40 cas (93,3 %) présentaient une mutation hétérozygote au codon 380 qui est une transition G en A, alors que 3 patients /43 (6,7%) présentaient une transversion G en C. Les 53 patients d'hypochondroplasie analysés, présentaient une mutation hétérozygote de C en G au codon 540 .

Le résultat obtenu dans notre étude concorde avec celui de plusieurs publications qui ont rapporté des données similaires sur l'errance diagnostique des patients d'achondroplasie et d'hypochondroplasie, il s'agit d'une étude faite en Corée dans « Department Of Pediatric Orthopedic Surgery at Seoul National University Hospital »(27).

Shiang et al., [23] ont identifié une transition G vers A et une transversion G vers C au niveau du nt 1138 dans le gène FGFR3 chez les hétérozygotes et les homozygotes atteints d'achondroplasie. Rousseau et al.,[24] ont confirmé par la suite la présence de ces mutations. D'autres données provenant de plusieurs laboratoires [25], ont rapporté que 150 patients étaient hétérozygotes pour une transition G-vers-A au nt 1138 conduisant à la substitution G380R et trois étaient hétérozygotes pour la transversion G-vers-C au nt 1138, conduisant à la même substitution G380R. Rarement, des patients atteints d'achondroplasie ont été trouvés porteurs d'une transversion G en T conduisant à une substitution d'acide aminé G375C .

Contrairement à l'achondroplasie, les patients avec hypochondroplasie présentent généralement des symptômes variables et sont cliniquement difficiles à diagnostiquer, en particulier dans la petite enfance. L'essoufflement est habituellement reconnu après 2 ans et la macrocéphalie n'est présente que chez 57 % des patients. D'autres caractéristiques telles que des os tubulaires courts et des pédicules courts sont minimes. La mutation la plus courante dans l'hypochondroplasie est N540K (nt 1620 C>A ou C>G), qui est présente chez environ 23 % des patients [24,26]. Jusqu'à présent, les autres sites de mutations du gène FGFR susceptibles de provoquer une hypochondroplasie sont : N540T, N540S, I538V, K650N (1950G>T, G>C) et K650Q.

Les études épidémiologiques réalisées sur les 43 patients de l'achondroplasie de notre série montrent un sexe ratio H/F de 0,79 et un âge médian de 3 ans avec des extrêmes allant de 6 mois à 17 ans. Le pourcentage de consanguinité de 65.1% était lié à l'apparition d'un signe clinique majeur de retard staturo-pondérale (62.7%) accompagnée d'autres symptômes tels que la rhizolémie et la cyphose.

Concernant les études épidémiologiques réalisées sur les 53 patients d'hypochondroplasie, elles ont montré un sexe ratio H/F de 0,77 et un âge moyen de 3ans avec des extrêmes allant de 5 mois à 17 ans. Le pourcentage de consanguinité de 63.1% est accompagné d'un symptôme très fréquent de retard staturo-pondérale (64.1%) associé à des signes périphériques comme une brachydactylie.

Ces résultats obtenus n'ont pas pu être comparés à d'autres études, par manque de ressources scientifiques et de références bibliographiques abordant des études épidémiologiques de ces pathologies.

Conclusion :

L'achondroplasie (ACH) et l'hypochondroplasie (HCH) sont des maladies génétiques autosomiques dominantes, qui s'expriment par des accès brefs et récurrents d'anomalies, accompagnés de malformations au niveau des membres et d'articulations. Elles sont répandues dans toutes les populations à l'échelle mondiale, en particulier dans le MAGHREB.

Le gène responsable de la ACH et HCH, est localisé en 4p16.3, et code pour la protéine à activité tyrosine kinase, qui est impliquée de façon retronégative dans la croissance de cartilage des os. Le diagnostic de ces maladies repose sur un faisceau d'arguments cliniques et d'éléments anamnestiques, appuyés par l'étude moléculaire. Certaines mutations identifiées sont caractéristiques à des populations spécifiques.

Notre étude consiste en une investigation prospective des données épidémiologiques, cliniques et moléculaires de 96 patients adressés au laboratoire de génétique médicale du CHU HASSAN II de FES entre 2012 et 2022 pour une étude génétique après suspicion clinique de ACH et HCH.

L'étude par biologie moléculaire a révélé 1 mutation prédominante dans notre groupe d'achondroplasie qui est la G380R et pour le groupe d'hypochondroplasie, une mutation qui est N540K.

Ces mutations sont en faveur d'un pronostic sévère de ACH et HCH et sont associées à un risque accru de complications au niveau du comportement soit physique soit psychologique.

L'introduction d'une stratégie nationale de diagnostic clinique et moléculaire de ces pathologies permettra un diagnostic précoce de la maladie qui va permettre d'adapter le traitement et d'éviter les complications les plus redoutables de ces pathologies.

L'objectif de ce travail est la connaissance du profil clinique et moléculaire de la ACH et HCH pour l'établissement d'un conseil génétique adéquat aux apparentés à risque, chose qui garantira l'amélioration de la prise en charge et du pronostic des patients dans notre population.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- (1) Chitty LS, Griffin DR, Meaney C et al., Nouvelles aides pour le diagnostic prénatal non invasif de l'achondroplasia : caractéristiques dysmorphiques, diagrammes de taille fœtale et confirmation moléculaire utilisant l'ADN fœtal sans cellule dans le plasma maternel. *Obst et Gynecol.* (2011); 37 (03): 283-289
- (2) Baujat G, Legeai-Mallet L, Finidori G, Cormier-Daire V, & Le Merrer M. Achondroplasia. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology.* (2008); 22(1), 3–18.
- (3) Maroteaux P. Achondroplasia — A Clinician's Viewpoint. In: Nicoletti B., Kopits S.E., Ascani E., McKusick V.A., Dryburgh S.C. (eds) *Human Achondroplasia. Basic Life Sciences*, (1988); vol 48. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-8712-1_4
- (4) Dr Mickael BOBER, Angel DUKER, Achondroplasia. *Encyclopédie Orphanet pour professionnels*, (avril 2013).
- (5) Baujat, G., Legeai-Mallet, L., Finidori, G., Cormier-Daire, V., & Le Merrer, M. Achondroplasia. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, (2008) ; 22(1), 3–18. doi: 10.1016/j.berh.2007.12.008
- (6) Bellus GA, Hefferon TW, Ortiz de Luna RI, Hecht JT, Horton WA, Machado M, Kaitila I, McIntosh I, Francomano CA. Achondroplasia is defined by recurrent G380R mutations of FGFR3. *Am J Hum Genet* (1995); 56/2 :368-37
- (7) Mesoraca A, Pilu G, Perolo A et al ; Ultrasound and molecular midtrimester prenatal diagnosis of de novo achondroplasia. *Prenatal Diagnosis* (1996); 16:764–768
- (8) Baujat, G., Legeai-Mallet, L., Finidori, G., Cormier-Daire, V., & Le Merrer, M. Achondroplasia. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, (2008) ; 22(1), 3–18.
- (9) <https://www.dr-karazaitri-ma.net/genetique/maladies-genetiques/achondroplasia/>
- (10) Pauli RM. – Achondroplasia: a comprehensive clinical review. *Orphanet J Rare Dis.* (2019) 3; 14(1):1
- (11) Langer LO, Baumann PA, Gorlin RJ. Achondroplasia. *Am J Roentgenol.* (1967) 100:12–26
- (12) Hecht JT, Francomano CA, Horton WA, Annegers JF. Mortality in achondroplasia. *Am J Hum Genet.* (1987); 41:454–64

- (13) Wynn J, King TM, Gambello MJ, Waller DK, Hecht JT. Mortality in achondroplasia study: a 42-year follow-up. *Am J Med Genet A.* (2007); 143A:2502–11.
- (14) Pauli RM. – Achondroplasia: a comprehensive clinical review. *Orphanet J Rare Dis.* (2019) 3; 14(1):1
- (15) Richette P, Bardin T, Stheneur C, [Achondroplasia: from genotype to phenotype \[archive\]](#), *Joint Bone Spine,*(2008);75:125-130
- (16) Pauli RM. – Achondroplasia: a comprehensive clinical review. *Orphanet J Rare Dis.* (2019) 3;14(1):1
- (17) Heuertz S, Le Merrer M, Zabel B, Wright M, Legeai-Mallet L, Cormier-Daire V, Gibbs L, Bonaventure J. Novel FGFR3 mutations creating cysteine residues in the extracellular domain of the receptor cause achondroplasia or severe forms of hypochondroplasia. *Eur J Hum Genet* (2006) ; 14/12 : 1240-1247.
- (18) Maroteaux P, Falzon P. *Arch Fr Pediatr.* (1988) ;45 :105–9.
- (19) Hall BD, Spranger J. Hypochondroplasia : aspects cliniques et radiologiques dans 39 cas. *Radiologie.* (1979) ; 133 : 95–100.
- (20) Tanaka N, Katsumata N, Horikawa R, Tanaka T. La comparaison des effets du traitement à court terme par l'hormone de croissance chez les patients atteints d'achondroplasia et d'hypochondroplasia. *Endocr J.*(2003); 50 : 69–75.
- (21) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1477/>
- (22) Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 146000
- (23) Shiang R, Thompson L-M, Zhu Y-Z, Church D-M, Fielder TJ, Bocian M, et al. Mutations in the transmembrane domain of FGFR3 cause the most common genetic form of dwarfism, achondroplasia. *Cell* (1994) ; 78 : 335-42
- (24) Rousseau F, Bonaventure J, Legeai-Mallet M, Pelet A, Rozet J-M, Maroteaux P, et al. Mutations in the gene encoding fibroblast growth factor receptor-3 in achondroplasia. *Nature* (1994); 371; 252-4.
- (25) Bellus GA, McIntosh I, Smith EA, Aylsworth AS, Kaitila I, Horton WA, et al. A recurrent mutation in the tyrosine kinase domain of fibroblast growth factor receptor 3 causes hypochondroplasia. *Nat Genet* (1995); 10: 357-9
- (26) Thompson LM, Plummer S, Schalling M, Altherr MR, Gusella JF, Housman DE, et al. A gene encoding a fibroblast growth factor receptor isolated from the Huntington disease gene region of human chromosome 4. *Genomics* (1991); 11: 1133-42.

(27) Mutation analysis of Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3) Gene in Korean Patients with Achondroplasia and Hypochondroplasia Sue Shin, M.D., In Ho Choi, M.D., Tae Joon Cho, M.D., * Se Won Ryang, M.D., ** Keun-Young Yoon, M.S., Jiyeon Kim, M.D., and Sung Sup Park, M.D (2001); 21: 164-8

Webographie :

(28) Mr. Ayoub OUMA ; retard statural et anomalies du développement d'origine génétique : Achondroplasia et syndrome de Cornelia de Lange A propos de 06 cas. Thèse de doctorat Faculté de médecine de Rabat N : 221 Année (2021).

